

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER CERRAHİ PROGRAMI**



**DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNİN  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNDE  
BİYOAKTİF CAM İLE MİNERALİZE VE  
DEMİNERALİZE KEMİK MATRİKSİNİN  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**


**DİCLE FIRAT ÖZTOPALAN**

**2017**

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

  
Prof. Dr. İbrahim CANPOLAT  
Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

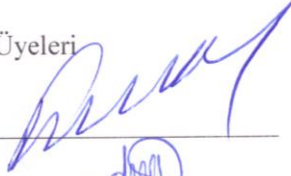
Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ



Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Fahrettin ALKAN



Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ



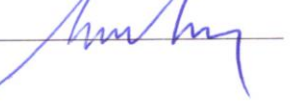
Prof. Dr. Ali HAYAT



Doç. Dr. Aydın SAĞLIYAN



Doç. Dr. Mustafa KÖM





## ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Dicle FIRAT ÖZTOPALAN  
24.05.2017

Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ  
Danışman  
Cerrahi Anabilim Dalı  
ELAZIĞ

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım ilk günden itibaren ve tezimin tüm aşamalarında, sabırla her konuda desteğini gördüğüm, çalışmalarımın engin mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, üzerimde çok büyük katkıları olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ'a sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince yardımlarını gördüğüm Cerrahi Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine, ayrıca Arş. Gör. Sema ÇAKIR'a ve Esra DUMAN, Havva Nur CAN'a çalışmamın patolojik değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ali Osman ÇERİBAŞI'na teşekkür ediyorum.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 114O711 numaralı Hızlı Destek Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir. Bu destekten dolayı TÜBİTAK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca yanımda olan babam Ali Haydar FIRAT'a, annem Hamiyet FIRAT'a ve doktora eğitimime başlamama vesile olan, ömür boyu desteğini hep yanımda hissettiğim, takdir ve teşvikleriyle her zaman en büyük destekçim canım ablam Berfin FIRAT'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez çalışmam boyunca da hiçbir emek ve fedakârlıktan kaçınmayan, teknik anlamda desteklerini benden esirgemeyen, daima sevgisini ve desteğini gördüğüm, sevgili eşim Emre ÖZTOPALAN'a sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatı anlamlı kılan oğlum Deniz'e teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
	<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
	<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>1.</b>	<b>ÖZET</b>	<b>xi</b>
<b>2.</b>	<b>ABSTRACT</b>	<b>xiii</b>
<b>3.</b>	<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>3.1</b>	<b>Kemik Doku</b>	<b>3</b>
<b>3.1.1</b>	<b>Kemik Dokunun Makroskobik Yapısı</b>	<b>3</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Kemik Dokunun Mikroskobik Yapısı</b>	<b>5</b>
<b>3.1.2.1</b>	<b>Kemik Matriksi</b>	<b>6</b>
<b>3.1.2.1.1</b>	<b>Organik Matriks</b>	<b>6</b>
<b>3.1.2.1.2</b>	<b>İnorganik Matriks</b>	<b>7</b>
<b>3.1.2.2</b>	<b>Kompakt Kemik</b>	<b>8</b>
<b>3.1.2.3</b>	<b>Kansellöz Kemik</b>	<b>9</b>
<b>3.1.2.4</b>	<b>Periost (Periosteum)</b>	<b>10</b>
<b>3.1.2.5</b>	<b>Endost (Endosteum)</b>	<b>11</b>
<b>3.1.2.6</b>	<b>Kemik Hücreleri</b>	<b>12</b>
<b>3.1.2.6.1</b>	<b>Osteoprogenitör Hücreler</b>	<b>13</b>
<b>3.1.2.6.2</b>	<b>Osteoblastlar</b>	<b>13</b>
<b>3.1.2.6.3</b>	<b>Osteositler</b>	<b>14</b>
<b>3.1.2.6.4</b>	<b>Osteoklastlar</b>	<b>15</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Kemik Oluşumu (Osteogenez)</b>	<b>16</b>
<b>3.1.3.1</b>	<b>İntramembranöz Ossifikasyon (Zarlararası Kemikleşme)</b>	<b>17</b>
<b>3.1.3.2</b>	<b>Endokondral Ossifikasyon (Kıkırdak Kemikleşme)</b>	<b>19</b>
<b>3.1.3.3</b>	<b>Kemik İyileşmesi</b>	<b>20</b>
<b>3.1.3.3.1</b>	<b>Enflamasyon Evresi</b>	<b>22</b>
<b>3.1.3.3.2</b>	<b>Onarım Evresi</b>	<b>23</b>
<b>3.1.3.3.3</b>	<b>Remodelling (Yeniden Şekillenme) Evresi</b>	<b>25</b>
<b>3.2</b>	<b>Transplantasyon</b>	<b>26</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Kemik Greftleri</b>	<b>27</b>
<b>3.2.1.2</b>	<b>Kemik Greftlerinin Fonksiyonları</b>	<b>29</b>
<b>3.2.1.2.1</b>	<b>Osteointegrasyon</b>	<b>29</b>
<b>3.2.1.2.2</b>	<b>Osteoindüksiyon</b>	<b>29</b>
<b>3.2.1.2.3</b>	<b>Osteokondüksiyon</b>	<b>29</b>
<b>3.2.1.2.4</b>	<b>Osteogenesis</b>	<b>30</b>
<b>3.2.1.3</b>	<b>Greft Tipleri</b>	<b>30</b>
<b>3.2.1.3.1</b>	<b>Otojen Greftler</b>	<b>32</b>
<b>3.2.1.3.2</b>	<b>Allojen Greftler</b>	<b>33</b>
<b>3.2.1.3.3</b>	<b>Ksenojen Greftler</b>	<b>34</b>
<b>3.2.1.3.4</b>	<b>Alloplastik Greftler (Biyomateryaller)</b>	<b>35</b>
<b>3.2.1.3.5</b>	<b>Biyoaktif Cam</b>	<b>36</b>
<b>3.2.1.3.6</b>	<b>Mineralize Kemik Grefti</b>	<b>38</b>
<b>3.2.1.3.7</b>	<b>Deminerale Kemik Grefti (DBM)</b>	<b>40</b>

<b>4.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>47</b>
4.1	Deney Hayvanları ve Protokol Dizaynı	47
4.2	Greft Materyalleri	48
4.3	Anestezi	49
4.4	Operatif Prosedür	49
4.5	Klinik Muayeneler	51
4.6	Radyolojik Muayeneler	51
4.7	Histolojik Muayeneler	52
4.8	İstatistiksel Değerlendirme	53
<b>5.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>54</b>
5.1	Greft Materyallerine Ait Bulgular	54
5.2	Klinik Bulgular	54
5.3	Radyolojik Bulgular	54
5.3.1	Postoperatif Radyolojik Bulgular	55
5.3.2	Postoperatif Onbeşinci Gündeki Radyolojik Bulgular	55
5.3.3	Postoperatif Otuzuncu Gündeki Radyolojik Bulgular	56
5.3.4	Postoperatif Kırkbeşinci Gündeki Radyolojik Bulgular	57
5.3.5	Postoperatif Altmışıncı Gündeki Radyolojik Bulgular	57
5.4	Makroskobik Bulgular	58
5.5	Histolojik Bulgular	59
5.5.1	Otuz Günlük Gruplardaki Histolojik Bulgular	59
5.5.2	Altmış Günlük Gruplardaki Histolojik Bulgular	67
<b>6.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>75</b>
<b>7.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>88</b>
<b>8.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>99</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Bazı greft materyallerinin osteogenetik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri ile avantaj ve dezavantajları	31
<b>Tablo 2.</b>	Kemik esaslı olan ve olmayan greft materyalleri	32
<b>Tablo 3.</b>	Otogreft ve allogreftlerin karşılaştırılması	34
<b>Tablo 4.</b>	İzleme süreleri ve uygulandıkları gruplara göre defekt sayıları	51
<b>Tablo 5.</b>	Modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skorlama kriterleri	52
<b>Tablo 6.</b>	Defektlerdeki kemik iyileşmesinin histolojik skorlama parametreleri	53
<b>Tablo 7.</b>	Modifiye Lane ve Sandhu skorlama kriterlerine göre defektlerin 30. ve 60. günlerdeki radyolojik değerlendirmeleri	58
<b>Tablo 8.</b>	Modifiye histolojik skorlama kriterlerine göre defektlerin 30. ve 60. günlerdeki değerlendirmeleri	74

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Kemik dokunun bileşenleri	6
Şekil 2.	Kortikal kemiğin morfolojik yapısı	9
Şekil 3.	Yassı kemikte iç ve dış yüzeylerdeki kompakt kemik ve arasındaki süngerimsi kemiğin şematik görünümü	10
Şekil 4.	Periosteum ve endosteumun mikroskopik görünümü	12
Şekil 5.	Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi	13
Şekil 6.	Sitoplazmik uzantıları matriks tarafından sarılmış bir osteosit	15
Şekil 7.	İntramembranöz kemikleşme	18
Şekil 8.	Endokondral kemikleşme	20
Şekil 9.	Kırık iyileşmesinin evreleri	22
Şekil 10.	Kırık iyileşmesinin aşamaları	22
Şekil 11.	Kırık iyileşmesinin evreleri. A) Enflamasyon Evresi. B) Onarım Evresi. C) Remodelling Evresi	26
Şekil 12.	Çalışmada kullanılan greft materyalleri	48
Şekil 13.	Çalışmada kullanılan greft materyalleri	49
Şekil 14.	Operasyon sonrası kemik defektlerinin görünümü	50
Şekil 15.	Postoperatif radyografik görünüm	55
Şekil 16.	Postoperatif 15. gündeki radyografik görünüm	56
Şekil 17.	Postoperatif 30. gündeki radyografik görünüm	56
Şekil 18.	Postoperatif 45. gündeki radyografik görünüm	57
Şekil 19.	Postoperatif 60. gündeki radyografik görünüm	58
Şekil 20.	Defektlerin postoperatif 30. ve 60. günlerdeki makroskopik görüntüleri	59
Şekil 21.	Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	60
Şekil 22.	Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	60
Şekil 23.	Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	61
Şekil 24.	Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	62
Şekil 25.	Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	62
Şekil 26.	MBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	63
Şekil 27.	MBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	64
Şekil 28.	MBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	64
Şekil 29.	DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	65
Şekil 30.	DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin	

	histolojik görünümü	66
<b>Şekil 31.</b>	DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	66
<b>Şekil 32.</b>	Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	67
<b>Şekil 33.</b>	Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	67
<b>Şekil 34.</b>	Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	68
<b>Şekil 35.</b>	Biyoaktif cam grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	69
<b>Şekil 36.</b>	Biyoaktif cam grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	69
<b>Şekil 37.</b>	Biyoaktif cam grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	70
<b>Şekil 38.</b>	MBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	71
<b>Şekil 39.</b>	MBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	71
<b>Şekil 40.</b>	MBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	72
<b>Şekil 41.</b>	DBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	73
<b>Şekil 42.</b>	DBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	73
<b>Şekil 43.</b>	DBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü	74

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>BMP</b>	Kemik Morfogenetik Protein
<b>DBM</b>	Demineralize Kemik Matriksi
<b>EDTA</b>	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
<b>GMM</b>	General Medikal Marete
<b>HCA</b>	Hidroksikarbonate apatit
<b>HCL</b>	Hidroklorik asit
<b>HE</b>	Hematoxylin-Eosin
<b>IU</b>	İnternasyonal Ünite
<b>KBD</b>	Kritik Büyüklükteki Kemik Defekti
<b>MBM</b>	Mineralize Kemik Matriksi
<b>MTC</b>	Masson's Trichrome
<b>PRF</b>	Trombositten Zengin Fibrin
<b>PRP</b>	Trombositten Zengin Plazma
<b>PTH</b>	Paratiroid hormon
<b>rad</b>	Bir dokuya 100 Erg' lik enerji veren radyasyon birimi
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforme Edici Büyüme Faktör Beta
<b>XRD</b>	X-Işımı difraksiyonu

## 1. ÖZET

### **Deneysel kemik defektlerinin iyileşmesi üzerinde biyoaktif cam ile mineralize ve demineralize kemik matriksinin etkilerinin incelenmesi**

Kemik defektlerinin onarımında otojen, allojen kemik greft materyalleri ve alloplastik materyaller geçmişten günümüze kullanılmıştır. Kemik defektlerinin onarımı üzerine araştırmalar günümüzde halen devam etmektedir.

Bu çalışmada tavşanlarda deneysel kemik defektlerinin iyileşmesi üzerinde biyoaktif cam, mineralize kemik matriksi (MBM) ve demineralize kemik matriksi (DBM)'nin etkilerinin incelenmesi ve klinik, radyolojik ve histolojik bulguların karşılaştırılması sonucunda en iyi greft materyalinin hangisi olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 14 adet 4-5 aylık erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar rastgele, 30 ve 60 günlük postoperatif takipleri yapılmak üzere 7'şer adetlik 2 gruba ayrıldı. Genel anestezi altında, tavşanların her iki tibiasının proksimal metafizine yakın mesafede ikişer adet olmak üzere her tavşanda dört adet tibial defekt oluşturuldu. Oluşturulan 56 adet defektten 14 adedi boş bırakılarak kontrol grubu olarak değerlendirildi. Geriye kalan defektler her bir grupta 14 adet olmak üzere sırasıyla biyoaktif cam, MBM ve DBM ile dolduruldu. Böylece, her tavşanda tüm greft grupları oluşturuldu.

Klinik ve radyolojik muayeneler operasyondan hemen sonra, 15, 30, 45 ve 60. günlerde gerçekleştirildi. Postoperatif 30. ve 60. günlerde tavşanlar sakrifiye

edildikten sonra greft uygulanan bölgeleri içeren kemik bölümü alınarak histolojik kontrolleri gerçekleştirildi.

Radyolojik ve histolojik muayeneler sonucunda biyoaktif cam grubundaki kemik iyileşmesinin diğer gruplara göre daha iyi olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, biyoaktif camın erken dönem kemik iyileşmesini önemli miktarda artırdığı ve iyi bir kemik greft materyali olarak rahatlıkla kullanılabilceği kanısına varılmıştır. Çalışma sonuçlarının kemik grefti kullanımının zorunlu olduğu klinik olgularda greft materyali seçiminde kolaylık sağlayacağı, kısa sürede daha iyi iyileşmenin elde edilmesi ile hasta refahına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kemik iyileşmesi, greft, biyoaktif cam, mineralize kemik matriksi, demineralize kemik matriksi.

## 2. ABSTRACT

### **Investigation of effects of bioactive glass, mineralized and demineralized bone matrix on healing of experimentally constituted bone defects**

Autogenous, allogeneous bone graft materials have been used from past to present in the repair of bone defects. Investigations on the repair of bone defects still continue today.

This study was performed to evaluate the effects of bioactive glass, mineralized bone matrix (MBM) and demineralized bone matrix (DBM) on the healing of experimental bone defects in rabbits and to determine the best graft material as a result of comparison radiological and histopathological findings.

Fourteen, 4-5-month old, male New Zealand rabbits were used in the study. The rabbits were randomly divided into 2 main groups for 30 and 60 day postoperative follow-ups and each group contained 7 randomly selected rabbits. Under general anesthesia, a total of four defects, two on the proximal metaphysis of both tibia of each rabbits were created. Fourteen of 56 bone defects created were left empty to serve as the control group. The remaining defects were filled with bioactive glass, MBM and DBM, respectively (n=14 in each group). Thus, all graft groups were formed in each rabbit.

Clinical and radiological examinations were performed on the immediately after the operation, 15th, 30th, 45th and 60th days. On the postoperative 30th and 60th days, the rabbits were sacrificed. The bone sections containing the grafted regions were taken and histological examinations were performed.

As a result of radiological and histological examinations, bone healing in the bioactive glass group was determined to be better than the other groups.

As a result, bioactive glass was observed to considerably increase early term bone healing, which suggested that it can readily be used as a good graft material. It is considered that the results of the study will contribute to patient welfare by providing better healing in a short time and facilitating the selection of the graft material in clinical cases where the use of bone graft is necessary.

**Key Words:** Bone healing, graft, bioactive glass, mineralized bone matrix, demineralized bone matrix.

### 3. GİRİŞ

İskeletin en önemli yapısını oluşturan kemikler, organizmaya biçim kazandırma ve organizmanın yükünü taşımanın yanında, merkezi sinir sistemi, akciğerler, kalp, beyin, kemik iliği gibi hayati önem taşıyan yumuşak doku ve organları da destekler ve korurlar. Kemik dokusu mekanik özelliklerinin yanı sıra içerdiği kemik iliği ile kan hücrelerinin üretiminde ve kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların deposu olarak metabolizmada önemli rol oynar (1-3).

Kemik doku mina ve dentin katmanlarından sonraki en sert yapı olmasına rağmen, travma sonucu kolaylıkla kırılabilir. Kemik rejenerasyon kapasitesine sahip bir doku olup, orijinal şeklini ve fonksiyonunu eski haline getirebilmektedir. Kemik defektleri küçük olduğunda, kemik dokunun rejenerasyon özelliği sayesinde iyileşebileceğinden greft uygulamasına gerek bulunmayabilir (2). Ancak belirli büyüklüğün üzerindeki defektler kendiliğinden kapanamazlar (4). Kritik büyüklükteki kemik defekti (KBD), organizmanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki kemik defekti olarak tanımlanmıştır (3, 5, 6). Kemik greftleri maddi kayıplı kırıkların onarımında, travma, kemik enfeksiyonları, çok parçalı kırıklarda, psödoartrozda, geç kaynamada kemik kaynamasını aktive etmek için, kemik tümörlerinin, kemik kistlerinin tedavisi amacıyla, hasarlı eklem artrodezlerinde, korrektif osteotomilerde, spinal cerrahi ve revizyon artroplastisinde gerçekleştirilen rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik defektlerinin onarımının hızlandırılması amacıyla artan sıklıkla kullanılmaktadır (7-10).

İlk kemik greft uygulamasının Milattan Önce 3000 yıllarında kafatası defektinin kapatılması amacıyla yapıldığı bildirilmiştir (3, 11, 12). Jobi Meekren 1682 yılında bir askerin kafatasındaki defekti köpekten aldığı kafatası kemiği ile onarmıştır. 1674'te Hollandalı araştırmacı Antoni van Leeuwenhoek kemiğin yapısını tanımlamıştır. Hollandalı Antonius de Heyde kallusun, kırılmış kemik uçlarının etrafındaki kan pıhtısının kalsifikasyondan oluştuğu sonucuna varmıştır. Frenchman Ollier köpek yavruları ve tavşanlar üzerine yaptığı deneysel çalışmalarından çıkan sonuçlara göre; otogreftlerin kendi kendine yaşayabileceğini ve periostu olmayan canlı kemik fragmentlerinin uygun ortamda yaşayıp büyüebileceğini göstermiştir. 19. yüzyılın sonlarına doğru bazı cerrahlar kemik esaslı materyallerin üzerinde dururken diğerleri de sentetik ajanlar üzerinde çeşitli deneyler gerçekleştirmiştir. Demineralize kemik kullanımına ilişkin ilk bildiri 1889 senesinde Senn tarafından köpek kafatasındaki defektlerin onarımında ksenojen dekalsifiye kemik kullanımına dayanmaktadır. 1892 yılında yapılan bir çalışmada içerisine sentetik materyal implante edilen dokuz kemik defektinin altı tanesinde iyileşme elde edildiği bildirilmiştir. 1915 yılında Kappis ve 1917 yılında Brown tarafından kostaların kemik grefti olarak kullanıldığı ve ikinci dünya savaşı sırasında yaralı askerlere sık olarak otogreft, allogreft ve ksenogreft uygulandığı bildirilmiştir (13, 14).

Kemik defektlerinin onarımı amacıyla kullanılan greftler, otojen, allojen, ksenojen greftler ve alloplastlardır. Otojen greftlerin ikinci şırurjikal uygulamaya yol açması, allogreftler ve heterogreftlerin ise hastalık transferi ve doku reddine neden olmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle alloplastik greft

materyalleri kullanımı gibi alternatif yöntemler üzerindeki araştırmalar artarak devam etmektedir (3, 15).

### **3.1 Kemik Doku**

Kemikler mineral ve kollajen içeren yapısıyla koruma, desteklik etme, hareket; içerdđi kemik iliği ile kan hücresi yapımı, metabolizmaya yardımcı olma gibi işlevleri olan ve zengin ara maddeden oluşan özel bir bağ dokusudur. Vücutta kalsiyum ve fosfor bileşenlerini depolar, vücut sıvılarındaki önemli iyonların yoğunluğunu ayarlar (1, 13, 16). Bu özellikler kemik dokusunun yüklere karşı direnç göstermesini ve hayati öneme sahip organ ve yapıların dışarıdan gelen kuvvetlere karşı korunmasını sağlar. Ayrıca kemik dokusu kalsiyum, fosfat ve diğer minerallerin vücuttaki konsantrasyonlarını düzenleyerek, hemostazın devamlılığını sağlamaktadır (17).

Kemik dokusu vücut ağırlılığının %18-20'sini oluşturur (18). Kendini yapısal olarak yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dıştan gelen mekanik uyarılar doğrultusunda yönlendirebilen ve yaşam süresince istemli fiziksel aktivitelere direnç ve destek sağlayan bir yapıya sahiptir (19, 20). Kemik dokusu kendini sürekli yenileyebilmekte ve diğer dokulardan farklı olarak iyileşmesini nedbe dokusu oluşturmadan tamamlayabilmektedir (17, 21, 22).

#### **3.1.1 Kemik Dokunun Makroskopik Yapısı**

Kemikler şekillerine göre kısa kemikler (karpal, tarsal kemikler, omurlar vs.), uzun kemikler (femur, humerus, tibia vs.) ve yassı kemikler (skapula, kafatası, pelvis kemikleri vs.) olmak üzere üçe ayrılırlar (17).

Makroskopik olarak ise kompakt (kortikal, sert, lamellar) kemik ve kansellöz (spongiyöz, süngerimsi, trabeküler) kemik olmak üzere ikiye ayrılırlar (1, 13).

Kompakt kemik, erişkinlerde iskeletin yaklaşık %80'ini oluşturan, makroskopik düzeyde bakıldığında homojen görünümlü, kemiklerin dış yüzeyini örterek destek ve koruma görevi gören sert ve yoğun bir kitledir. Kompakt kemik "lamel" adı verilen ince katmanlardan oluşur. Bu lameller özellikle uzun kemiklerin diyafiz kısımlarında bulunur. Uzun kemiklerin uçlarındaki epifiz kansellöz kemikten oluşurken çevresinde ince bir tabaka kompakt kemik bulunur. Gelişmekte olan bireylerde epifiz diyafizden epifizyel plaka ile ayrılır. Metafiz olarak adlandırılan, gittikçe incelen geçiş bölgesi epifiz ve diyafizi birbirine bağlar. Epifizyel plaka ve yanındaki kansellöz kemik birlikte büyüme alanını oluştururlar. Bu bölge uzun kemiğin uzunlaşmasına büyümesinden sorumludur. Uzun kemiklerin uçlarındaki eklem yüzeyleri hyalin kıkırdak ile kaplıdır. Tendon ve ligamentlerin girdiği yerler ile eklem yüzeyleri dışında kemiklerin çoğu periost tabakası ile örtülüdür (17, 23, 24).

Kansellöz kemik, kompakt dokunun içerisinde bulunan ve kemik trabeküllerinin birbirleriyle birleşmesi ile oluşan dokudur (25). Uzun kemiklerin metafiz ve epifiz bölgelerinde, kısa ve yassı kemiklerin merkezinde kompakt kemik ile çevrelenmiş şekilde bulunmaktadır (3). Kansellöz kemik, kompakt kemiği kabuk şeklinde sararak tüm kemiklerin iç yüzeylerinde bulunmuş olur (17).

Kortikal ve kansellöz kemik, matriks yapısı ve içeriği bakımından aynı olmasına rağmen kortikal kemikte birim hacme düşen kemik matriks miktarı daha

fazladır. Fakat kortikal kemik kütleli olarak aynı hacimli kansellöz kemiğin dört katı ağırlığındadır (26). Bu sebeple kortikal kemik daha az poroziteye sahip ve daha yoğundur. Elastikiyet modülü ve basınca karşı dayanıklılık bakımından kortikal kemik kansellöz kemiğe göre oldukça üstündür (17). Kansellöz kemiğin metabolik aktivitesi, mekanik yüklere karşı adaptasyon hızı ve remodelasyon (yeniden şekillenme) yeteneği kortikal kemiğe göre daha üstündür. Ayrıca daha fazla kanlanabilmesi, kemik döngüsüne daha hızlı sahip olmasını sağlar ve bunlarla ilişkili olarak daha fazla yeniden şekillenme yeteneğine sahip olur (27).

### **3.1.2 Kemik Dokunun Mikroskobik Yapısı**

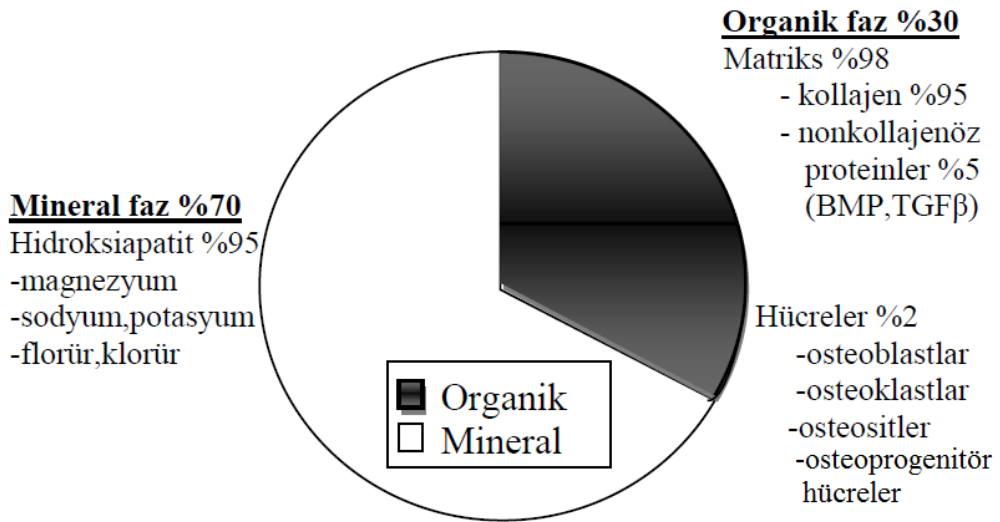
Kemikler mikroskobik yapılarına göre immatür (woven) ve matür (lamellar) kemik olmak üzere iki tipe ayrılırlar.

İmmatür kemik, embriyolojik dönemde yani yaşamın ilk yıllarında gözlenmektedir. Ayrıca immatür kemik dokusu; büyüme plaklarında, tendon ve ligamentlerin yapışma yerlerinde, kırık iyileşmesi sırasında oluşan kallus yapısında, kemik onarımını uyaran medikal tedavilerde ve bazı metabolik hastalıklarda da (Paget Hastalığı, hiperparatiroidizm, osteogenesis imperfekta, osteosarkom vs.) bulunur. Kırık iyileşmesi sırasında çok çabuk oluşur, hücrece zengin, lamellar yapıdan çok, kollajen lifler içerir. İmmatür kemik matür kemiğe oranla daha esnek, daha güçsüz ve daha kolay deforme olabilen yapıdadır (16, 17, 28, 29).

Matür kemik doğumdan sonra görülmeye başlar ve gelişimle beraber immatür kemiğin yerini alır. Matür kemikte paralel dizilimli yoğun kollajen fibrilleri sıkı bağlantı sağlar ve kemiğin dayanıklılığını artırır (16, 17).

### 3.1.2.1 Kemik Matriksi

Kemik dokusunda hücreler arası madde kalsifiye olmuştur ve bu ara maddeye kemik matriksi adı verilir (1). Kemik matriksi 3-7 mikron kalınlığında kemik lameli denen tabakalar halindedir. Her lamelde tek sıra şeklinde dizili küçük boşluklar (lakuna) bulunur. Lakunalar birleşerek matriks içinde ağısı yapıda bir boşluk sistemi oluştururlar. Bu kanaliküler sistem kemik beslenmesinde rol oynar (30, 31). Matriksin %30'u organik matriks, %70'i kalsiyum ve fosfor gibi inorganik matriksten meydana gelmektedir (Şekil 1) (3, 14).



Şekil 1. Kemik dokunun bileşenleri (14).

Kemik matriksi, organik ve inorganik matriks olmak üzere iki bölümde incelenir.

#### 3.1.2.1.1 Organik Matriks

Kemiğin organik matriksine osteoid madde denir. Osteoid ya da matriks, inorganik tuzların şekillenmesini sağlar ve kemiğin formunu verir. Organik

matriksin %90'ı, bağ dokunun esas bileşeni olan ve bütün vücut proteinlerinin üçte birini oluşturan kollajendir. Kemikteki kollajen diğer dokularda görülen kollajenden, mineralize olması ve birbirlerine paralel olarak seyreden lamellar adı verilen bantlarla döşenmesi yönünden farklılık gösterir ve osteokollajen adını alır (31-33). Kollajen, dokuların şeklini korumasını sağlayan fibröz bir proteindir ve kemiğin lifli yapısını meydana getirir (34). Kollajen içeriğinin %95'ini Tip 1 kollajen oluşturur. Primer kemik iyileşmesinde çok az kallus olduğundan Tip 1 kollajen görülür. Tip 1 kollajenin yapısında bozulma veya miktarında azalma olması kemik kırılmasını artırır. Organik matriksin kalan %10'luk kısmı ise kollajen dışı proteinlerden meydana gelmektedir. Bunlar; proteoglikanlar, gamakarboksiglutamik asit içeren proteinler, glikoproteinler, plazma proteinleri, özellikle kemik morfojenik proteinleri (BMP) gibi büyüme faktörleridir. Kollajen dışı proteinlerin büyüme faktörlerinin salınımında, organik matriksin kalsifikasyonunda, hücrelerin inorganik matrikse tutunmalarında etkili oldukları ileri sürülmüştür (16, 17, 32, 33).

#### **3.1.2.1.2 İnorganik Matriks**

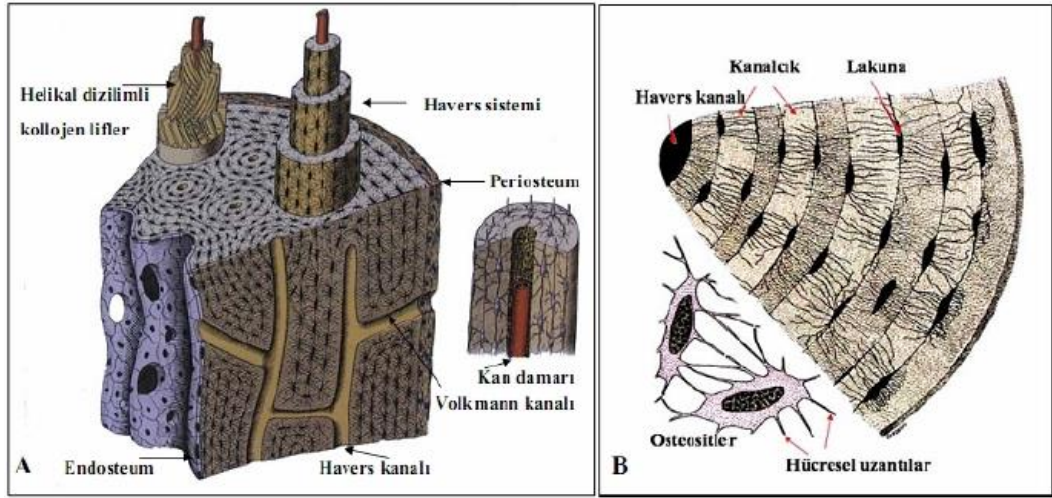
Kemiğin mineralize kısmıdır. Kemik ağırlığının %70'ini oluşturmakla beraber, iyon kaynağı olarak görev görür ve kemik dokusunun direnci ile sertliğinde önemli bir rol oynar. İçeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat oranı yüksektir. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulunur. Kemiğin mineralize kısmı büyük çoğunlukla kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşmuş kristal yapıdaki hidroksiapatitten meydana gelmiştir. X-Işını difraksiyon (XRD) yöntemi ile yapılan çalışmalarda,

hidroksiapatit kristallerinin kalsiyum ve fosfordan meydana geldiği kaydedilmiştir (13, 17, 32, 35).

İnorganik matriksin, organik matrikse oranı kemiğin cinsine, yaşına ve raşitizm, osteomalasi gibi patolojik nedenlere bağlı olarak değişir. Yaşlanmaya bağlı olarak mineral matriksin bileşimi değişir; kalsiyum ve karbonat oranı artar, magnezyum, fosfat ve su oranı azalır (34).

### **3.1.2.2 Kompakt Kemik**

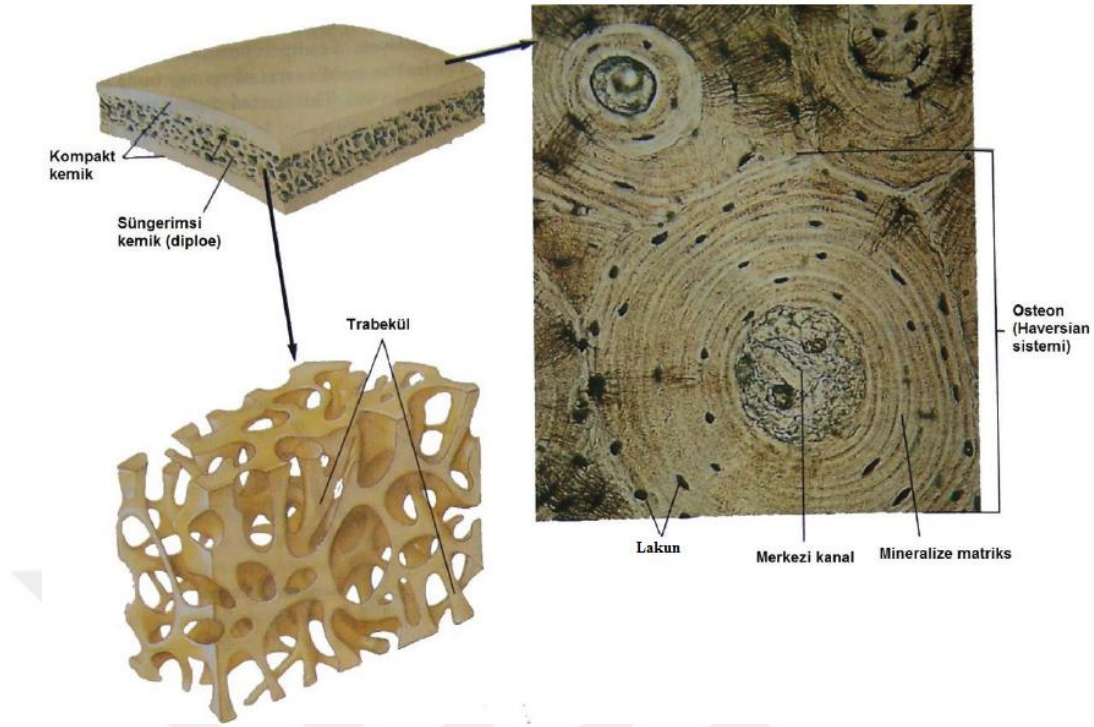
Kompakt kemik, mikroskopik olarak enine ve boyuna kanal biçiminde kesitler içeren kemik dokusudur (17). Kompakt kemik kendi içerisinde dış sirküferensiyel lameller, iç sirküferensiyel lameller, Haversian kanal sistemi (osteon) ve intersitisyel lamellere ayrılır (24). Kemiğin uzun eksenine boyunca Havers kanalları ve onu çevreleyen lamellerden oluşan sistem olan Haversian kanal sistemi içerisinde endost ile örtülü her kanalda gevşek bağ dokusu, kan damarları ve sinirler bulunur (29, 34, 36). Her osteon kalsifiye kollajen yapıdan oluşan bir yapı ile sarıdır. Havers kanallarının duvarı osteoprogenitör hücre ve osteoblastlarla çevrilidir. Havers kanallarını birbirine bağlayan Volkmann kanalları, Havers kanallarına oblik veya dik yerleşimlidirler. Kemiğin beslenmesi Havers kanalları aracılığıyla sağlanmaktadır. Havers kanalları, çok sayıda kemiğin enine doğru uzanan kanallar yardımıyla kemiğin dış yüzeyine ve periosteuma kadar uzanmaktadır ve periosteumu kemiğe bağlayan Sharpey liflerini içermektedir (24, 37-39). Kortikal kemiğin morfolojik görünümü Şekil 2’de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Kortikal kemiğin morfolojik yapısı. **A)** Havers ve Volkmann kanallarının kemik yapı içerisindeki yerleşimleri. Sağda içerisinden kapiller arter geçen bir Havers sistemi ve etrafındaki lamellar yapı görülmektedir. **B)** Birden fazla paralel ve farklı yönlerde dizilimli kollajen liflerinden oluşmuş lamellar yapılar. Havers kanalları arasındaki bağlantı lakunadan uzanan birden fazla sayıdaki kanalikül yapılarla sağlanmaktadır (39).

### 3.1.2.3 Kansellöz Kemik

Trabekül adı verilen iğnemi plak ve gözeneklerden oluşan kansellöz kemikte osteon bulunmaz. Trabeküllerin arası kan ve kemik iliğiyle doludur. Süngerimsi kemikte besin maddeleri kemiğin hücre dışı sıvısından trabeküllere sızması ile sağlanır. Trabeküller kemik üzerine gelen basınçlara karşı kemiğin dayanıklılığını sağlar. Kemiğe binen yüklere göre trabeküllerin sayısı ve dizilimi değişir. Böylece kemiği zorlayan etkenlere bağlı olarak, kemikte yeniden biçimlenme oluşur. Trabeküller arasında bulunan küçük boşluklarda ise kemik iliği bulunur (25, 35, 38, 40, 41). Kompakt ve süngerimsi kemiğin görünümü Şekil 3'te gösterilmiştir.



**Şekil 3.** Yassı kemikte iç ve dış yüzlerdeki kompakt kemik ve arasındaki süngerimsi kemiğin şematik görünümü (41).

Kansellöz kemik temelde kompakt kemik ile aynı kemik matriksine sahiptir fakat kütleli olarak aynı hacimli kompakt kemiğin dörtte biri ağırlığındadır (26).

### 3.1.2.4 Periost (Periosteum)

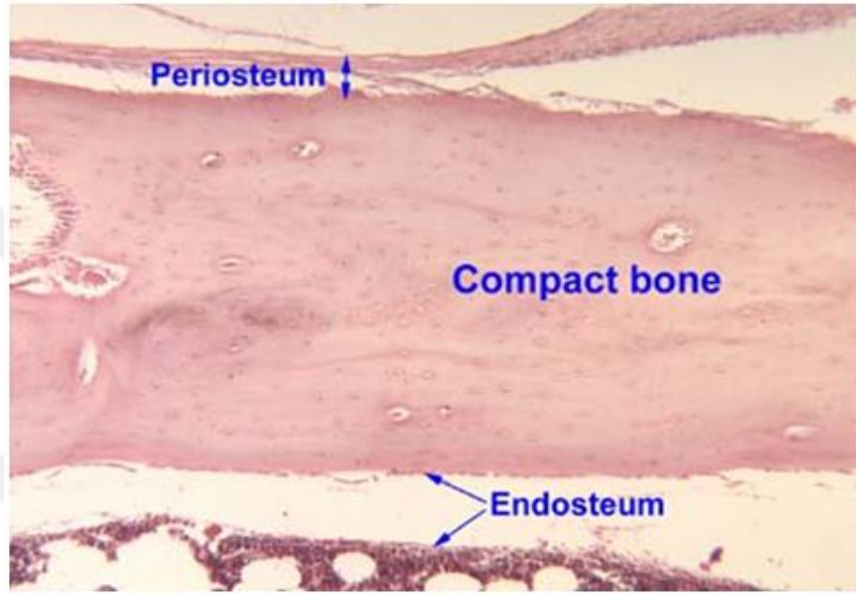
Periost, eklem yüzeyleri dışında kemiğin dış yüzeyini örten, mekanik ve biyolojik öneme sahip bağ dokusu tabakasıdır (28, 42, 43). Aralarında keskin bir sınır olmayan, iç tabaka (stratum kambiolum) ve dış tabaka (stratum fibrosum) olmak üzere iki tabakadan meydana gelir (3, 6, 13). Dış tabaka kollajenden ve fibroblastlardan zengin, hücreden fakir, yoğun fibröz bir tabakadır. Kan damarları ve lenfotiklere destek sağlar. Demetler kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. İç tabaka ise damarlıdır, hücreli

bakımdan zengin ve gevşek bir yapıya sahiptir. İç tabaka, osteoblasta dönüşebilme yeteneği olan hücreler içerdiğinden, iç tabakaya osteojenik veya kambiyum tabaka da denir. Kambiyum tabakası vasküler ve osteojenik özellikleri ile kortikal kemik üretiminde rol alır. Periosteal hücreler sistemik ya da lokal uyarılar sonucu kemik onarımı, yıkımı ve metabolizmasında da rol oynar. Gelişim sırasında organik matriks üretimi esnasında kemiğin çapının genişlemesinde, kırık iyileşmesinde ise hyalin kırıkta yapıyı sağlayarak ekstraosseöz kallus oluşumunda rol oynarlar. Periostun yapısı yaşla değişir. Çocukluk döneminde kalın, hücre ve damarsal içeriği fazla olan ve yeni kemik oluşturan periost, artan yaşla birlikte inceler, damarlanması ve yeni kemik oluşturma yeteneği azalır. Kambiyum tabakasındaki hücreler yassılaştır ve inaktif hale gelir. Fakat yaralanmaya yanıt olarak kırıkta ve kemik oluşturma potansiyellerini korumaya devam ederler (17, 21, 35, 39, 42).

#### **3.1.2.5 Endost (Endosteum)**

Endosteum, kan damarlarından zengin, kemik dokusunun iç tabakasıdır. Endosteum, Volkman kanallarına girer ve Sharpey lifleri yardımıyla kemiğe tutunurlar. Havers kanallarıyla birlikte kemiğin bütün boşluklarına uzanan ve kemik iliğini barındıran süngerimsi duvarları örten endosteum, tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşmaktadır. Bu yüzden endosteum, periosteumdan oldukça incedir (35, 40, 43). Kemik iliği dokusunun devamı olan retiküler bağ dokusundan oluşmuştur ve hem osteojenik hem hemopoietik özellik göstermektedir. Gelişim sona erdikten sonra da osteojenik etkinliğini sürdürmektedir (34, 37).

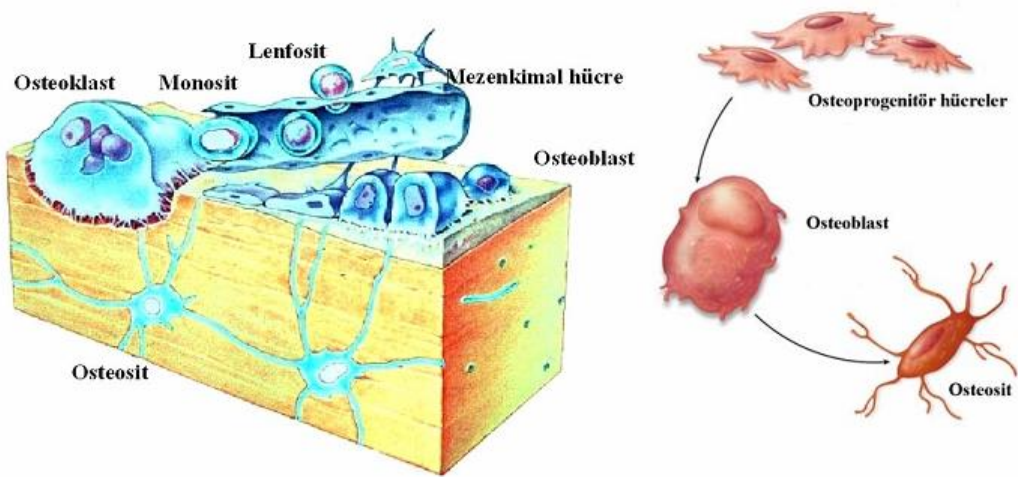
Periosteum ve endosteumun esas görevi; kemik dokunun beslenebilme, büyüyebilme ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları sürekli olarak sağlayabilmesidir (43, 44). Periost ve endost tabakası çok önemli rolleri üstlenmiş olduğundan bu iki bağ doku tabakasından dejenere olması durumunda kemik için hayati önemi olan fonksiyonlar da olumsuz etkilenmektedir (34). Periosteum ve endosteumun mikroskobik görünümü Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Periosteum ve endosteumun mikroskobik görünümü (45).

### 3.1.2.6 Kemik Hücreleri

Kemik dokusunun morfolojik yapılarına, yerleşimlerine, orijinlerine, fonksiyonlarına ve potansiyellerine bakılarak osteoprogenitör hücreler, osteoblast, osteosit ve osteoklast olmak üzere dört grup hücre içerdiği gözlenmiştir (36, 40, 46). Şekil 5'te kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi verilmiştir.



**Şekil 5.** Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi (40).

### 3.1.2.6.1 Osteoprogenitör Hücreler

Kemiğin ana hücreleri olup, kemik iliği stroma hücreleri veya multipotansiyel stroma hücreleri olarak bilinen mezenşimal kök hücrelerden oluşurlar (28, 40, 46). Osteoprogenitör hücreler iğ şeklinde ve oval çekirdekli dirler. Kemik yüzeyinde, endosteum ve periosteumun iç tabakasında, kompakt kemiğin vasküler kanallarında bulunurlar ve osteoblastlara dönüşerek kemik yapımını sağlarlar (1, 46, 47). Bu hücreler kemiklerin normal gelişiminde, yetişkin yaştaki kemik büyümesi sırasında, kemiğin iç kısmının reorganizasyonu esnasında aktiftirler. Ayrıca herhangi bir nedenle kemik yapımı uyarıldığında; kemik büyümesi, yıkımı veya kırık onarımında bu hücreler aktif hale gelerek bölünürler ve osteoblastlara dönüşürler (1, 34).

### 3.1.2.6.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar, osteoprogenitör hücrelerden köken alan, yaklaşık 20 µm çapında, kemik matrisinin organik kısımlarının üretilmesinden sorumlu olan

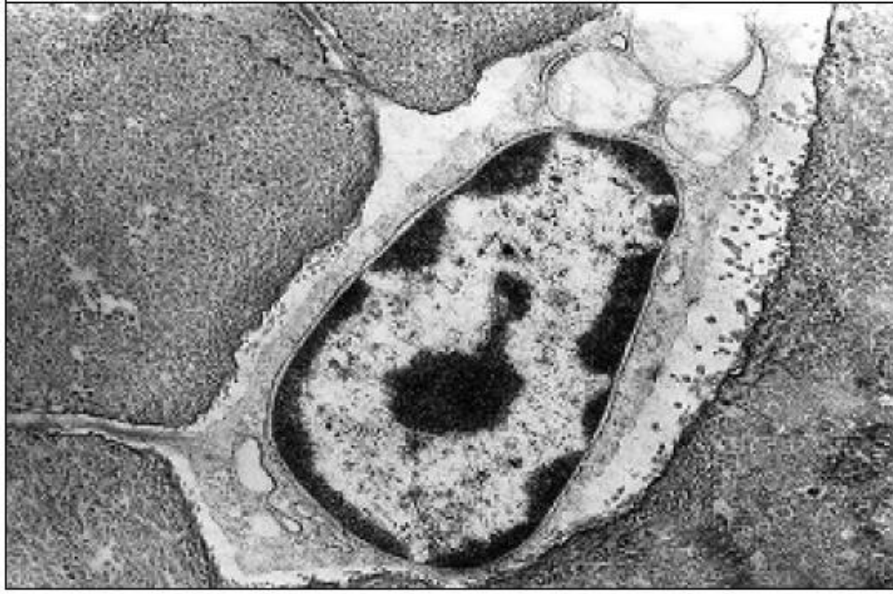
farklılaşmamış bağ dokusu hücrelidir. Periostun kambiyum tabakası ve endosteumda bulunan osteoblastlar, kemik yüzeyinde epitelyum hücrelerini andıran şekilde yan yana dizilirler. Aktivitelerine göre prizmatik, kübik ya da oval şekilli olabilirler. Bu hücreler hem Tip 1 kollajeni hem de kemiğin organik matriksinin kollajen olmayan proteinlerini sentezler ve salgırlar. Osteoblastlar; kemiğin uzunlamasına büyümesinin yanı sıra, enine büyümesini de sağlarlar (13, 32, 40)

Kemik yapımının aktif olduğu dönemde osteoblastlar yüksek düzeyde alkalin fosfataz salgırlar ve bu enzim kanda yükselir. Bu da kemik matriksinde kalsiyum depolanmasını osteoblastların düzenlediğini göstermektedir. Osteoblastlar, osteoid denilen kemik matriksinin organik kısımlarını, yani kollajen fibrilleri, proteoglikanları ve glikoproteinleri salgırlar. Yeni kemik oluşumu sona erdiğinde şekilleri basıklaşır ve osteoit halini alırlar (1, 13, 47).

### **3.1.2.6.3 Osteositler**

Osteoblastlar tarafından sentezlenen osteoid, kalsifikasyona uğrayıp hidroksiapatit kristallerini oluştururken bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak organellerinden çoğunu kaybeder ve osteosite dönüşür (13). Osteositler kemiğin esas hücreleri olup matriks lamelleri arasında bulunan lakünalar içerisinde bulunurlar (36). Her lakunada sadece bir osteosit vardır. Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıldır. Osteositler son üründür ve yenilenemezler. Üretimin devamı osteoblast prekürsor hücrelerinin farklılaşması sonucu olur. Osteositler, osteoblastlarla kıyaslandığında yassı elips şeklindedir, yaklaşık 20-60 µm boyutlarındadır. Osteoblastlara göre daha az sayıda mitokondri, endoplazmik

retikulum ve golgi aparatı içeren tek çekirdekli hücrelerdir (Şekil 6) (13, 32, 40). Tüm kemik hücrelerinin %90'ı osteosit hücresidir (17). Komşu osteositler sitoplazmik uzantılarının birbirleri arasında yaptıkları oluklu bağlantılar (gap junction) ile iletişim kurup, besin maddelerinin hücreden hücreye geçişini sağlarlar (32, 40). Osteositlerin öncelikli görevleri kemiğin idamesini sağlamak olsa da kemik sentezi ve rezorbsiyonunda da etkili oldukları bilinmektedir (48).



Şekil 6. Sitoplazmik uzantıları matriks tarafından sarılmış bir osteosit (13).

#### 3.1.2.6.4 Osteoklastlar

Osteoklastlar, kemik iliğindeki monosit-makrofaj progenitör hücrelerden farklılaşan, hormonal ve hücrel mekanizmalar tarafından kontrol edilen, kemiğin rezorbsiyonundan sorumlu ve kemiğin yeniden şekillenmesini sağlayan çok çekirdekli (ortalama elli çekirdek), hareket edebilen, çapı 150  $\mu\text{m}$ 'ye kadar ulaşabilen dev hücrelerdir (32, 40, 49). Makrofajlardan farklı olarak kıvrımlı sınırları, mitokondri ve vakuolden zengin sitoplazması, kalsitonin reseptörleri vardır ve asit fosfataz üretirler (50). Kemik iliğinden köken alan osteoklastlar,

kemik matriksini rezorbe eden asit, kollejenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgılayarak, kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve kemik rezorbsiyonu esnasında oluşan artıkların elimine edilmesini sağlarlar. Osteoklastlar, kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgede, enzimatik faaliyetler sonucu açılan, Howship lakunası denilen çukurcularda bulunurlar (13, 51). Osteoklastın aktivitesini bifosfonat, kalsitonin, östrojen hormonu, transforme edici büyüme faktör beta (TGF- $\beta$ ) azaltırken, paratiroid hormon (PTH), D vitamini ve tiroksin artırır (50, 52).

Osteosit, osteoblast ve osteoklastlar kalsiyum regülasyonunda, kemik hemostazında, şekillenme ve yeniden yapılanma aşamalarında yönetici rol oynarlar (50).

### **3.1.3 Kemik Oluşumu (Osteogenez)**

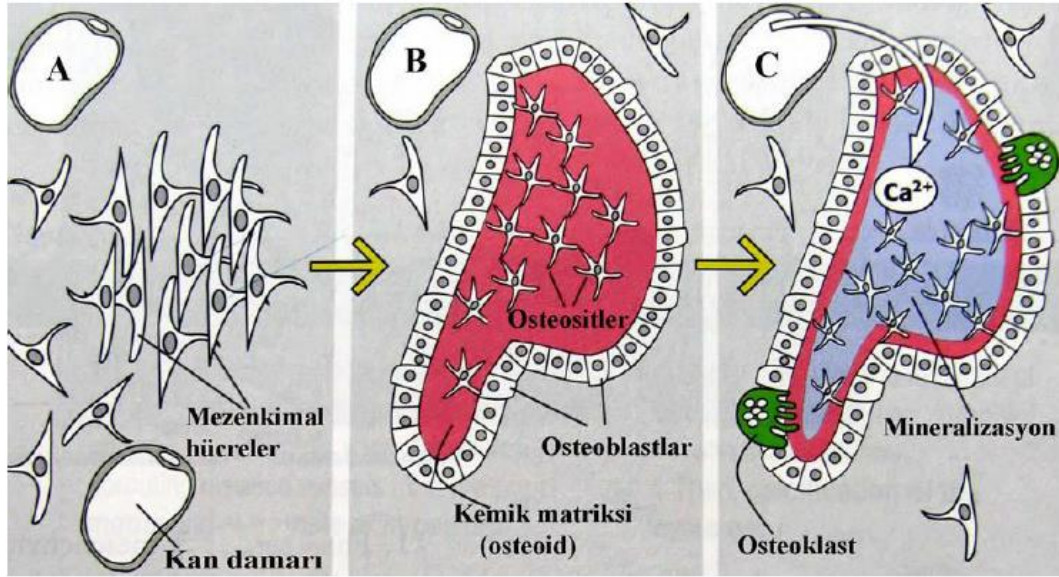
Kemiklerde gelişim ve büyüme embriyolojik dönemde başlayıp erişkin hayata kadar devam etmektedir. Kemikleşme sürecini büyüme hormonu, paratiroid hormon, kalsitonin ve cinsiyet hormonları kontrol eder. Embriyonik gelişim süresince kemik, başlıca iki yolla şekillenir. Bunlardan intramembranöz kemikleşme, bağ dokusundan osteoblastların salgıladıkları matriksin direkt mineralizasyonu; endokondral kemikleşme ise daha önceden bulunan kıkırdak matriksi üzerine kemik matriksinin çökmesi ile gelişmektedir. Her iki kemikleşme şekli de mezenşim hücrelerinin osteoblastlara dönüşmesi, organik matriksin salgılanması, kalsifikasyon ve osteoklastların belirmesi gibi benzer olaylar zinciri içinde gerçekleşir. Her iki şekilde de ortaya ilk çıkan primer ya da immatür (olgunlaşmamış) kemik dokusudur. Primer kemik dokusu kısa bir süre

sonra yerini sekonder kemik dokusuna (lamelli kemik) bırakmaktadır (13). Kemik yapımı, yıkımı ile uyumlu bir biçimde olmaktadır. Her iki kemikleşmede de, kemik yapı son şeklini alıncaya kadar bir taraftan yeni kemik yapılırken, diğer taraftan mineralize kemik yıkıma uğrar. Bundan dolayı kemik yapımı boyunca primer kemik, yıkım alanları ve sekonder kemik dokusu bir arada bulunur. Kemik yapımı ve yıkımı büyüyen kemiklerin yanı sıra yetişkinlerde de hızını azaltarak ömür boyu devam eder (53, 54).

### **3.1.3.1 İntramembranöz Ossifikasyon (Zarlararası Kemikleşme)**

İntramembranöz kemik oluşumunda kıkırdak bir model yoktur, kemik mezenşimal bağ dokusundan direkt olarak şekillenir. Organizmada kafatası, sternum, pelvis, maksilla ve mandibulanın bir kısmı, kısa ve uzun kemiklerin kompakt kısımları bu tip kemikleşmeyle meydana gelir. İntramembranöz kemikleşme uzun kemiklerin kalınlaşmasında ve kısa kemiklerin büyümesinde rol oynar (17, 19, 53). Mezenşim hücreleri hızla bölünerek osteoprogenitör hücreleri oluştururlar. Bu hücreler de bölünerek osteoblastlara farklılaşırlar. Osteoblastlar organik madde sentezine başlarlar. Bu kısım osteoblast, sentezlenip kalsiyum yoğunluğu artmış olan matriks içinde kalarak osteosite dönüşür. Kemikleşmenin başladığı bu ilk yapı primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır (1, 21). Bu yolla oluşan değişik şekil ve büyüklükteki bu kemik parçalarına kemik trabekülü denir. Şekillenen trabeküllerin yüzeylerinde yeniden oluşan osteoblastlar, tek sıra halinde dizilerek kemik lamellerini yapmaya başlarlar. Trabeküllere yerleşen osteoblastlar uzamına büyümeyi ve kalınlaşmayı sağlarlar. Trabeküller uzayıp kalınlaştıkça birbirleriyle kaynaşır, anastomozlaşırlar. Bu yapımın tekrarlanması

sonucu primer kemik trabeküllerinin yüzeylerinde, sekonder (lamelli) kemik dokusunda katmanlar oluşmaya başlar. Böylece süngerimsi kemik dokusu şekillenir. Süngerimsi kemikler son şekillerini aldıklarında, primer kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar, geriye sadece sekonder kemik trabekülleri kalır. Bunu takiben bu kemiklerin iç ve dış yüzlerine intramembranöz yolla bir miktar kompakt kemik eklenip, ossifikasyon sona erer. Kemik trabekülleri arasında bağ dokusuna, kemik iliği hücrelerini ve kan damarlarını oluşturacak olan çok sayıda mezenşimal hücrelerin dahil olması ile kemik iliği hücreleri de oluşur. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri de intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu meydana getirir (Şekil 7) (1, 13, 40).

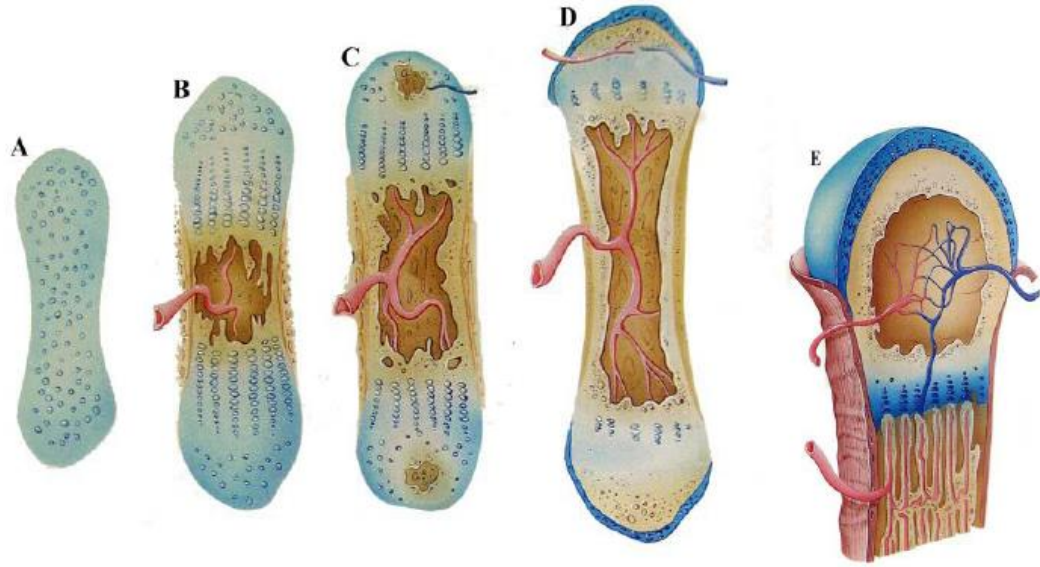


**Şekil 7.** İntramembranöz kemikleşme. **A)** Mezenşimal dokulardan direkt olarak kemik şekillenmesidir. **B)** Mezenşim hücreleri hızlı bölünme gösterir ve önce osteoprogenitör hücrelere daha sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirir. **C)** Kılcal damarlardan osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonları taşınıp, osteoblastların salgıladığı alkalen fosfataz aracılığıyla kalsiyum fosfat moleküllerine dönüşerek kalsifikasyonu sağlarlar. Osteoklastlar kemikleri iç yüzlerinden rezorbe ederken osteoblastlar da yeni kemik lamelleri eklerler. Birincil kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar, geriye sadece ikincil kemik yapısındaki trabeküller kalır (40).

### 3.1.3.2 Endokondral Ossifikasyon (Kıkırdak Kemikleşme)

Embriyolojik yaşamdan büyüme tamamlanıncaya kadar iskeletin kıkırdaktan oluşmuş kısımlarının kemik yapıya dönüşmesi olayına endokondral kemikleşme denir (16). Uzun ve kısa kemikler bu yolla oluşur. Kemikleşmenin oluşacağı yerde önce hyalin kıkırdaktan küçük bir model biçimlenir. Kıkırdak modelin diyafizinin iç kısmında bulunan kıkırdak hücreleri büyüyüp olgunlaşarak alkalın fosfataz enzimi salgılamaya başlarlar. Bu modelin şekli oluşacak kemiğin şekline benzer. Sonradan bu modelin yerini kemik dokusu alır. Esas olarak endokondral ossifikasyon iki evreden oluşmaktadır. İlk evre kemikteki kondrositlerin hipertrofisi ve defektidir. İkinci evrede, kan kapıllarlarından oluşan osteojenik tomurcuk ve osteoprogenitor hücreler, dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan kısımlara girer. Osteoprogenitor hücreler, osteoblastlara dönüşür. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları, kemikleşmenin başlamasına yardımcı olur. Yeni oluşan kemik yapısındaki kondrositler dejenere olur, kıkırdak matriksinin devamlılığı ortadan kalkar, kalsiyum çökmeye başlar ve kıkırdak matriksi kalsifiye olur. Endokondral kemikleşme epifiz sınırına ulaşıncaya, bu sefer kıkırdağın epifizleri içinde kemikleşme alanları belirir. Bundan sonra eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece kıkırdak bir halka kalır. Bu halkaya epifizeal disk denir (1).

Kemikleşme sona erinceye kadar epifizeal diskteki kıkırdak hücreleri diyafiz yönüne doğru bölünüp çoğalarak devamlı şekilde kıkırdak dokusu yaparlar. Bu kıkırdak dokusu da açıklanan yolla devamlı olarak yerini kemik dokusuna bırakır. En sonunda epifizeal disk de kemikleşir (Şekil 8) (1, 55, 56).



**Şekil 8.** Endokondral kemikleşme. **A)** Hyalin kıkırdak modeli **B)** Diyafiz kıkırdağını örten perikondriumun iç katındaki mezenşim hücreleri osteoprogenitör hücrelere, onlar da osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar üst üste yerleşen kemik lamellerini yapar. Böylece yeni kemiğin periosteumu ile kıkırdak dokusu arasında kemik dokusu oluşur. **C)** Kemik manşet, kondrositlerin beslenmesini bozarak, kondrositlerde atrofiye, ardından ölümlerine neden olur. Kıkırdak modelin ortasında kemik iliği kavitesi oluşur. **D)** Kıkırdak modelin epifizleri ile diyafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yaparlar. **E)** Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır (56).

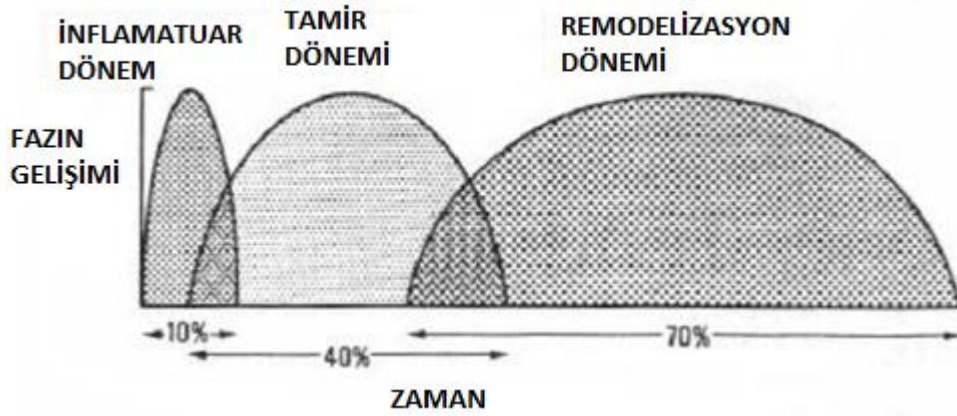
### 3.1.3.3 Kemik İyileşmesi

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla, kemiğin dayanabileceğinin üzerinde bir kuvvete maruz kalması sonucu anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Kırık; kemik matriksinin harap olmasına, hücrelerin ölümüne, periost ve endosta yırtılmalara ve kırık uçlarının yer değiştirmesine neden olur (32). Kırığa özgü belirti ve bulgular; hastanın duruşunda bozukluk, deformite, krepitasyon ve anormal harekettir (57). Kemik skar dokusu oluşturmadan yeniden şekillenmeyle iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu andan başlayarak, kırık uçları bir araya gelene kadar devam eder (58). Vaskülarite ve stabilite karşı karşıya gelen iki kırık fragmanının arasında iyileşme olabilmesi için mutlaka var olması gereken iki

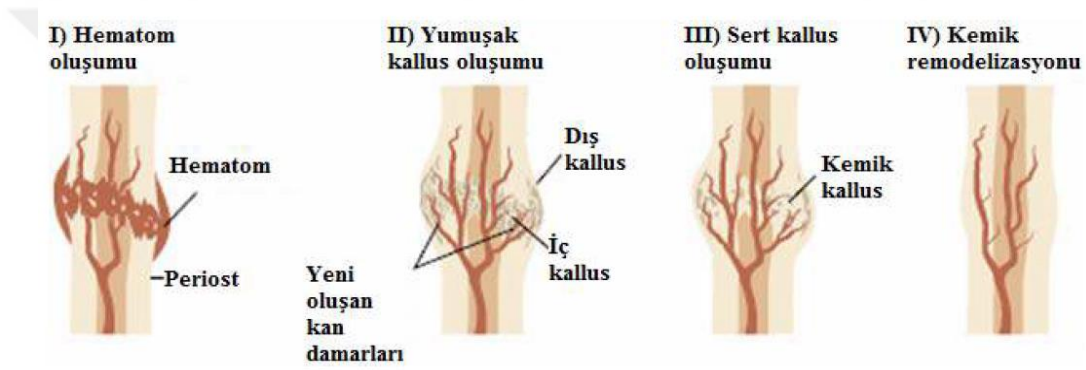
ögedir (59). Kırık iyileşmesinde önemli rol oynayan dört yapı; kemik iliği, korteks, periost ve çevre yumuşak dokulardır (60). Bu yapılardan her biri, hasar gören dokudaki büyüme faktörleri, hormonlar, besinler, pH, oksijen basıncı ve mekanik stabilite gibi birçok faktöre bağlı olarak kırık iyileşmesine değişik boyutlarda katkıda bulunmaktadır. Kırığın tipine, yerine ve uygulanan tedavi şekline göre bu faktörlerden bir ya da birkaçı eş zamanlı olarak ortaya çıkabilir (61).

Kemik iyileşmesi primer (birincil) kemik iyileşmesi ve sekonder (ikincil) kemik iyileşmesi olmak üzere iki ana yolla gerçekleşir. Primer kemik iyileşmesi, kırık uçlarının anatomik redüksiyonu sonrası, mikrohareketin görülmediği ve eksiksiz bir rijiditenin sağlandığı durumlarda gözlenen iyileşme tipidir. Kırık iyileşmesi, periosteal ve endosteal kallus oluşumu ile değil, direkt kortekste lamellar kemik formasyonu ile meydana gelir. Primer kemik iyileşmesi oldukça nadirdir. İyileşme genellikle sekonder kırık iyileşmesi şeklinde olur (61).

Sekonder iyileşme periost ve çevre yumuşak dokuların verdiği yanıtın bir sonucudur. Cruess ve Dumont'a göre sekonder kırık iyileşmesinin yangı (enflamasyon), onarım (reperasyon) ve yeniden şekillenme (remodelling) evresi olmak üzere üç evresi vardır (44). Evreleri zaman olarak birbirlerinden kesin sınırlarla ayırmak güçtür ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur (Şekil 9, Şekil 10) (61-63).



Şekil 9. Kırık iyileşmesinin evreleri (62).



**Şekil 10.** Kırık iyileşmesinin aşamaları. **I)** Kırık nedeniyle meydana gelen dolaşım bozukluğu sonucunda, defektif kemik dokusunun içinde hematom oluşur. **II)** Kırık hematomu aracılığıyla etraftaki damarlardan kırık alanı içerisine uzanan yeni damarlar meydana gelir (Anjiyogenez). Anjiyogenez ise endokondral ossifikasyon aracılığı ile bir kırıkta iskelet (iç kallus) oluşumu yanında dış kallus oluşumunu da sağlar (intramembranöz ossifikasyon). **III)** Hipertrofik kondrositlerin apoptozise uğraması ile kallus mineralizasyonu gerçekleşir ve trabeküler kemik oluşarak yerini lamellar kemiğe bırakır. **IV)** Primer lamellar kemik yapısındaki kallus dokusu yeniden şekillenerek sekonder lamellar kemiğe dönüşür ve kemik dolaşımı bu süreçte normale döner (63).

### 3.1.3.3.1 Enflamasyon Evresi

Tüm doku travmasında olduğu gibi kırıklarda da ilk oluşan yanıt “yangı” yani “enflamasyon”dur. Kırık oluşumu ile başlayan yangı yaklaşık 2-3 hafta devam eder (31). Kemik kırıldığında, kemik fragmentlerinden, çevre yumuşak dokudan, periosttan bu bölgeye kanama olur. Medullar kanal içinde, kırık uçlarının arasında ve kalkmış olan periostun altında hematom birikimi gözlenir

(64). Kırık oluştuktan sonra damarlarda vazokonstrüksiyon, bunu takiben vazodilatasyon meydana gelir. Kırık bölgesine dokudaki mast hücreleri tarafından histamin salgılanması sonucu kılcal damarların permabilitesi artar. Vazodilatasyonu takiben plazma eksudasyonuna bağlı kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem ve kemotaksis meydana gelir, nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler ödemli bölgeye göç ederek kırık alanına hakim olurlar (Şekil 11A) (50, 58, 65).

### **3.1.3.3.2 Onarım Evresi**

Onarım safhası, kırık oluştuktan hemen sonra başlasa da yapısal olarak 7-12 günde belirgin hale gelir (66, 67). Lokal uyarılara cevap veren öncü hücreler fibroblast, hücrelerarası madde, yeni damar destek hücreler ile diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşarak, oluşmuş olan hematomu organize etmeye başlarlar. Onarım sürecinde etkili olan hücrelerin mezenşimal kökenli olduğu ve bunların kollajen, kıkırdak ve kemik dokusunu yaptığı bilinmektedir (19). Prostaglandinlerin etkisi ile yeni osteoklast oluşumu ve mevcut osteoklast aktivitesinde artış olurken; fibroblastlar glikozaminoglikan ve kollajen, osteoblastlar ise osteositleri oluştururlar. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı direnci, içerdiği kollajen miktarı ve tipi ile yakından ilişkidir (66, 67). Yaklaşık 18 tip kollajen vardır; tip I kemikle, tip II kıkırdakla, tip III ve tip V granülasyon dokusu, tip IV ve tip VI endotelial matriksle ilgilidir (68).

Fibroblastlar, damar oluşumuna yardım etmek üzere stromaya yerleşmeye başlar. Vasküler oluşum arttıkça kollajen ağ belirginleşir (69). Kırık bölgesindeki pıhtının meydana getirdiği fibroblastlar ve fibrin ağlarından salgılanan kollajenlerin oluşturduğu genç granülasyon dokusuna, bir hafta sonra osteoblast

ve kondroblastların da katılmasıyla fibröz kallus şekillenir. Başlangıçta meydana gelen fibröz kallus yumuşaktır. Sonraları kondroblastlar da osteoblastlara dönüşür ve osteoblastlardan osteoid üretilir. Kalsiyum tuzlarının (hidroksiapatit) ortama yavaş yavaş çökmesi sonucu fibrokartilajinöz kallus oluşur. Oluşan fibrokartilajinöz kallus serttir fakat hala dayanıksızdır. Fibrokartilajinöz kallus yavaş yavaş yerini osseöz kallusa bırakır. Bu aşamaya 4-6 haftada ulaşılır (70). Bu nedenle bu dönemde kırık uçlarının hareket etmemesi önemlidir. Radyolojik olarak kaynama kırık hattındaki kallusun mineralize olmaya başlamasından (10-21 gün) sonra görülmeye başlar. Bununla birlikte kallusun 20 günden sonra sertleşmeye başladığı görülmektedir (66). Oluşan ilk kallusun yeni kapiller ile tamamlanması 4-12. günler arasında gerçekleşmektedir (71). Kanla beslenmenin yeterli olması osteoblastların kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamalarına yardım etmektedir. Oluşan kan damarları 2-3 günde ışık mikroskopunda görünmeye başlamakta ve ilk haftada belirginleşmektedir (Şekil 11B) (44, 50, 67).

Sonuçta kallus ossifiye olur ve kırık yüzleri arasında lamellar olmayan kemik köprüsü oluşturur. Eğer uygun ve yeterli kırık sabitlemesi yapılmazsa kallus ossifikasyonu yeterince oluşmaz ve bunun sonucunda hareketsiz olmayan fibröz birleşme gelişebilir (69). Bununla beraber, iyileşme henüz son evrede değildir, oluşan kallusun gereksiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme safhası başlar (58).

### 3.1.3.3 Remodelling (Yeniden Şekillenme) Evresi

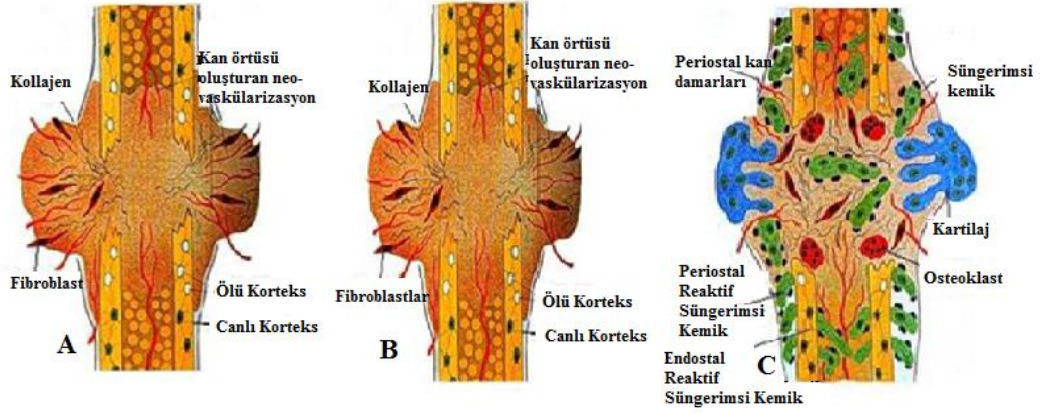
Kemik iyileşmesi, en uzun safha olan ve yıllarca süren yeniden yapılanma evresi ile sonlanır. Onarım evresinin ortasından başlayarak, normal şartlarda 4-16 hafta devam ederken, yıllar boyu da sürebilen bir evredir. Yeniden şekillenme evresi güçlü fakat düzensiz sert kallusun normal güçteki daha düzenli lamellar kemiğe dönüşümü ve aşırı kallusun rezorbsiyonunu içerir. Bu safhada kemik orijinal güç ve yapısını kazanır (69, 72). Yeniden şekillenme, maruz kaldığı yüke göre (Wolf Kanunu) kemiğin normal şeklini almasını sağlar. Süreç boyunca onarım evresinde oluşan birincil kemik osteonlardan meydana gelen lamellar kemikle yer değiştirir. Kemik iliği boşluğunun tekrar oluşması ile kırık iyileşmesi sona erer (58).

Günümüzde kemiğin yeniden şekillenmesinde kabul gören üç temel teori vardır. Birincisi Wolf Kanunu'dur. Bu kanuna göre, kemiğin fonksiyonundaki değişiklik, kemik dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Mekanik strese maruz kalan kemiğin osteoklastik aktivitenin hâkim olduğu konveks yüzü pozitif elektrikle yüklendiğinden, konveks yüzde rezorpsiyon olmaktadır. Osteoblastik aktivitenin hâkim olduğu konkav yüz ise negatif elektrikle yüklendiğinden, konkav yüzde yeni kemik yapımı olmaktadır (44, 66, 67). İkincisi; kemiğin elektrik yüklerine göre yeniden şekillenmesi esasına dayanan Piezoelektrik Yükler Teorisi'dir. Bu teoriye göre, kemiğin kompresyon yüzü elektronegatif olup osteoblastları yani kemik yapımını uyarırken; gerilme yüzü elektropozitif olup osteoklastları yani kemik yıkımını uyarır. Üçüncü teori ise; yeniden şekillenmeyi sistemik hormonlar ve lokal sitokinler tarafından düzenlenen, temeli çok hücreli birimlere dayandıran Hueter-Volkmann Kanunu'dur. Hueter-Volkmann Kanunu

mekanik faktörlerin uzunlamasına büyüme, kemiğin yeniden şekillenmesini ve kırık onarımını etkileyebildiğini öne sürer (21).

Tüm bu reaksiyonlar aktivasyon-rezorpsiyon-formasyon olarak bilinir. Osteoblastlar parathormon ile aktive olurlar ve kemik bölgesini boşaltırlar, osteoklastlar stimüle olurlar ve osteoblastların boşalttıkları alana tutunup rezorpsiyona başlarlar. Daha sonra rezorpsiyon durur ve osteoklastlar tutunma yerlerinden ayrılırlar. Osteoklastik rezorpsiyon alanları (Howship's lakunaları) osteoblastlar tarafından doldurulur ve daha sonra kalsifiye olup kemik oluşturacak osteoide dönüşürler (Şekil 11C) (29, 50, 73).

İnsanlarda aktivasyon-rezorpsiyon-formasyon prosesi 3-6 ay sürer ve bu süre sigma olarak bilinir. Bu süre köpeklerde 3 ay, tavşanlarda ise sadece 6 haftadır (74).



**Şekil 11.** Kırık iyileşmesinin evreleri. A) Enflamasyon Evresi. B) Onarım Evresi. C) Remodelling Evresi (50).

### 3.2 Transplantasyon

Herhangi bir nedenle işlevini tam olarak gerçekleştiremeyen, organ veya dokunun yerine organizmanın başka bir bölümünden ya da farklı canlı türlerinden

elde edilen organ, doku veya biyomateryallerin yerleştirilmesine transplantasyon denir (3, 12, 55).

### **3.2.1. Kemik Greftleri**

Kemik greftleri kemikte oluşan defektlerin rekonstrüksiyonunda destekleyici ve kemik yapımını uyarıcı etkilerinden yararlanmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (75). Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu için oldukça fazla alternatif yöntem uygulanmakla birlikte, defektin büyüklük, şekil ve antijenik olarak benzer özelliklere sahip bir başka kemik dokusu ile rekonstrükte edilmesi en ideal yöntemdir (76).

Kemik dokusunun rejenerasyon kapasitesi oldukça fazladır. Kemik doku orijinal yapısını ve fonksiyonunu tamamen eski haline getirebilir. Oluşan kemik defektleri küçükse, kemik dokunun rejenerasyon özelliği sayesinde iyileşebileceğinden greft uygulamasına gerek bulunmayabilir (2). Greft materyallerine duyulan ihtiyaç kemik defektlerinin büyüklüğüne bağlıdır. Büyük defektler ve kemik hacmindeki ciddi kayıplarda ise kemiğin kendi kendine iyileşmesi mümkün olmayıp, fonksiyonunu devam ettirebilmesi için greftleme gerekecektir (34).

Küçük hayvanlarda başta travma olmak üzere osteomyelit, kemik tümörleri ve kemik kistlerinin rezeksiyonu, konjenital anomaliler ve malignitelerin tedavisi sırasında karşılaşılan kemik defektleri veteriner ortopedinin önemli sorunlarından. Bu defektlerin tedavisinde farklı fiksasyon yöntemlerine ek olarak yeni kemik oluşumunu uyarmak için çeşitli tedavi yöntemlerine başvurulmaktadır. Bunlardan en sık tercih edileni, kemik oluşumunu çeşitli etki

mekanizmalarıyla uyaran ve defekt tedavisinde kemik yerine boşluk doldurmak için kullanılan greftlerdir (55, 77).

Kemik cerrahisinde greft kullanımı 17. yüzyıla dayanmaktadır. Günümüzde kemik, kandan sonra en fazla transplante edilen dokudur. Kemik greftlerinin bu denli yaygın kullanılmasının nedeni kemik defektlerini ortadan kaldırmasının yanı sıra, osteojenik aktivitelerinin olmasıdır (78).

İdeal bir kemik greft materyalinde olması gereken özellikler:

1. Dokularla tamamen uyumlu ve inert olmalı,
2. Yüksek oranda permeabilitesi ve poröz yapısı olmalı, por yapısı birbirleriyle ilişkili olmalı,
3. Antijenik özellik taşımamalı, karsinojenik ve toksik olmamalı,
4. Hastanın dokusu tarafından kabul edilip birleşebilmeli, enfeksiyon oluşturmamalı ve enfeksiyon oluşumunu kolaylaştırmamalı,
5. Yapısal olarak güçlü, dayanıklı olmalı, yeterli destek ve stabilite sağlamalı,
6. Kolay uygulanabilmeli ve istenilen forma kolayca getirilebilmeli,
7. Hızlı ve yeterli miktarda elde edilebilmeli,
8. Ucuz olmalı,
9. Osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri olmalıdır (79, 80).

Alıcı sahası ile greft arasındaki biyolojik olaylar ise şunlardır:

1. Hematom oluşumuyla sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımı,
2. İnflamasyon, migrasyon ve mezenşimal hücrelerin proliferasyonu ile greft içerisinde ve çevresinde fibrovasküler doku oluşumu,
3. Damarların greft içine invazyonu,

4. Greft yüzeylerinin lokal osteoklastik rezorbsiyonu,
5. Greft yüzeylerinde intramembranöz ve/veya endokondral kemik oluşumu (81, 82).

### **3.2.1.2 Kemik Greftlerinin Fonksiyonları**

Kemik greftlerinin, osteointegrasyon, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteogenesis olmak üzere başlıca dört fonksiyonu bulunmaktadır. Greft materyalleri bu fonksiyonlardan birine veya birden fazlasına sahip olmalıdır (83).

**3.2.1.2.1 Osteointegrasyon:** Arada fibröz doku oluşumuna neden olmayacak şekilde greftin alıcı kemik yüzeyine kimyasal olarak tutunabilmesidir (13).

**3.2.1.2.2 Osteoindüksiyon:** Kök hücrelerin uyarılarak olgun osteoblast ve osteosite farklılaşmalarını sağlama kapasitesidir (77). Osteoindüksiyonun gerçekleşmesi için bir parça kemiğe veya osteojenik hücrelere ve osteogenesis için uygun bir ortama gereksinim duyulur. Bu stimülasyon greftteki hücre kalıntılarında daha çok kemik morfojenik proteinlerinden sağlanmaktadır (82). Demineralize kemik bu tipte bir greft materyalidir (84).

**3.2.1.2.3 Osteokondüksiyon:** Vasküler ve perivasküler yapıların alıcı kemikten greftte ilerlemesi için greftin çatı görevi üstlenerek yüzeyinde yeni kemik oluşumunu desteklemesidir. Kemik grefti kan damarlarının invazyonu, yeni oluşan kemik dokusunun şekillenebilmesi ve alıcı yatağından yeni kemik oluşumu

için destek sağlar. Kemik greftlerinin bu yapısal desteği, transplantasyon bölgesindeki vasküler reaksiyonun ve greft içindeki revaskülarizasyonun oluşumu için önemlidir (13, 82). Otojen veya allojen kortikal kemik greftleri osteokondüktif özellikleri olan grefterdir. Bu greft materyalleri ile sentetik veya kemik kaynaklı kemik greftleri benzer osteokondüktif özelliklere sahiptirler (85).

**3.2.1.2.4 Osteogenesis:** Transplantasyon sonrası greft materyalindeki hücrelerin, hayatta kalarak, transplante edilen alanda yeni kemik oluşturabilmesidir. Yeni kemik dokusunun oluşabilmesi için öncelikli olarak yeterli sayıda “osteojenik progenitor hücreler” ortamda bulunmalıdır. Greftteki canlılığını sürdüren yüzey hücreleri, osteojenik hücrelere farklılaşma yeteneğindedirler. Bu mezenşimal (osteoprogenitör) hücreler, kemik oluşumunu hızlandırır. Taze kortikal veya kansellöz greftlerin yüzey hücreleri, dikkatli uygulama sonucunda yaşayabilir ve yeni kemik oluşturabilirler (86, 87). Greftteki osteojenik hücrelerin canlılığı, transferden sonra direkt olarak beslenmesine bağlıdır (88).

Greft materyallerinin osteogenetik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri ile avantaj ve dezavantajları Tablo 1’de verilmiştir (77, 89)

### **3.2.1.3 Greft Tipleri**

Greftler alındıkları kaynaklara göre otojen (otojenöz), homojen (homojenöz), heterojen (heterojenöz, ksenogreft), alloplastik ve kompozit greftler olmak üzere beş sınıfta incelenebilir (90, 91). Kemik greft materyallerinin bir başka sınıflandırma şekli Tablo 2’de verilmiştir (3, 31, 92-94) .

**Tablo 1.** Bazı greft materyallerinin osteogenetik, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri ile avantaj ve dezavantajları (77, 89).

Greft	Osteokondüktivite	Osteoindüktivite	Osteojenite	Avantajları	Dezavantajları
Otojen kemik grefti	+++	++	++	Altın standart, biyouyumludur	Sınırlı miktarda elde edilebilirler
Allojen kemik grefti	+++	+/-	-	İlave cerrahiye gerek yoktur	Reddedilme ihtimali vardır
DBM	+	++	-	BMP içerir	Putty (macun) formu dışındaki formlarının kullanımının zor olması
Kollajen	++	-	-	Taşıyıcı görevi yapabilir	Tek başına kullanımında kemik iyileşmesinde etkisiz olabilmesi
Kemik İliği	-	?	+	Osteojenitesinin yüksek olması	Aspirasyon sonrası hemen kullanılmalıdır
Hidroksiapatit	+	-	-		Yavaş emilmektedir
Trikalsiyum fosfat	+	-	-	Biyoyumlu olup yapısal destek sağlarlar	Granül formu dışındaki formların kullanışlı olmaması
BMP	-	+++	-	Kaynak sınırsızdır	Saf ve immunojenik olmaması

DBM: Demineralize Kemik Matriksi

BMP: Kemik Morfojenik Proteini

**Tablo 2.** Kemik esaslı olan ve olmayan greft materyalleri (3, 31, 92-94).

<b>Kemik Esaslı Greft Materyalleri</b>	<b>Kemik Esaslı Olmayan Greft Materyalleri</b>
	Doku Kaynaklılar
Otojen Kemik Grefti (Otogreft)	1. Dentin
1. Kansellöz Kemik	2. Sement
2. Kortikal Kemik	3. Kıkırdak
3. Kortikokansellöz Kemik	4. Sklera
	5. Duramater
Homojen Kemik Grefti	Seramikler
1. İzogreft	1. Kalsiyum sülfat (Paris Alçısı)
2. Allogreft	2. Kalsiyum aluminat
a. Sterilize kansellöz kemik ve iliği	3. Biyoaktif cam ve cam seramikler
b. Dondurulmuş-kurutulmuş kemik	4. Kalsiyum karbonat
c. Dondurulmuş-kurutulmuş dekalsifiye kemik	5. Kalsiyum fosfat
d. Solventlerle dehidrate edilmiş kemik	6. Yağlı kalsiyum hidroksit süspansiyonu (rezorbe olan)
Heterojen Kemik Grefti (Ksenogreft, Heterogreft)	
1. Sığır kaynaklı hidroksiapatitler	Jelatin Film
2. At kaynaklı hidroksiapatitler	
3. Domuz kaynaklı hidroksiapatitler	
4. Mercan kaynaklı hidroksiapatitler	
	Polimerler
	Metaller

### **3.2.1.3.1 Otojen Greftler**

Bir bireyin vücudunun bir bölgesinden alınıp farklı bir bölgesinin rekonstrüksiyonunda kullanılan dokulara otojen greft adı verilir. Yüksek osteojenik özelliğe sahip greftlerdir (95).

Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda öncelikli olarak tercih edilen otojen kemik greftleri “altın standard” olarak kabul edilmektedir. Canlı hücre

kapasitesine sahip oldukları için alıcı bölgede osteoblastları stimüle ederler (76, 96, 97). Otojen greftlerin biyolojik uyumluluk, düşük enfeksiyon riski ve damarlanma yeteneği gibi olumlu özelliklerinin yanında greft elde etme işleminin ikinci bir operasyon gerektirmesi, greftin sınırlı miktarda elde edilebilmesi, donör bölgedeki kemik yapısının zayıflaması, kırık, deformasyon, sinir zedelenmesi, ağrı, enfeksiyon gelişimi, anestezi süresinin uzaması ve kan kaybının artması gibi olumsuz özellikleri de bulunmaktadır. Bütün bu dezavantajlar alternatif yöntemlerin geliştirilmesi çalışmalarının artışına neden olmuştur (95, 98, 99).

#### **3.2.1.3.2 Allojen Greftler**

Allojen greftler aynı türde olan, fakat genetik olarak farklı bir canlıdan elde edilip bir takım işlemlere tabi tutulduktan sonra kullanılan greftlerdir (100). Allojenik greftler otojen kemik greftlerinin endike olmadığı durumlarda sıklıkla tercih edilmektedir. Allogreftlerin hazır bulunmaları, azalmış anestezi ve cerrahi süresi, azalmış kan kaybı ve daha az komplikasyon avantajları iken; immunojenite ve enfeksiyon taşıma riskleri dezavantajları arasında sayılmaktadır. Bu riskleri minimuma indirmek için allojenik greftler çeşitli işlemlerden geçirilir (100-102). Yaşayan canlılardan veya kadavralardan elde edilerek depolanan allogreftler hazırlanma yöntemlerine göre, dondurulmuş, dondurulmuş kurutulmuş, demineralize, deproteinize, taze dondurulmuş ve solventlerle dehidrate edilmiş olarak gruplandırılabilirler (Tablo 2) (103, 104).

Greftte yapılan uygulamalar nedeniyle greftteki osteojenik hücreler yok edilir. Bu tür greftlerin osteogenezise katkısı pasiftir ve sadece sert doku matriksi oluştururlar. Bu nedenle rekonstrüksiyonda sadece çatı görevi görürler (105).

Son zamanlarda en çok kullanılan allojenik kemik grefti; dondurulmuş kurutulmuş greftlerdir. Mineralize veya demineralize olmak üzere her iki formda da kullanılmaktadırlar. Demineralizasyon işlemi, greft materyalindeki mineralize yüzeyi elimine ederek; alttaki kemik kollajenlerinin, bazı büyüme faktörlerinin ve BMP gibi osteoindüktif kapasiteyi arttıran kemik morfogenetik proteinlerinin açığa çıkmasını sağlamaktadır (106-108).

Otogreft ve allogreftlerin karşılaştırılması Tablo 3'te gösterilmiştir (109).

**Tablo 3.** Otogreft ve allogreftlerin karşılaştırılması (109).

<b>Kemik Grefti</b>	<b>Yapısal Dayanıklılık</b>	<b>Osteokondüksiyon</b>	<b>Osteoindüksiyon</b>	<b>Osteogenezis</b>
<b>Otogreft</b>				
Kansellöz	-	+++	+++	+++
Kortikal	+++	++	++	++
<b>Allogreft</b>				
Kansellöz-Donmuş	-	++	+	-
Kansellöz-Dondurulup kurutulmuş	-	++	+	-
Kortikal-Donmuş	+++	+	-	-
Kortikal-Dondurulup kurutulmuş	+++	+	-	-

### 3.2.1.3.3 Ksenojen Greftler

Bir türden başka bir tür canlıya nakledilen greftlere ksenojen greft denir. Biyouyumlu ve osteokondüktif özelliklere sahiptirler. Ksenojen kemik kullanımı ilk olarak 1889'da rapor edilmiştir (102).

Ksenogreftler, memeli hayvanların kemiklerinden veya deniz mercanlarından elde edilirler. At, domuz ve sığaçıllere ait kemiklerin de uygun olmasına karşın, sığaçı kemikleri daha çok tercih edilmektedir. Kimyasal işlemler sonrası organik kısmı uzaklaştırılarak immünolojik reaksiyon oluşturma veya hastalık transferi ortadan kaldırılır (23, 102).

Osteokondüktif ve kısmen osteoindüktif özellikte olan (110) sığır kaynaklı ksenogreftler, etilen diamin ile 24 saat bekletilerek organik komponentlerinden ayrıldıktan sonra doğal kemik mineralinin açığa çıkartılmasıyla elde edilir. Geriye kalan inorganik yapı olan kalsiyum matriks, sterilize edilerek kullanıma hazır hale getirilir. Ksenogreftlere solvent dehidratasyon ve gama ışınlama teknikleri uygulanmaktadır (111). Bu şekilde hazırlanan greftlerin, alıcıda herhangi bir immun reaksiyona neden olma olasılığı ve hastalık taşıma riski yoktur (47). Ayrıca poröz yapısı ve daha fazla mineral komponent içermesi nedeniyle osteokondüktif bir iskelet sağlayarak kemiğe daha fazla entegre olur (112).

Grefti elde etmek için alıcıda ilave bir operasyona gerek olmaması, büyük miktarlarda kemik grefti elde edilebilir olması avantajları arasındadır. Osteogenezis için canlı hücreleri içermemeleri ve antijenik reaksiyona neden olabilmeleri ise bu materyallerin dezavantajlarıdır (113).

#### **3.2.1.3.4 Alloplastik Greftler (Biyomateryaller)**

İnert sentetik materyallerden elde edilen ve kimi zaman da implant materyalleri olarak adlandırılan greft türüdür.

Otogreft, allogreft ve ksenogreftlerin yararlarına rağmen herbirinin dezavantajları alternatif arayışları doğurmuştur. Alloplastik materyaller, kemik defektlerinde osteogenezisin başlatılması amacıyla kullanılmaktadırlar (104). Biyomateryaller; seramikler, metaller, polimerler ve kompozitler olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. Bu materyallerin osteojenik ve osteokondüktif özellikleri tespit edilmiştir. İdeal bir sentetik greft osteoprogenitör hücrelerin yerleşeceği ve

gelişmesine uygun ortam sağlayacak osteokondüktif matriks yapısı ile kemik oluşumunu sağlamalıdır (96).

Alloplastik greft materyalleri; hastalık taşıma riskinin olmaması, kolay uygulanabilmesi, operasyon süresinin kısa olması, verici sahaya ihtiyaç duyulmaması, greft materyallerindeki büyüklük ve şekil çeşitliliği gibi avantajları nedeniyle güvenle kullanılan materyaller haline gelmişlerdir (96).

### **3.2.1.3.5 Biyoaktif Cam**

1969 tarihinde Hench tarafından biyoaktif camların keşfi biyomateryallerin sınırlarını genişletmiştir (114). Biyoaktif cam, kemik oluşumunu sağlayan hücreleri canlandırmak amacıyla yeni kemik oluşumunu sağlamaktadır (115). Biyoaktif seramikler sınıfına giren biyoaktif camlar, silikon dioksit (%45), kalsiyum oksit (%24.5), sodyum dioksit (%24.5) ve fosfor oksitten (%6) ibarettir (116). Tüm bu elementler vücutta doğal olarak bulunmaktadır. Biyoaktif cam, cam görünümündedir ve dokunulduğunda cam hissi verir, fakat çok farklı bir davranış şekli vardır (114). Biyoaktif camların en önemli özellikleri; enzimatik faaliyetlere sahip olması, üç boyutlu vasküler yapı oluşumunu desteklemeleri, kemik dokudaki mezenşimal hücrelerin farklılaşmasına yardımcı olmaları ve kemik doku ile organik bağlarla bağlanmalarıdır (86). Biyoaktif camları diğer biyoaktif seramik ve cam seramiklerden ayıran temel özellik kimyasal özelliklerinin ve dokulara bağlanmalarının kontrol altına alınabilmesidir (114). Sentetik bir materyal olan biyoaktif cam, kemik dokusuna kimyasal olarak bağlanmakta ve bu bağlanma yüzeyinde osteoblastlar tarafından primer mineralizasyon için sağlanan kollajen, zemin maddesi ve matriks vezikülleri sayesinde yeni kemik oluşumu gerçekleşmektedir. Biyoaktif camların bir diğer

farklı özelliği ise, uygulama sırasında kırılma olduğu durumlarda, parçalar birbirinden ayrılmamışsa yüzey apatit tabakasının kendi kendini tamir kapasitesi sayesinde tekrar birleşebilmektedir (114).

Biyoaktif cam osteokondüktiftir, yüzeyin neresinde olursa olsun, kemik oluşturan bir hücre ile temas ettiğinde, orada kemik şekillenir. Biyoaktif camın sadece kemiğe temas ettiği yerde değil, tüm yüzeyinde kemik yapımı görülür (117). Biyoaktif camların kemiğe bağlanma özelliği yüksek reaktivitesinden kaynaklanır. Bunun sonucu olarak kırılan silikon bağlarının yerine kalsiyum fosfat tabakası camın yüzeyine bağlanır ve daha sonra hydroxycarbonate apatite (HCA) kristallerine dönüşür (87). Bu özellik sayesinde, biyoaktif camlar çevre sert dokuya ve bazı hallerde yumuşak dokuya kimyasal olarak bağlanabilmektedir. Greft partiküllerinin HCA tabakasıyla kaplanması transplantasyondan sonraki birkaç saat içinde gerçekleşir. Bu kalsiyum fosfattan zengin tabaka, osteoblastlar tarafından mineralize ekstrasellüler matriks oluşturmak için kullanılan proteinlerin adsorbsiyon ve yoğunluğunu artırır (116, 118).

Hücre kültür çalışmalarıyla in vivo uygulamalarda biyoaktif camların kemik oluşumuna olumlu katkılarının hidroksiapatit oluşarak kemik implant bağlantısını oluşturmanın yanında kollajen sentezi ve çapraz bağlanma oranının artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (119).

Biyoaktif cam hem hemostatik hem de bakteriostatiktir ve ara yüzeydeki bakteri üremesini inhibe eder. Bu durum camın yüzeyinde meydana gelen yüksek pH'nın (pH 10'a kadar çıkar) bakteri üremesini inhibe ederek enfeksiyon sonucu ortaya çıkan asitleri nötralize etmesi ile ortaya çıkar (117, 120).

Biyoaktif camların medikal olarak pek çok kullanım alanı bulunmaktadır. Öncelikli olarak kemik defektlerinde kemik doku tamiri ve rejenerasyonunda, biyomedikal uygulamalarda (orta kulak cerrahisi), periodontal hastalıkların klinik tedavisinde, implant yüzeylerinin kaplanmasında kullanılmaktadır (121).

Biyoaktif camın en büyük avantajı, çabuk doku bağlanmasına olanak sağlayan yüksek yüzey reaksiyon hızıdır. Bir diğer avantajı ise esneklik katsayısı değerlerinin kortikal kemiğe yakın olmasıdır (122). Biyoaktif camı diğer alloplastik materyallerden ayıran özellik camın kemiksel ve yumuşak dokulara kimyasal olarak bağlanabilme yeteneğidir. Biyoaktif cam partikülleri yeni kemik doku proliferasyonunu hızlandırmaktadır (123). Materyal ütilirken biyoaktif cam partiküllerinin boyutları nano seviyelere indirgenerek partiküllerin reaktifliğinin artırılması amaçlanmaktadır. Bu sayede materyalin performansının artırılmasının yanı sıra materyale yeni uygulama alanları kazandırılmaktadır. Biyoaktif cam uygulaması ile cam partiküllerinin yüzeyinden hem daha hızlı iyon salınımı hem de yüksek protein adsorpsiyonu gerçekleştirilerek biyoaktivitenin artırılması hedeflenmektedir (121).

Son yıllarda kullanıma sunulan biyoaktif cam içeren greftler, diğer alloplastlarla kıyaslandığında daha fazla yeni atışman ve kemik dolumu sağlayabileceğini göstermiştir (120).

#### **3.2.1.3.6 Mineralize Kemik Grefti**

Mineralize kemik greftlerinin kemik greftlerine alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanıldığı bildirilmektedir (124, 125).

Mineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik greftleri, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon yolu ile kemik rejenerasyonunu gerçekleştirirler. Kortikal kemik daha fazla matriks içermesi ve daha az antijenik olması sebebiyle kansellöz kemiğe tercih edilir. Mineralize kemik greftlerinde, indüktif proteinler mineralize matriksin içinde hapsedildiği için yeni kemik oluşumunu sadece osteokondüktif yol ile uyarırlar, hücrel farklılaşmayı uyaramazlar (126, 127).

Mineralize kemik greftleri osteokondüktiftir; kemik gelişimini aktive etmez ancak yeni kemik oluşumu için iskelet görevi görür ve mezenşimal dokulara yerleştirildiklerinde rezorbe olarak yeni kemik ile yer değiştirir (128, 129).

Mineralize kemik greftlerinin diğer bir bireyden alınması, alıcının immun cevabını uyarma ve hastalık taşıma riskini gündeme getirmiştir (130). Allogreftlerin bu dezavantajını ortadan kaldırmak amacıyla solventlerle dehidrate edilen mineralize allogreftler organik matriks, mineralize komponent ve kollajen içerirler. Yapımı aşamasında trabeküler yapısının korunması demineralize kemik greftine göre daha fazla poröz ve yüzey alanı sağlar (131).

Mineralize kemikler sahip oldukları kompleks mimari nedeniyle virüsler için potansiyel rezervuar olarak görev yaparlar. Bu nedenle allojen mineralize kemik greftleri hazırlanırken delipidizasyon, osmotik kontras uygulaması, oksidasyon, dehidratasyon ve sterilizasyon işlemlerinden geçirilerek immunolojik yan etkileri ve virütik riskleri ortadan kaldırılır (132).

Mineralize kemik matriksi olarak sığır kortikal kemiğinden hazırlanmış tip I kemik kollajeni içeren preparatlar bulunmaktadır. Tip I sığır kemiği kollajeni tamamen rezorbe olan, doku uyumluluğu iyi, %100 biyolojik, steril bir materyaldir. Tip I kollajen kemik öncü hücreleri ve fibröz dokunun kemotaksisini

kolaylaştırır (133). Mineralize tip 1 kollajen, doğal kemik yapısına benzerliğinden ötürü özel bir önem taşımaktadır (134).

Kollajen, bir biyomateryal olarak kemik replasmanını başlatmak için kullanılabilir. Kemik rejenerasyonu için uygun ortamı sağlayacak şekilde, mineral depolanması, vasküler büyüme ve büyüme faktörlerinin bağlanması gibi görevleri görmektedir (135). Kemiğin kollajen lifleri aynı zamanda mineralizasyon için bir ortam sağlar ve kemiğe karakteristik fiziksel özelliklerini verirler (136). Kollajen kemik yapımı ve mineral depozisyonu için osteokondüktif özellik gösterir. Sadece mineral depozisyonu için yüzey alanı yapmakla kalmaz, nonkollajenöz matriks proteinlerini de bağlayarak indirekt yoldan mineralizasyonun düzenlenmesinde rol oynar. Kollajenler diş hekimliğinde kemik defektlerinin tedavisinde, hemostatik ajan olarak, sinir rejenerasyonlarında, rekonstrüktif cerrahi, yanıklar, abdominal ve vasküler cerrahi ile ortopedi gibi birçok alanda kullanılmıştır (99).

### **3.2.1.3.7 Demineralize Kemik Grefti (DBM)**

Demineralize kemik ilk kez 1889'un başlarında Senn tarafından köpeklerin kranium defektlerinde demineralize sığır tibiası uygulanması ile kullanılmıştır (137). 1965 yılında Urist kas içine uygulanan DBM'nin endokondral kemik oluşumunu sağladığını rapor etmiştir. Osteoindüksiyon teorisi Urist tarafından demineralize uzun kemik fragmanlarının subkutan bölgeye uygulanarak osteogenezisi stimüle ettiğinin ortaya konması ile gelişmiştir. Reddi ve Huggins, demineralize rat parietal kemiklerini ratların subkutan bölgelerine implante etmişler, 7-8. günlerde kırırdağın oluştuğunu, 18. günde kondrolizis ile kırırdağın oluştuğunu, 18-21. günlerde kemiğin görüldüğünü bildirmişlerdir (138). 1965

yılından günümüze dek değişik kemik defektlerinde DBM'nin etkinliğini gösteren birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır (139, 140).

DBM, ilk olarak Urist tarafından tarif edilen standardize edilmiş yöntem ile elde edilir. Bu yöntemde allojenik kemik uygun partikül büyüklüğüne gelinceye kadar ezilerek ve toz haline getirilir. Daha sonra üç saat süresince 0.5 N HCL'de bekletilerek demineralize edilir. Kemik partikülleri üzerinde kalan asit steril su, etanol ve etil eter ile durularak yok edilir. Demineralize kemik matriksinin elde edilme aşamalarında uygulanan işlemler arasında (demineralizasyon zamanı, asit uygulaması, ısı yağdan arındırıcı ajan uygulamaları, gama irradyasyonu ile veya etilen oksit ile sterilizasyon gibi) doku bankaları ve firmaları arasında farklılıklar bulunur. Demineralizasyon süreci boyunca yapılan işlemler kemiğin mineral içeriğini büyük ölçüde ortamdan uzaklaştırarak geride glikoproteinler ve protein yapıdaki molekülleri bırakır (141, 142). DBM bir bakıma kemiğin organik matriksinin serbestleştirilmiş halidir. DBM bünyesinde hücrelere etki edecek biyoaktif peptid yapılı molekülleri ve bu hücreler için çok stabil olmasa da osteokondüktif etki gösteren kollajen ve benzeri proteinleri içerir. Ancak DBM'nin kemik oluşumunu sağlayıcı esas etkisi, taşıdığı osteoindüktif komponentlerden kaynaklanmaktadır (137, 143). Kemiğin asitle demineralizasyonu sonrası kemik iliği elemanlarından temizlenip, antijenik özelliği ortadan kaldırılır (144, 145). Bu işlem aynı zamanda viral inaktivasyona da yol açıp hastalık riskini de azaltır (146). Demineralizasyon işlemiyle kan elemanları da etkin bir şekilde ortamdan uzaklaştırıldığından, demineralize edilmemiş kemiğe göre daha az immunojeniktir (147).

Demineralizasyon, kemik matriksinde bulunan osteoindüktif proteinleri açığa çıkararak bunların osteogeneziste rol oynamalarını sağlar. Osteoindüktif kapasitesi, ürünün saklanma şekli, kemiğin işlenmesi, sterilizasyon metodu ve donöre göre değişebilir (148).

DBM'nin %93'ü kollajenden oluşur, %5 oranında kollajen dışı proteinler içerir. Geri kalan %2'lik kısım ise rezidüel mineralize matrikstir (149, 150). Mevcut bilgilerde yaklaşık %2 düzeyinde kalsiyum içeren demineralize kemiğin yeni kemik formasyonunu oluşturmada optimal derecede osteoindüktif olduğu iddia edilmektedir. DBM osteoindüktif etkisini uygulandığı yerde yeni kemik formasyonunu, kemik mineralizasyonunu, osteoblast ve diğer bir kısım hücreleri stimüle ederek gösterir (99). DBM'de kemiğin osteoindüktif potansiyeli ekstrasellüler matrikste yer alan nonkollajenöz indükleyici proteinlerde gizlidir. Bu faktörler, implante edildikleri yerde endokondral kemikleşmeyi tetikleyerek görev yaparlar (126, 127). DBM içindeki rezidüel kalsiyum yüzdesinin, DBM'nin osteoindüktif potansiyeli için en önemli belirleyici olduğu belirtilmektedir. Demineralize kemik matriksi osteoindüktif olmasının yanında, yapısındaki kollajen sayesinde hızla revaskülarize olan, yapısal destek sağlayamayan ve orta derecede osteokondüktif potansiyeli olan bir greft materyalidir (151, 152).

DBM'nin indüklediği yeni kemik oluşumu başlıca endokondral yolla oluşur. DBM implantasyonundan hemen sonra ilk 18 saat içinde platelet agregasyonu, hematoma oluşumu ve enflamasyonla karakterize polimorfonükleer lökositlerin migrasyonu başlar (137, 153). Bundan sonra fibroblast benzeri mezenşimal hücreler, demineralize matriks üzerine yapışarak yakın bir ilişki içine girerler. DBM ve mezenşimal hücreler arasındaki bu etkileşim sonucunda

yaklaşık olarak implantasyonu takip eden 5 gün içinde kondrosit oluşumu ile sonuçlanan hücresel differansiasyon meydana gelir. Kondrositler ise daha sonra mineralize olacak kondroid matriksi üretirler. 10-12. günlerde vasküler invazyon ve buna eşlik eden osteoblastlar ve multinükleer hücreler ortamda görülürken, kondrositler dejenere olmaya başlar. Son olarak zamanla yeniden şekillenme devam ederek implante edilen DBM tamamen rezorbe olur ve yerini konağa ait kemiğe bırakır. İmplant edilen DBM ile oluşan yeni osteogenezisin devamlı ve başarılı olması için kollajen uygun çapraz bağlara sahip olmalı ve ortamda osteoindüktif proteinlerin de bulunmalıdır (154).

DBM'nin etki mekanizması aşağıdaki gibi özetlenebilmektedir:

1. Demineralize kemik partiküllerinin yüzeyi mezenşimal hücrelerle örtülür.
2. Mezenşimal hücrelerin kondroblastlara dönüştüğü bölgelerde kondrogenез oluşur.
3. Anjiogenez gelişir ve kırıkta içinde hipertrofi ve mineralizasyon başlar.
4. Osteoblastlar kemik ve kemik iliğini oluşturur.
5. Yeni kemik ve demineralize kemik partikülleri birbirine uyum sağlar ve yeniden şekillenme oluşur. DBM yoluyla kırıkta önce oluştuğu bu kemik oluşum mekanizması endokondral kemikleşme olarak tanımlanmaktadır (155).

Kortikal kemikten yapılan DBM'nin yeni kemik oluşumunu indüklediği, kansellöz kemikten yapılan DBM'nin ise yeni kemik oluşumunu yapamadığı görülmüştür. DBM'nin spesifik bir işlem sonucunda mineral ve kalsiyum içeriğinin ortadan kaldırılmasıyla, geride glikoproteinlerin ve kemik morfojenetik proteinlerin kaldığı kısma kortikal kemik tozu da denilebilmektedir (154).

DBM'nin kemik defektlerinde etkinliğini gösteren pek çok deneysel çalışma bulunmaktadır (156). ABD'de yılda ortalama 1.500.000 civarında gerçekleştirilen kemik greft uygulamasının %30'una yakınında DBM kullanılmaktadır (157).

DBM'nin partikül, jel, macun, flex ve fiber yaprak halindeki formları bulunmaktadır. Partikül halindeki DBM oteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri nedeniyle kullanışlı bir greft materyalidir. Bununla beraber özellikle kanamanın olduğu operasyon sahalarında migrasyona olan eğilimi, buna bağlı olarak defektin yetersiz rejenerasyonu ve greftin manüplasyonunda yaşanan güçlükler sebebiyle kullanımı kısıtlanmaktadır (6, 156). Demineralize kemik tozunun klinik uygulamalarındaki güçlükleri ortadan kaldırmak için yapılan çalışmalar sonucunda, partikülleri bir arada tutan bir taşıyıcı ajanın kullanıldığı demineralize kemik greftleri üretilmiştir. Taşıyıcı ajan olarak polimerler, gliserol, polimerik jeller ve kollajen kullanılmıştır. Kortikal kemikten elde edilen fibrillerin gevşek bir şekilde bir araya getirilmesi ile macun formu ve bu fibrillerin karıştırılarak ıslak halde bir araya getirilip yapıştırılması sonucu flex formu olmak üzere demineralize kemiğin iki formu daha üretilmiştir (6).

DBM'nin en büyük avantajı operasyon sırasında istenen miktarda kullanılabilmesi, cerrahi süresinin kısalması ve buna bağlı olarak kan kaybının azalmasıdır (158-161). Ayrıca DBM'nin hazırlanışının kolay olması ve uzun süre saklanabilmesi sebebiyle kemik grefti için ideal olduğu bilinmektedir (6).

DBM ile gerçekleşen osteoindüksiyonun, endokondral kemikleşme safhalarına paralel bir şekilde geliştiği bildirilmiştir (4). Ratsların subkutan dokularına allojenik demineralize kemik matriksi implante edildiğinde 3. günde

mezenşimal hücre proliferasyonu, 5. günde mezenşimal hücrelerin kondroblastlara farklılaşması, 7. günde kıkırdak oluşumu, 9. günde vasküler invazyon ve kıkırdak kalsifikasyonu, 10. ve 11. günlerde kemik oluşumu izlenmektedir. Primer kemik 12-18. günde yerini sekonder kemiğe bırakmaya başlamaktadır. Yirmi birinci günde ve sonrasında hematopoetik hücreler oluşmaktadır (158).

Güçlü osteokondüktif özellikler içeren DBM'nin uygulandığı bölgelerde osteojenik aktivasyonunun yüksek olduğunu ve osteogenezisi hızlandığını göstermektedir (158, 162). Kemik oluşturmayan dokulara uygulandığında greftlerin endokondral kemikleşmeyi uyardığı görülmüştür (18).

Kemik demineralizasyonu, mineral fazı ortadan kaldırılmış olduğu için daha biyouyumlu hale gelmiş olan kemik büyüme faktörlerini ortadan kaldırmamaktadır. Bu nedenle DBM standart mineralize allogreftlerden daha osteoindüktif olabilmektedir (83).

Bu çalışmada biyoaktif cam ile mineralize ve demineralize kemik matriksinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkileri incelenerek klinik, radyolojik ve histolojik olarak karşılaştırmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan materyaller arasından hangisinin kemik iyileşmesini daha fazla hızlandığı, daha güvenilir, daha kullanışlı ve daha kolay uygulanabilen bir materyal olduğunun tespiti yapılmış olup, sonuçların kemik grefti kullanımının zorunlu olduğu durumlarda greft seçimine yardımcı olması ve bu konuda gerçekleştirilecek çalışmalar için araştırmacılara yararlı bir kaynak oluşturulması hedeflenmiştir.

Kemik iyileşmesi üzerinde biyoaktif cam, mineralize kemik matriksi ve demineralize kemik matriksinin etkinliğinin birlikte incelendiği ve karşılaştırmasının yapıldığı literatürlere rastlanmamış olması nedeniyle "Deneysel

Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerinde Biyoaktif Cam İle Mineralize ve Demineralize Kemik Matriksinin Etkilerinin İncelenmesi” konusunun doktora çalışması olarak değerlendirilmesi uygun bulunmuştur.



## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapılan bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı'nın 17.09.2014 tarih, 2014/19 Toplantı Sayısı ve 177. numaralı karar ile "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" hükümleri yönünden uygun bulunarak onaylanmıştır. Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 1140711 proje numarası ile Hızlı Destek Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

### 4.1 Deneysel Hayvanlar ve Protokol Dizaynı

Çalışmada 14 adet 4-5 aylık erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edildi ve bakım ve beslenmeleri aynı merkezde gerçekleştirildi. Tavşanlar çalışma süresince 20-24 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde barındırılarak ad-libitum su ve standart tavşan yemi verildi. Tavşanlar rastgele ve her grupta 7 adet olacak şekilde 30 ve 60 günlük izleme süreleri olmak üzere 2 ana gruba ayrıldı. Tüm operasyonlar Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Küçük Hayvan Kliniği Operasyon Salonu'nda yapıldı. Radyografiler aynı merkezin Radyoloji Ünitesi'nde GMM (General Medikal Marete) G 800 rad 1000mA ve 40-150 kv cihazı ile yapıldı ve dijital olarak değerlendirildi.

## 4.2 Greft Materyalleri

Çalışmada biyoaktif camın (biyocam) macun formundaki (Novabone Bioactive Synthetic Graft, Novabone putty, MTF, USA) (Şekil 12A, Şekil 13A), mineralize kemik matriksi (MBM)'nin granül formundaki (Biohorizons, Laddec Dental Bone Graft, 500 mg) (Şekil 12B, Şekil 13B), demineralize kemik matriksi (DBM)'nin macun formundaki steril ticari preparatları (DBM putty, NBF-Netherlands Bone Bank Foundation, 1 cc) kullanıldı (Şekil 12C, Şekil 13C).



**Şekil 12.** Çalışmada kullanılan greft materyalleri. **A)** Biyoaktif cam (Novabone putty®), **B)** Mineralize kemik matriksi (Laddec®) ve **C)** Demineralize kemik matriksi (DBM putty, NBF-Netherlands Bone Bank Foundation).



**Şekil 13.** Çalışmada kullanılan greft materyalleri. **A)** Biyoaktif cam, **B)** Mineralize kemik matriksi ve **C)** Demineralize kemik matriksi.

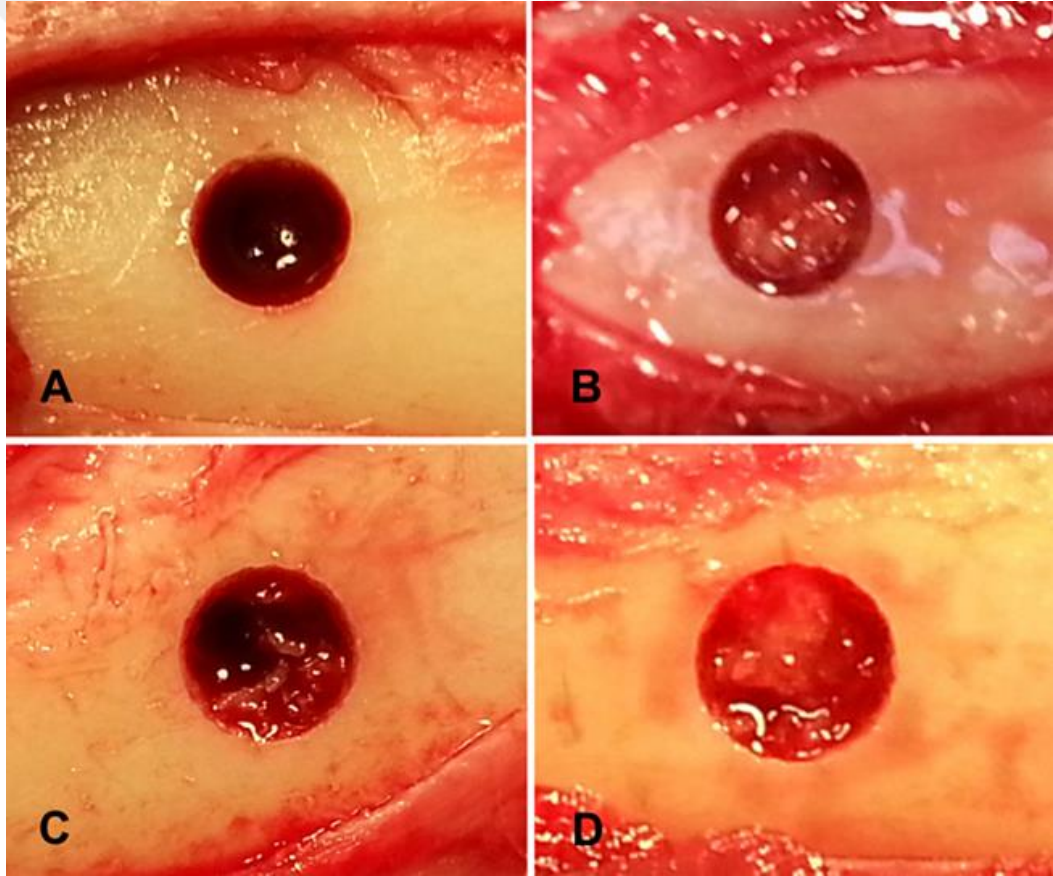
#### **4.3 Anestezi**

Anestezi 5 mg/kg Xylazine Hydrochloride (Rompun, Bayer, 23.32 mg/ml) kas içi enjeksiyonundan 10 dakika sonra, 35 mg/kg Ketamin Hydrochlorur'un (Ketalar, Parke-Davis, 50 mg/ml) kas içi enjeksiyonu ile gerçekleştirildi.

#### **4.4 Operatif Prosedür**

Operasyon yeri olarak seçilen sol ve sağ tibia'nın proksimal medial yüzlerinde, deri tıraş edilerek %10'luk povidon iodine solüsyonu ile antisepsisi gerçekleştirildi. Tibia'nın medial yüzü üzerinde subkutan fascia ile derinin longitudinal ensizyonu ve kasların küt diseksiyonu sonrasında tibia açığa çıkarıldı. İşlem sırasında bölgedeki damar ve sinirlerin korunmasına dikkat edildi. Periosteum ekarte edildikten sonra, 3.5 mm çapındaki frezler ve tur motoru (mikromotor) yardımıyla aralarında 1 cm mesafe olacak şekilde 3.5 mm çapında medullar kanala ulaşan ikisi sağ ikisi sol tibia'da toplam 4 adet unikortikal defekt

oluşturuldu. Defektler oluşturulurken bölge sürekli olarak steril serum fizyolojik ile ıslatılıp kemikteki aşırı ısınma engellenerek olası bir kemik nekrozunun önüne geçilmeye çalışıldı. Aynı işlemler tüm tavşanlara uygulandı. Böylece her tavşanda 4 adet olmak üzere toplam 56 adet kemik defekti elde edildi. Her bir tavşandaki defektlerden biri boş bırakılırken (kontrol grubu), (şekil 14A) diğer defektler ise sırasıyla biyoaktif cam (şekil 14B), mineralize (şekil 14C) ve demineralize kemik matriksi (şekil 14D) ile dolduruldu. İzleme süreleri ve uygulandıkları gruplara göre defekt sayıları Tablo 4'te verilmiştir.



**şekil 14.** Operasyon sonrası kemik defektlerinin görünümü. **A)** Kontrol defekti, **B)** Biyoaktif cam, **C)** Mineralize kemik matriksi ve **D)** Demineralize kemik matriksi uygulanan defektler.

**Tablo 4.** İzleme süreleri ve uygulandıkları gruplara göre defekt sayıları.

Gruplar	Postoperatif izleme süreleri		Toplam
	30 Gün	60 Gün	
1 Kontrol	7	7	14
2 Biyoaktif cam	7	7	14
3 Mineralize kemik matriksi	7	7	14
4 Demineralize kemik matriksi	7	7	14
<b>Toplam</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>56</b>

Operasyon bölgesinde periost ve deri 3/0 numara vicryl kullanılarak kapatıldı. Tüm deneklere postoperatif 5 gün süreyle 400.000 IU prokain penisilin kas içi uygulandı. Operasyon yaralarının pansumanları her gün kontrol edilerek gerekli yara bakımları gerçekleştirildi.

#### **4.5 Klinik Muayeneler**

Tavşanların anesteziden uyanması, operasyon yaralarının günlük bakımları yapılırken ve ayrıca postoperatif 10. günde deri dikişleri alınırken gözlenen operasyon yaralarının durumu ve topallıkla ilgili gözlemler kayıt altına alındı.

#### **4.6 Radyolojik Muayeneler**

Radyolojik muayene ve değerlendirmeler operasyon sonrası, 15, 30, 45 ve 60. günlerde postoperatif ilgili tibiaların medio-lateral olarak alınan radyografileri üzerinde gerçekleştirildi.

Alınan radyografiler modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skora göre değerlendirildi (163). Bu yöntemle radyolojik olarak kemik formasyonunun yokluğu veya oluşturulan kemik defektinin %25, %50, %75 veya %100'ünün kemik formasyonu ile doldurulup doldurulmadığına bakıldı (Tablo 5).

**Tablo 5.** Modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skorlama kriterleri (163).

Defektteki Yeni Kemik Oluşumu (%)	Skor
Yok	0
25	1
50	2
75	3
100	4

#### 4.7 Histolojik Muayeneler

Postoperatif 30 ve 60 günlük izleme sürelerini dolduran tavşanlardan 7 adedi 30. günde, kalan 7 adedi ise 60. günde 5 mg/kg Xylazine Hydrochloride (Rompun, Bayer, 23.32 mg/ml) enjeksiyonundan 10 dakika sonra 200 mg/kg dozunda Thiopental Sodium (Pental Sodyum 0.5 g İ.E. ULUGAY, İstanbul) intraperitoneal olarak uygulanarak sakrifiye edildi.

Sakrifiye edilen tavşanların greft bölgelerini içeren kemik bölümü histolojik kontroller için alındı. Toplanan materyaller makroskopik muayene sonrasında histolojik muayeneler için %10'luk tamponlu formalin solüsyonuna konularak 10 gün süreyle tespit edildi. Greft bölgesini içeren kemik örnekleri 12 hafta boyunca %10'luk Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) solüsyonunda dekalsifiye edildi. Solüsyon her hafta değiştirilerek kemik örneklerinde dekalsifikasyon kontrol edildi. Esneklik kazanan örnekler defekt bölgesi boyunca ikiye ayrılarak küçültme işlemi gerçekleştirildi. Bu sürenin sonunda 24 saat süre ile yıkamanın ardından doku örnekleri klasik işlemlerden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan 5 mm kalınlığında alınan kesitler lamlara alındı. Kesitler Hematoxylin-Eosin, Masson's Trichrome (164) yöntemlerine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Defektlerde oluşan kemik iyileşmesi ile ilgili histolojik skorlama parametreleri Tablo 6'da verilmiştir.

**Tablo 6.** Defektlerdeki kemik iyileşmesinin histolojik skorum parametreleri (165).

<b>Parametre</b>	<b>Skor</b>
Yalnız fibröz doku	1
Çok miktarda fibröz az miktarda kıkırdak doku	2
Baskın kıkırdak doku az miktarda fibröz doku	3
Baskın kıkırdak ve az miktarda trabeküler kemik doku	4
Eşit miktarda immatür kemik ve kıkırdak doku	5
Baskın trabeküler kemik ve az miktarda kıkırdak	6
Kompakt kemik doku	7

#### **4.8 İstatistiksel Değerlendirme**

Radyolojik muayene verileri ve histolojik skorlamaların istatistik değerlendirmelerinde SPSS (22.0 versiyonu) programı kullanıldı.

Aynı hayvan üzerindeki kontrol, biyoaktif cam, MBM ve DBM grupları arasındaki karşılaştırmalar 30. günde non-parametrik Kruskal-WallisH testi ile, grup içi karşılaştırmalar Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. 60. gündeki gruplar arasındaki karşılaştırmalarda da yine aynı testler kullanıldı.

Farklı hayvanlar üzerindeki her bir grubun 30. ve 60. günde grup içi karşılaştırmaları ise non-parametrik Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. Veriler  $\pm$  SEM değeri olarak sunuldu.  $P < 0.05$  değeri önemli olarak kabul edildi.

## **5. BULGULAR**

### **5.1 Greft Materyallerine Ait Bulgular**

Steril paketlenmiş ticari preperat halindeki macun formundaki biyoaktif cam ve DBM'nin açık kemik renginde ve macun kıvamında olduğu belirlenirken (Şekil 13A, Şekil 13C), granül formundaki MBM'nin açık kemik renginde (beyaza yakın renkte) olduğu belirlendi (Şekil 13B).

### **5.2 Klinik Bulgular**

Operasyonların gerçekleştirilmesi ve tavşanların anesteziden uyanması esnasında herhangi bir komplikasyon gözlenmedi. Greft materyallerinin defektlere yerleştirilme işlemleri kolaylıkla gerçekleştirildi. Operasyon yaralarının günlük bakımları ve temizliği yapılarak pansumanla kapatıldı. Postoperatif 10. günde deri dikişleri alınan tavşanların operasyon yaralarının komplikasyonsuz iyileştiği gözlemlendi. Altları kalın talaş ile kaplı beton yer ünitelerinde barındırılan deneklerin operasyondan sonraki ilk 2 haftada zamanla azalan hafif topallıklarının bulunduğu, bu süre sonunda ise normal olarak yürüdükleri görüldü.

### **5.3 Radyolojik Bulgular**

Operasyon sonrasında, 15, 30, 45 ve 60. günlerde alınan radyograflerin dijital incelenmesinden elde edilen bulgular değerlendirildi.

### 5.3.1 Postoperatif Radyolojik Bulgular

Bütün gruplarda oluşturulan defektler belirgindi. Biyoaktif cam, MBM ve DBM uygulama bölgelerinde greftler belirgin, ancak normal kemik dansitesinden daha az yoğun kontrastta olduğu tespit edildi (Şekil 15).



**Şekil 15.** Postoperatif radyografik görünüm. **L)** Sol proksimal defekt biyoaktif cam, sol distal defekt kontrol grubu, **R)** Sağ proksimal defekt MBM, sağ distal defekt DBM grubu.

### 5.3.2 Postoperatif Onbeşinci Gündeki Radyolojik Bulgular

Onbeşinci günde alınan radyografilerden elde edilen bulgular, postoperatif ilk radyografik bulgular ile benzerlik göstermekteydi (Şekil 16).



**Şekil 16.** Postoperatif 15. gündeki radyografik görünüm. **L)** Sol proksimal defekt biyoaktif cam, sol distal defekt kontrol grubu, **R)** Sağ proksimal defekt MBM, sağ distal defekt DBM grubu.

### 5.3.3 Postoperatif Otuzuncu Gündeki Radyolojik Bulgular

Yeni kemik oluşumu 30. günde kontrol grubunda %25, MBM grubunda %25-50, DBM grubunda yaklaşık %50, biyoaktif cam grubunda ise %50-75 olarak belirlendi (Şekil 17).



**Şekil 17.** Postoperatif 30. gündeki radyografik görünüm. **L)** Sol proksimal defekt biyoaktif cam, sol distal defekt kontrol grubu, **R)** Sağ proksimal defekt MBM, sağ distal defekt DBM grubu.

### 5.3.4 Postoperatif Kırkbeşinci Gündeki Radyolojik Bulgular

Yeni kemik oluşumu 45. günde kontrol grubunda %25-50, MBM grubunda %50, DBM grubunda %50-75 biyoaktif cam grubunda ise %75-100 olarak belirlendi (Şekil 18).



**Şekil 18.** Postoperatif 45. gündeki radyografik görünüm. **L)** Sol proksimal defekt biyoaktif cam, sol distal defekt kontrol grubu, **R)** Sağ proksimal defekt MBM, sağ distal defekt DBM grubu.

### 5.3.5 Postoperatif Altmışınıcı Gündeki Radyolojik Bulgular

Yeni kemik oluşumunun kontrol grubunda %50'sini, MBM grubunda ise %50-75'ini doldurduğu gözlemlendi. DBM grubunda defekt bölgesinin dansitesindeki artışla birlikte oluşan kemik formasyonu defektlerin %75'ini doldurmaktaydı. Biyoaktif cam grubunda greft materyallerinin yer yer belirgin olduğu, oluşan yeni kemik formasyonunun defektlerin yaklaşık olarak %100'üne yakınıni doldurduğu, defekt bölgesinin radyodens bir kontrastta olup normal kemik dansitesine yaklaştığı belirlendi (Şekil 19).



**Şekil 19.** Postoperatif 60. gündeki radyografik görünüm. **L)** Sol proksimal defekt biyoaktif cam, sol distal defekt kontrol grubu, **R)** Sağ proksimal defekt MBM, sağ distal defekt DBM grubu.

Radyolojik değerlendirmeler için 30. ve 60. günlerde gerçekleştirilen sakrifikasyon işleminden hemen önce alınan radyografiler kullanıldı. Olgulara ait 30. ve 60. günlerdeki radyolojik değerlendirmeler Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Modifiye Lane ve Sandhu skorlama kriterlerine (163) göre defektlerin 30. ve 60. günlerdeki radyolojik değerlendirmeleri.

Gün	n	Kontrol	Biyoaktif cam	MBM	DBM	P
30. gün	7	1.00±0.21 <sup>c</sup>	2.42±0.20 <sup>a</sup>	1.28±0.18 <sup>c</sup>	1.85±0.14 <sup>b</sup>	0.001
60. gün	7	2.00±0.21 <sup>b</sup>	3.57±0.20 <sup>a</sup>	2.28±0.18 <sup>b</sup>	2.57±0.20 <sup>b</sup>	0.002
<b>P</b>		0.010	0.006	0.006	0.019	

<sup>a,b,c</sup> Aynı satırdaki gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

MBM: Mineralize kemik matriksi

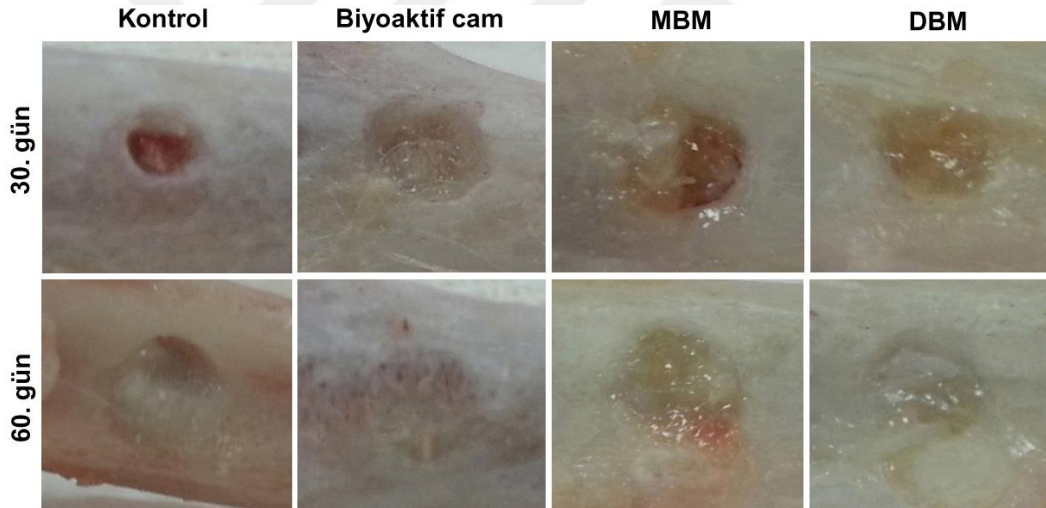
DBM: Demineralize kemik matriksi

#### 5.4 Makroskobik Bulgular

Otuz günlük süre sonunda kontrol grubu ve MBM grubunda defektlerin tam olarak kapanmadığı görüldü. DBM grubunda defektlerin yeni kemik oluşumu ile dolmaya başladığı ancak bazı defektlerin merkezlerinde küçük boşlukların

bulunduğu gözlemlendi. Biyoaktif cam kullanılan defektler yeni kemik oluşumu ile dolarken, bazı olgularda defektlerin izleri gözleniyordu (Şekil 20).

Altmış günlük süre sonunda ise kontrol ve MBM gruplarında defektlerin çaplarında azalma olduğu ancak tam olarak yeni kemik oluşumu ile doldurulmadığı belirlendi. DBM grubundaki üç adet defekt yeni kemik oluşumu ile tamamen dolarken, diğer defektlerin merkezinde ise yaklaşık olarak 1 mm çapında boşluk bulunduğu gözlemlendi. Biyoaktif cam kullanılan defektlerin yeni kemik oluşumu ile tamamen doldurulduğu, ancak bazı defekt izlerinin hala belirlenebildiği dikkati çekti (Şekil 20).



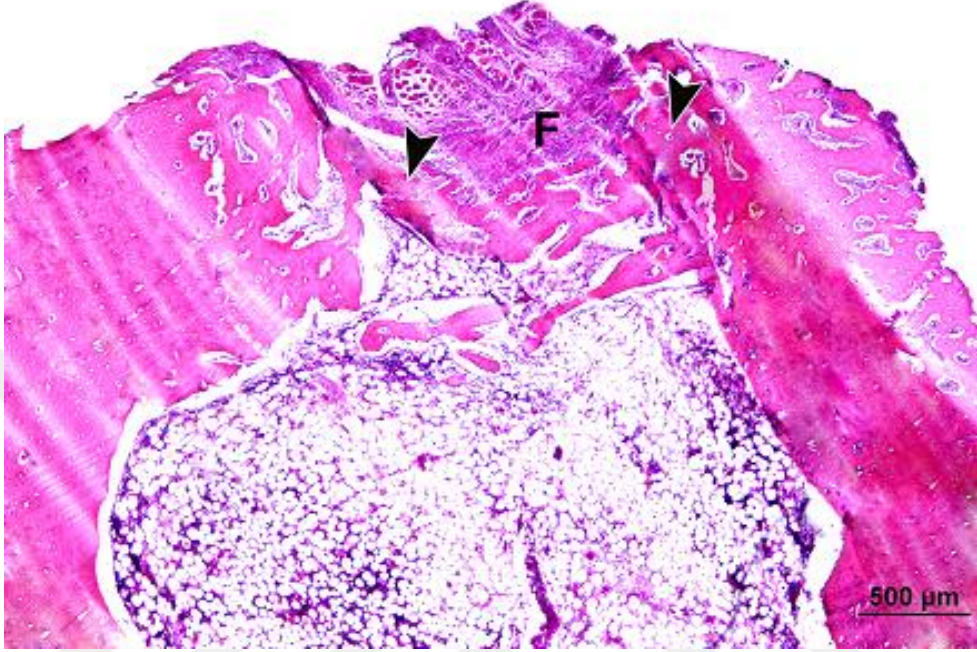
**Şekil 20.** Defektlerin postoperatif 30. ve 60. günlerdeki makroskopik görünüşleri. MBM: Mineralize kemik matriksi, DBM: Demineralize kemik matriksi

## 5.5 Histolojik Bulgular

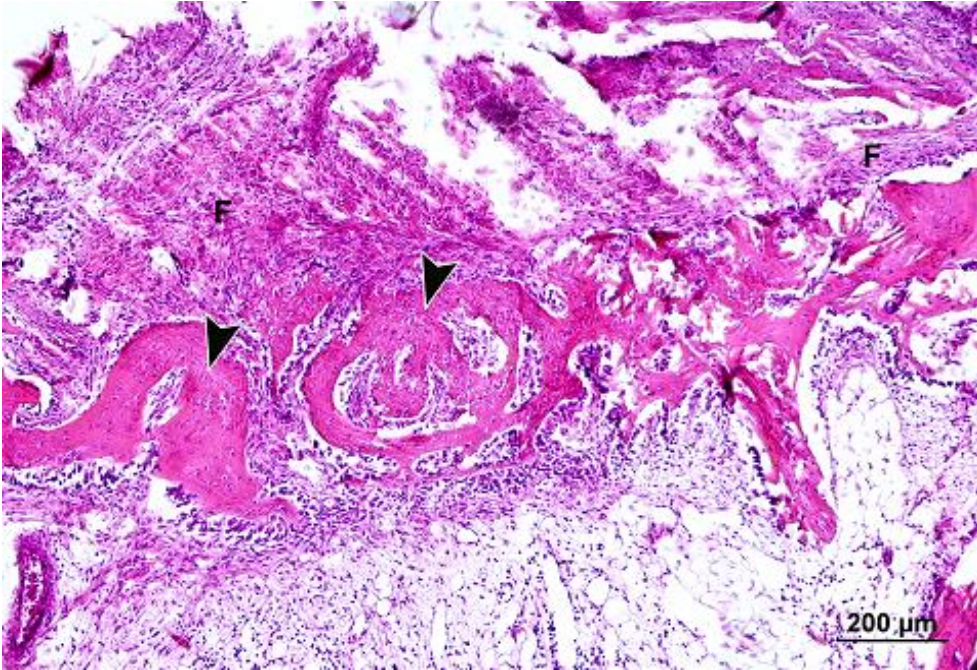
### 5.5.1 Otuz Günlük Gruplardaki Histolojik Bulgular

Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin fibröz doku ile tam olarak kapandığı belirlendi (Şekil 21). Bir kaç hayvanda ise fibröz kallus ile birlikte defekt kenarlarına komşu kısımlarda daha belirgin olmak üzere kırık dokusu

oluşumlarının bulunduğu gözlemlendi. Kıkırdak doku etrafında çok az miktarda spiküler tarzda kemik doku ve etrafında sıralanmış osteoblastların varlığı dikkati çekti (Şekil 22).

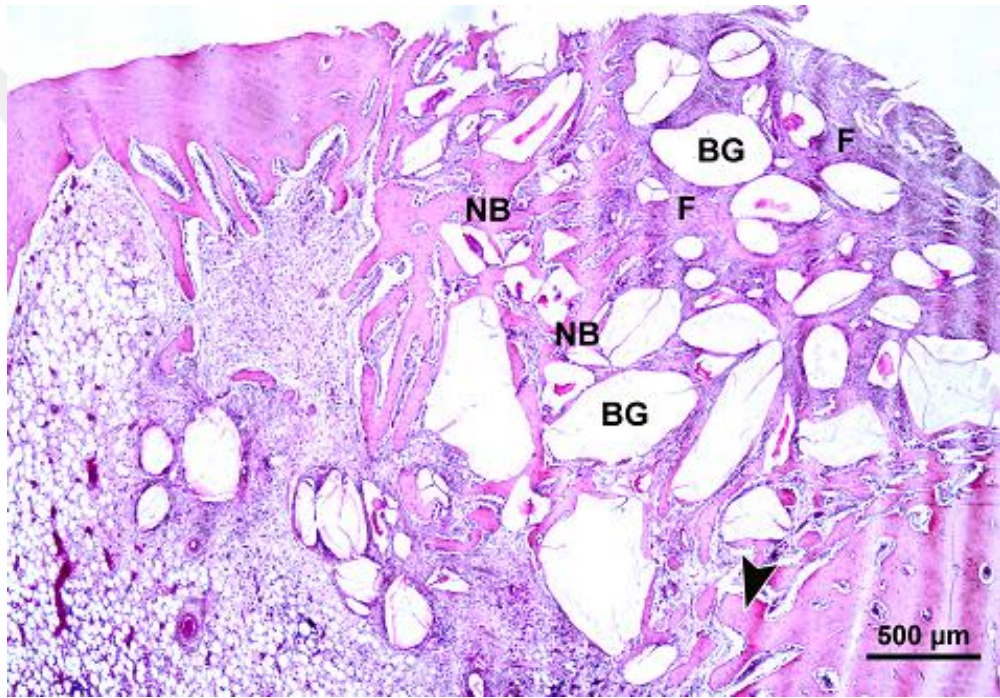


**Şekil 21.** Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. Ok başları: Kıkırdak doku, F: Fibröz doku, HE x 4.

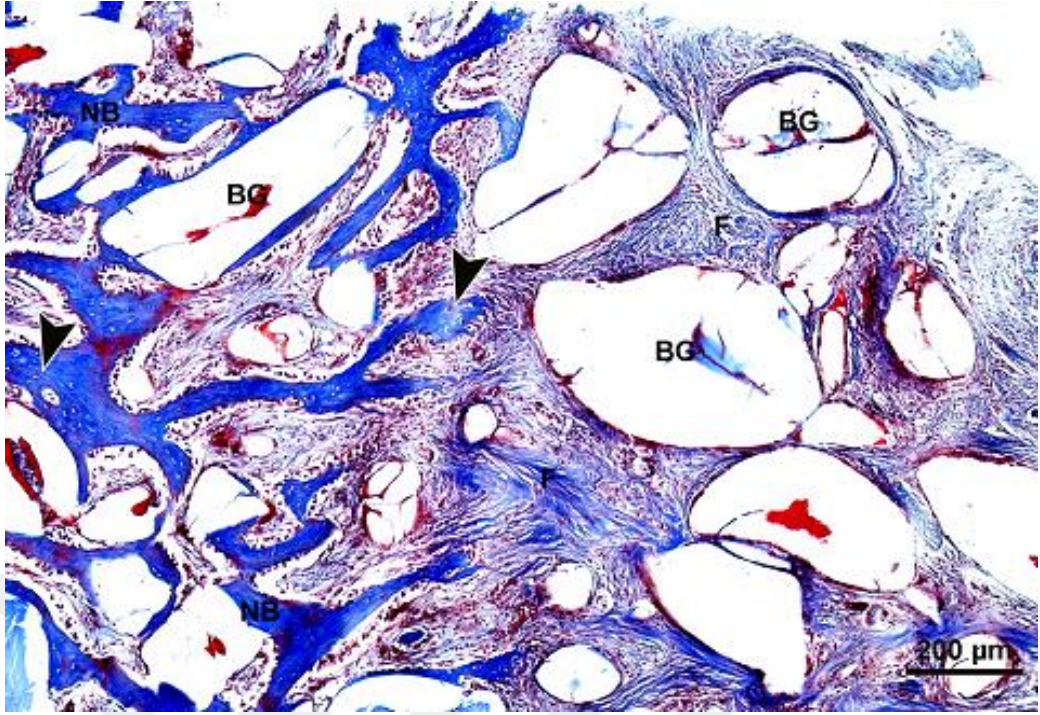


**Şekil 22.** Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. Ok başları: Kıkırdak doku, F: Fibröz doku, HE x 10.

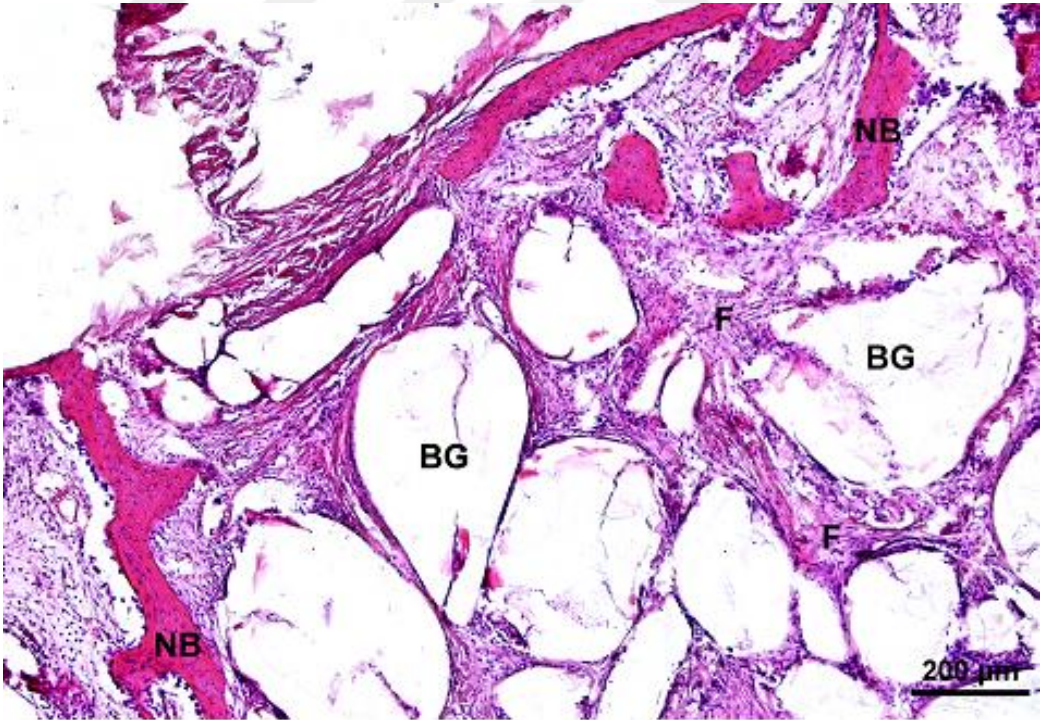
Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin fibröz kallus ile tam olarak kapandığı dikkati çekti. Greft materyaline karşı gelişen hücresel reaksiyonun hemen hemen hiç oluşmadığı saptandı (Şekil 23). Fibröz kallusa ek olarak greft materyalleri çevresinde şekillenmiş kıkırdak ve trabeküler tarzda yeni kemik doku oluşumlarına rastlandı (Şekil 24). Bu kemik oluşumlarının etrafında çok sayıda osteoblastik hücrelerin yer aldığı gözlemlendi. Ancak belirgin bir greft rezorpsiyonuna rastlanmadı (Şekil 25).



**Şekil 23.** Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, Ok başı: Kıkırdak doku, F: Fibröz doku, NB: Yeni kemik, HE x 4.

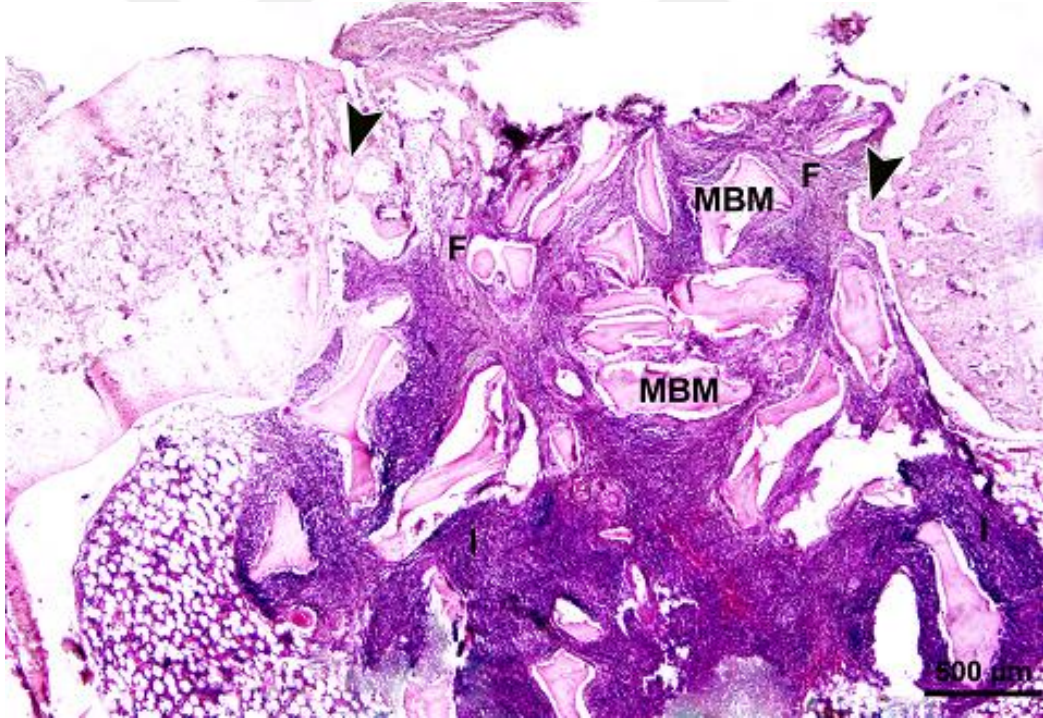


**Şekil 24.** Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, MTC x 10.

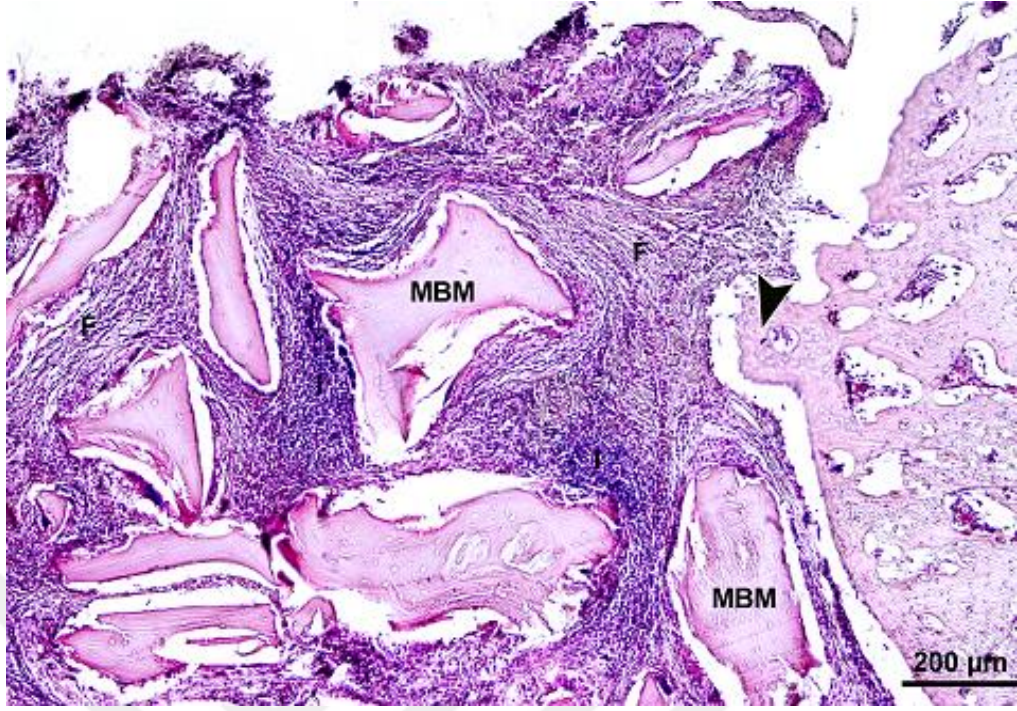


**Şekil 25.** Biyoaktif cam grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, F: Fibröz doku, NB: Yeni kemik, HE x 10.

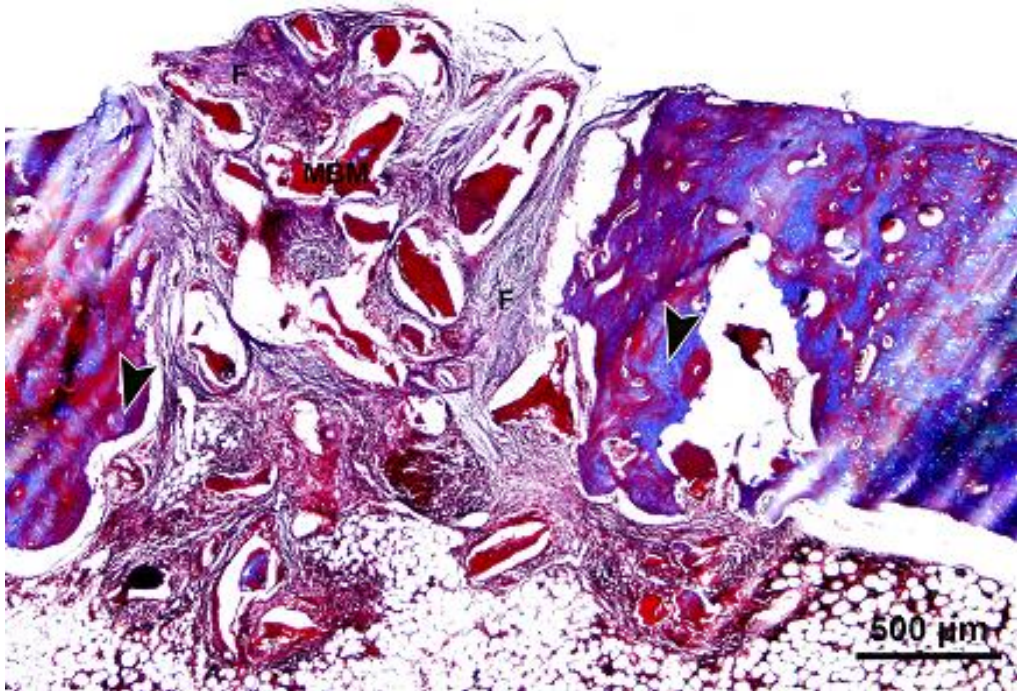
MBM grubunda 30. günde defektin sadece fibröz kallus ile doldurulduğu bu doku içerisinde DBM grubuna göre daha şiddetli lenfosit ve makrofajlardan oluşan hücresel reaksiyonun meydana geldiği, MBM parçacıkları etrafında henüz kıkırdak veya yeni kemik doku oluşumlarının başlamadığı dikkati çekti (Şekil 26). Kemik iliğinde hemoraji baskın olan diğer bir değişimdi. MBM parçacıklarına karşı osteoklastik aktivitenin hiç başlamadığı ve materyal rezorpsiyonun oluşmadığı belirlendi. Hafif düzeydeki yeni kemik doku oluşumlarına defekt sınırındaki kompakt kemik bölgesinde rastlandı (Şekil 27). Greft materyalleri etrafında zayıf reaksiyon gösteren vazkularizasyonu kötü ve fibroblastlardan fakir bağ doku oluşumları mevcuttu (Şekil 28).



**Şekil 26.** MBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. MBM: Mineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, I: Hücresel reaksiyon, HE x 4.

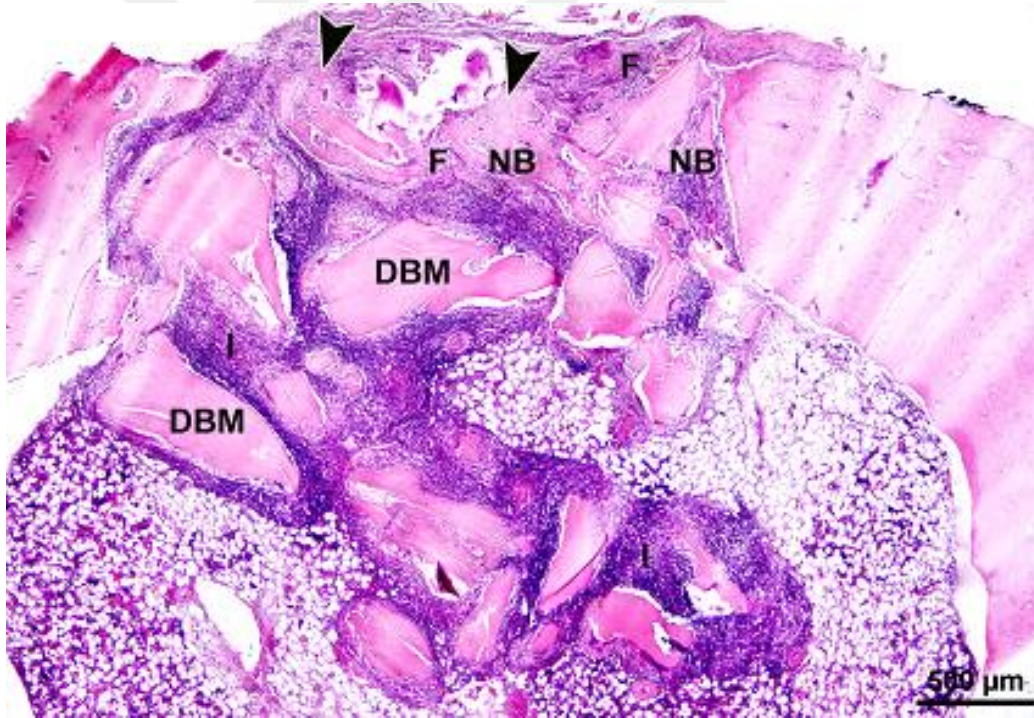


**Şekil 27.** MBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. MBM: Mineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başı: Kıkırdak doku, I: Hüresel reaksiyon, HE x 10.

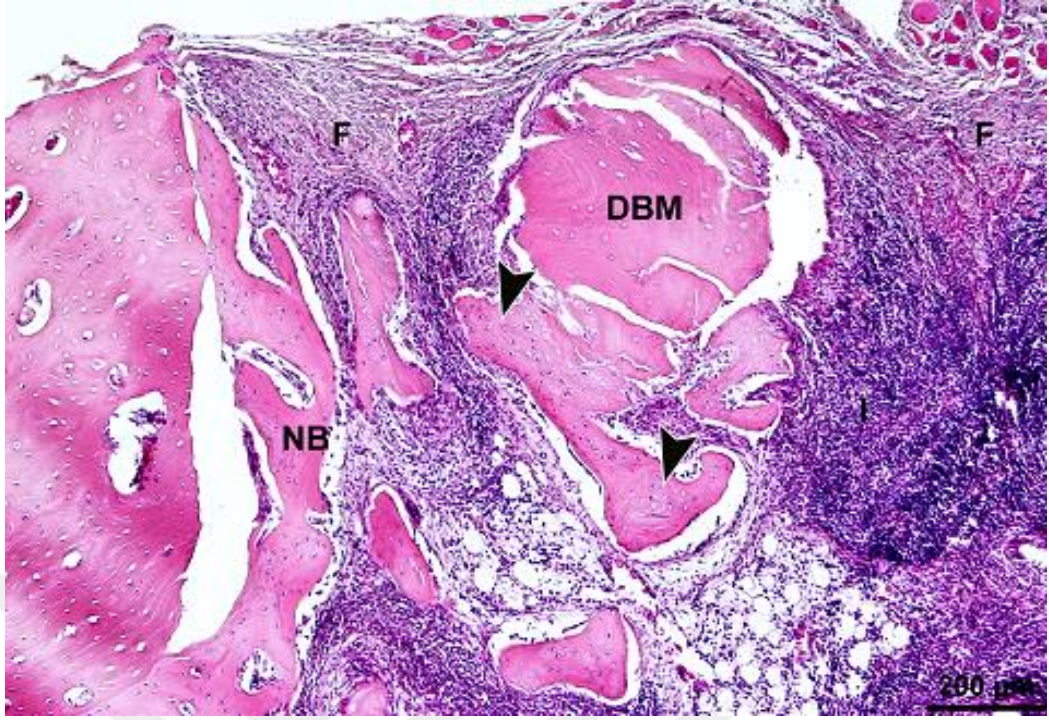


**Şekil 28.** MBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. MBM: Mineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, MTC x 4.

DBM grubunda 30. günde defekt alanlarının fibröz kallus ile doldurulduğu ek olarak bu doku içerisinde damar gelişimini izleyen kıkırdak ve çok az düzeyde yeni kemik doku oluşumlarının başlamış olduğu gözlemlendi (Şekil 29). DBM parçacıklarına karşı osteoklastik aktivitenin hafif şiddette şekillendiği ve 30 günlük biyoaktif cam ve MBM gruplarına benzer şekilde bu grupta da materyal rezorpsiyonun oluşmadığı belirlendi. Kemik iliğinde greft materyaline karşı şiddetli derecede lenfosit ve makrofajlardan oluşan hücresel yanıtın şekillendiği dikkati çekti (Şekil 30). Kemik iliğinde hemoraji baskın olan diğer bir değişimdi. Defekt sınırındaki eski kemiğe komşu alanlarda da yeni trabeküler kemik oluşumları izlendi (Şekil 31).



**Şekil 29.** DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. DBM: Demineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, HE x 4.



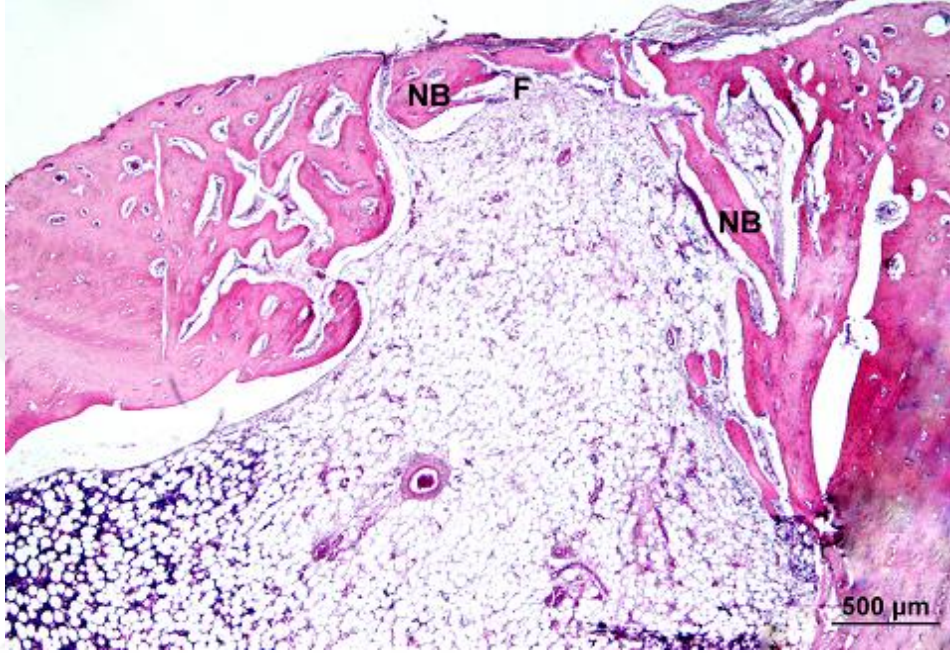
**Şekil 30.** DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. DBM: Demineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, HE x 10.



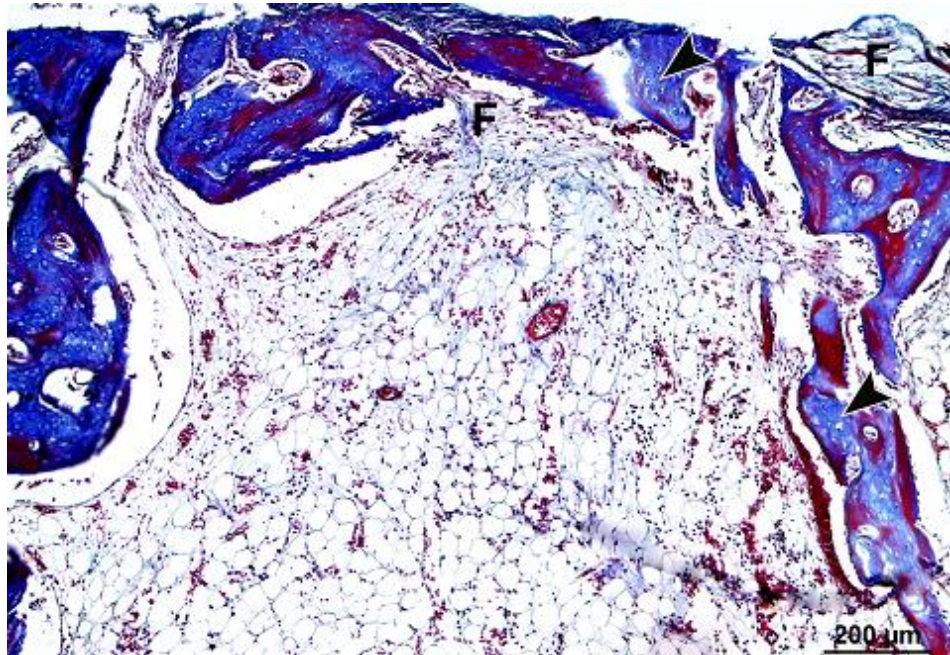
**Şekil 31.** DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. DBM: Demineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, MTC x 10.

### 5.5.2 Altmış Günlük Gruplardaki Histolojik Bulgular

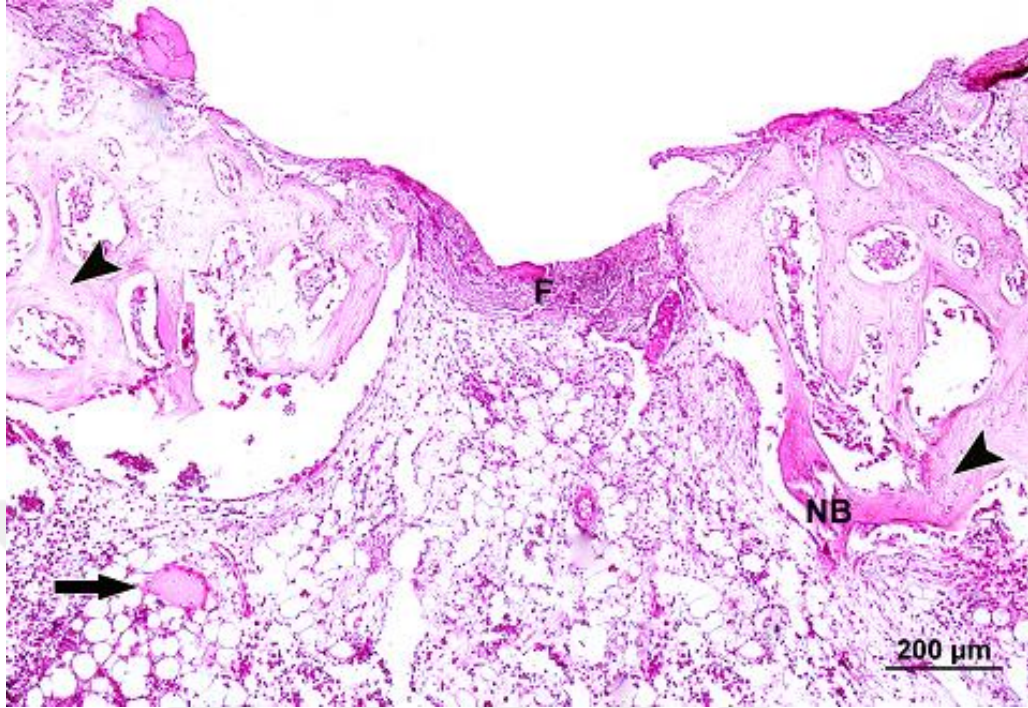
Kontrol grubunda 60. günde defekt yüzeylerinin ince trabeküler tarzda kemik doku ile doldurulmuş olduğu gözlemlendi (Şekil 32, 33). Bazı örneklerde ise hala fibröz dokunun bulunduğu alanlar dikkati çekti (Şekil 34).



Şekil 32. Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. F: Fibröz doku, NB: Yeni kemik dokusu, HE x 4.

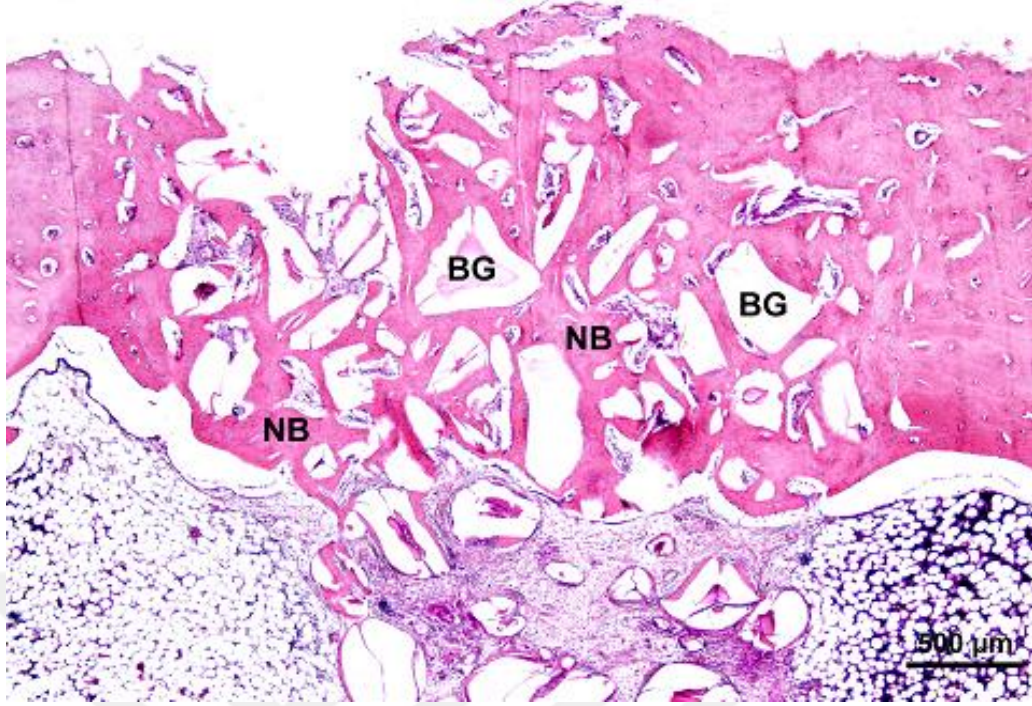


Şekil 33. Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, MTC x 10.

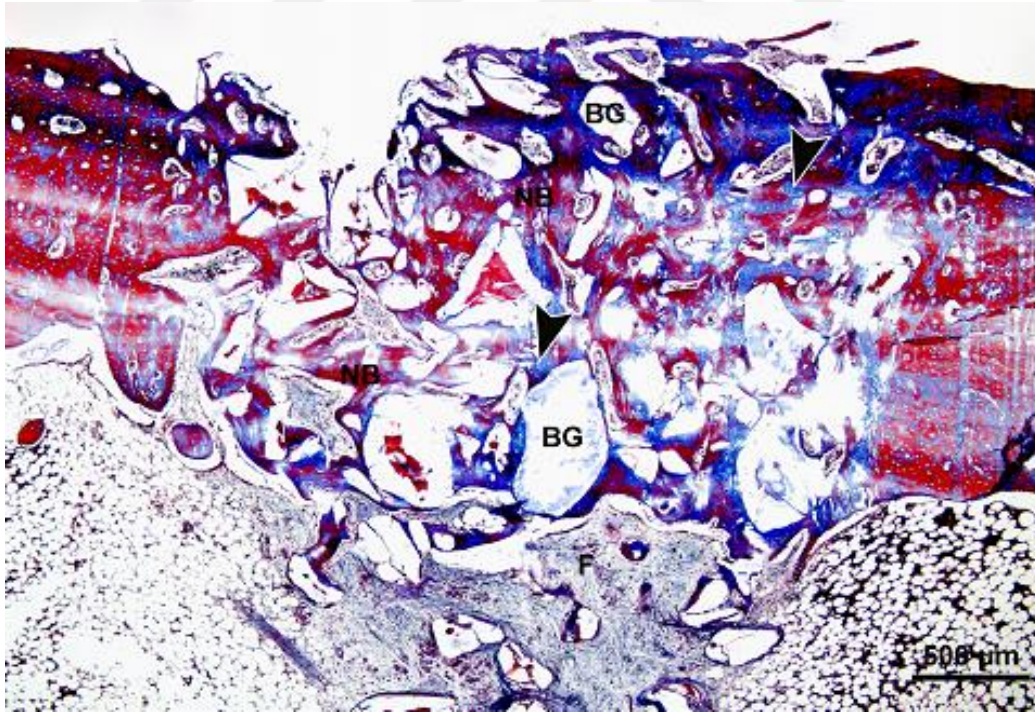


**Şekil 34.** Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, Ok: Osteoklast, HE x 10.

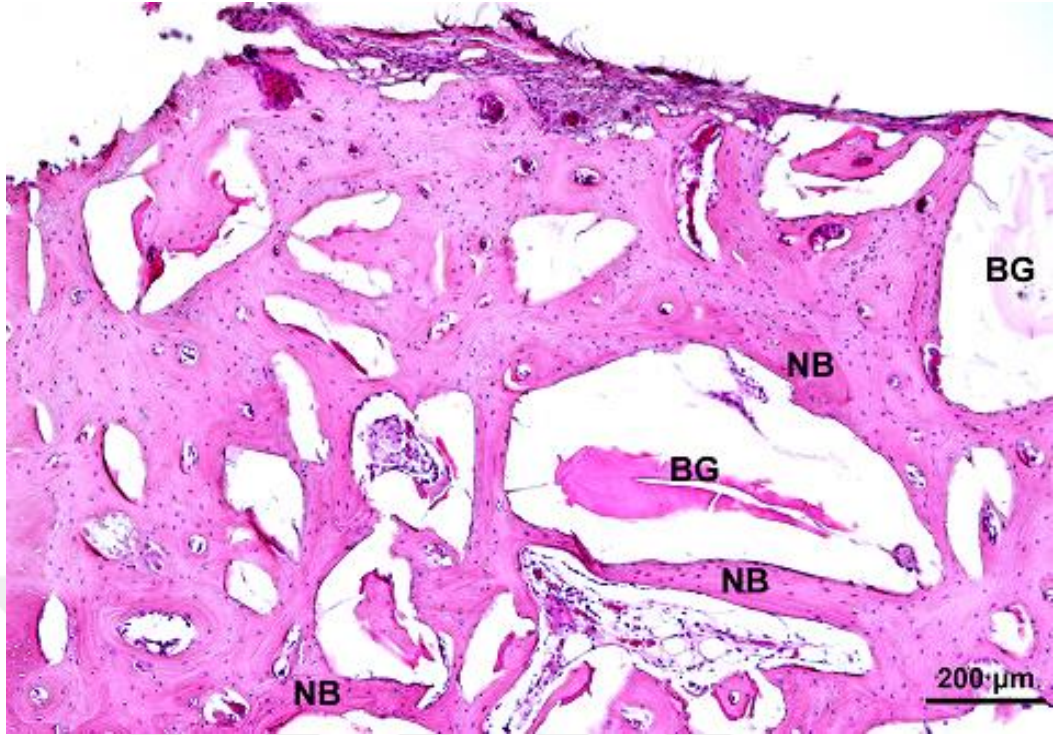
Biyoaktif cam grubunda 60. günde tüm hayvanlarda defekt bölgelerinin büyük oranda trabeküler yeni kemik doku ile doldurulduğu gözlemlendi. Biyoaktif cam materyali çevresinde başlamış olan kuvvetli primer kemik doku oluşumlarının yer yer birleştiği, etrafında osteoblastik aktivitenin belirgin olduğu dikkati çekti (Şekil 35, Şekil 36). Yeni oluşan kemik doku içerisinde Havers kanallarının oluşmaya başladığı tespit edildi. Kemik iliğinde ve defekt bölgesindeki greft materyali rezorpsiyonunun çok az düzeyde olduğu, osteoklast hücrelerinin bulunmadığı ve kompakt bir kemik oluşumunun meydana gelmediği saptandı (Şekil 37).



**Şekil 35.** Biyoaktif cam grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, NB: Yeni kemik, HE x 4.

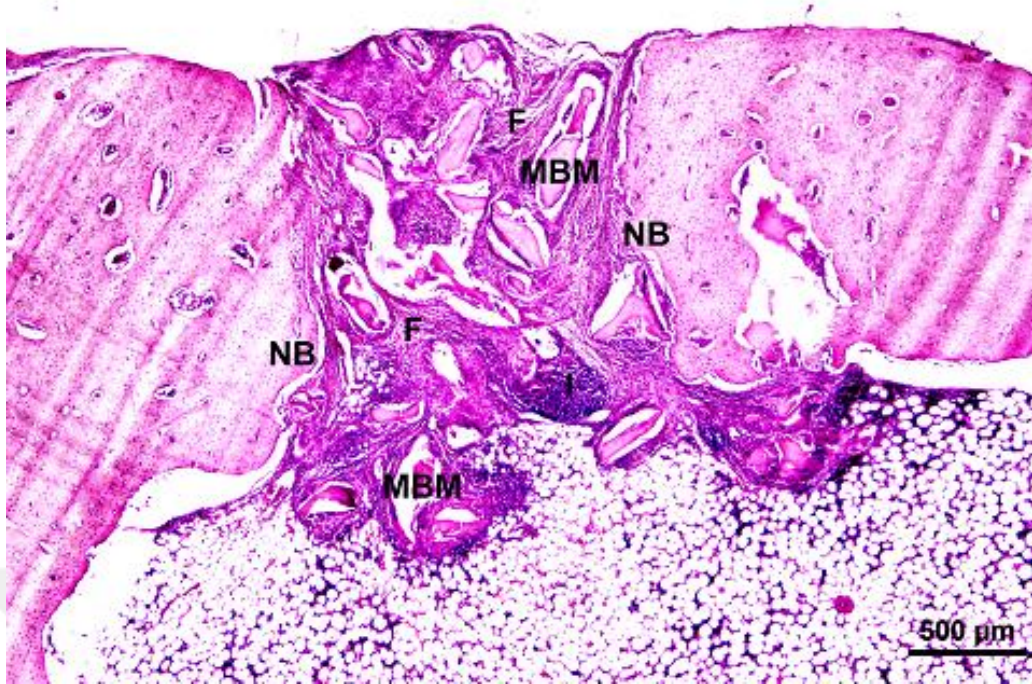


**Şekil 36.** Biyoaktif cam grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, Ok başları: Kıkırdak doku, F: Kemik iliğinde fibrozis, NB: Yeni kemik, MTC x 4.

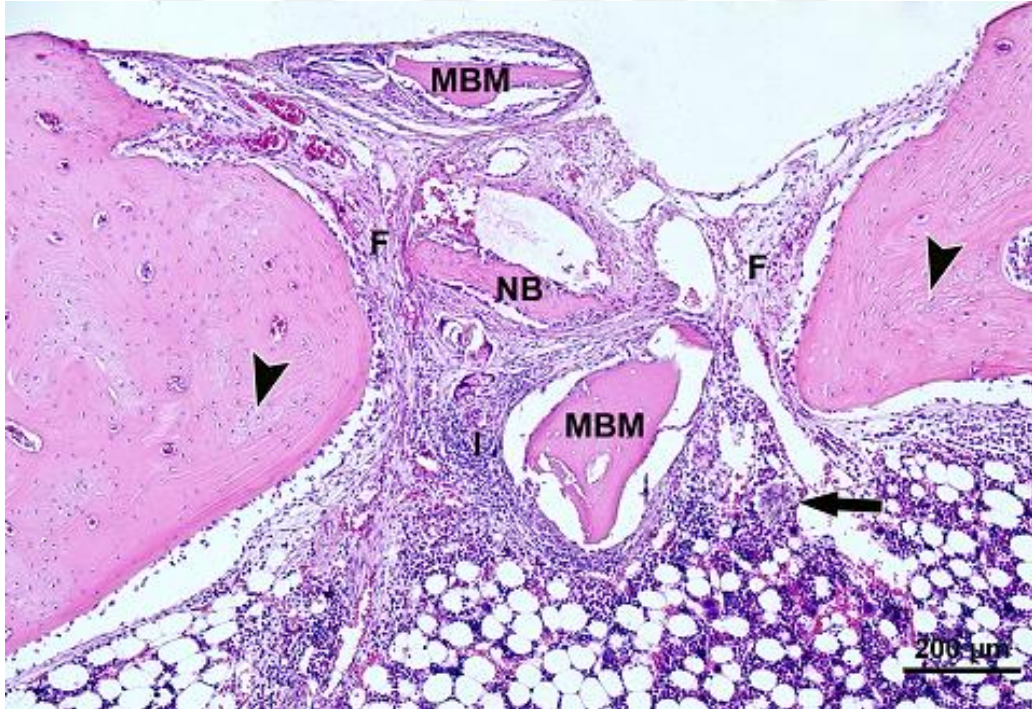


**Şekil 37.** Biyoaktif cam grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, NB: Yeni kemik, HE x 10.

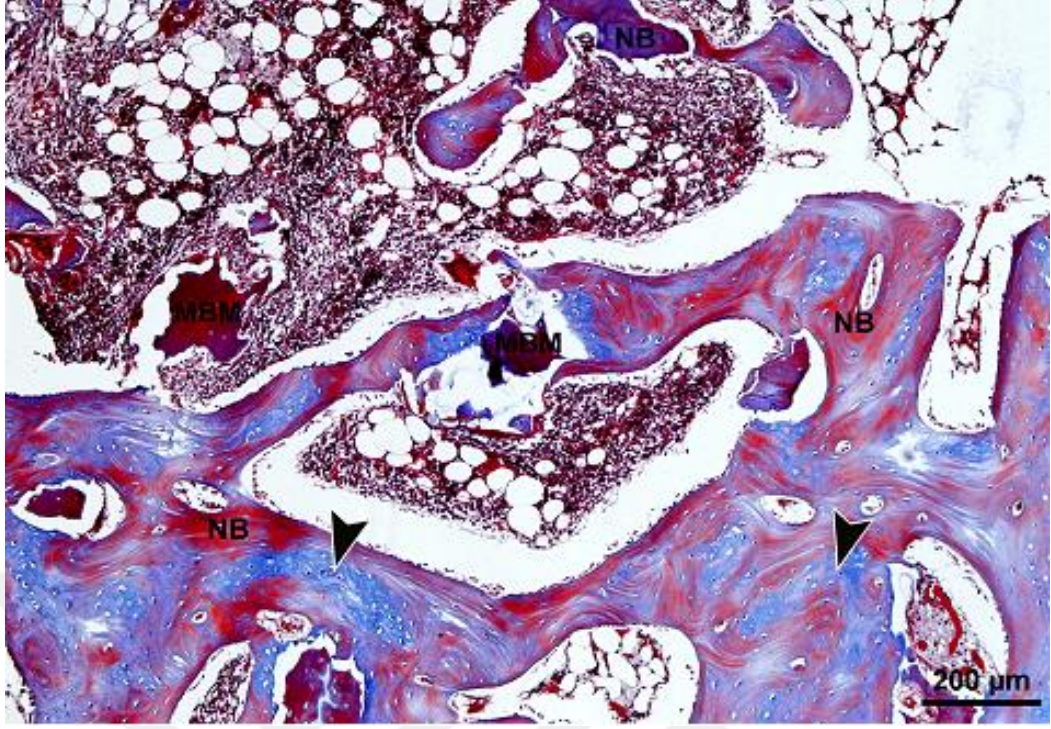
MBM grubunda tüm örneklerde 60. günde bölgenin tam olarak vazkularizasyonu iyi, fibrositlerden zengin bağ doku ile kapandığı, kırık doku oluşumu ile birlikte yer yer primer kemik doku oluşumlarının bulunduğu gözlemlendi (Şekil 38). Materyal parçacıkları arasında iyi farklılaşmış trabeküler tarzda kemik doku oluşumları dikkati çekti. Bazı MBM greft materyallerinin kısmen rezorpsiyona uğradığı, bazı alanlarda ise osteoklastik aktivitenin belirgin olduğu saptandı. Hem fibröz kallus hem de kemik iliğinde, 30 günlük olgulardan daha hafif şiddette yangısal lenfosit infiltrasyonları mevcuttu. İyileşme bölgesindeki greft materyalleri çevresinde belirgin osteoblastik aktivite mevcuttu (Şekil 39). Yeni kemik iliği oluşumlarının kısmen şekillendiği dikkati çekti (Şekil 40).



**Şekil 38.** MBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. MBM: Mineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, HE x 4.

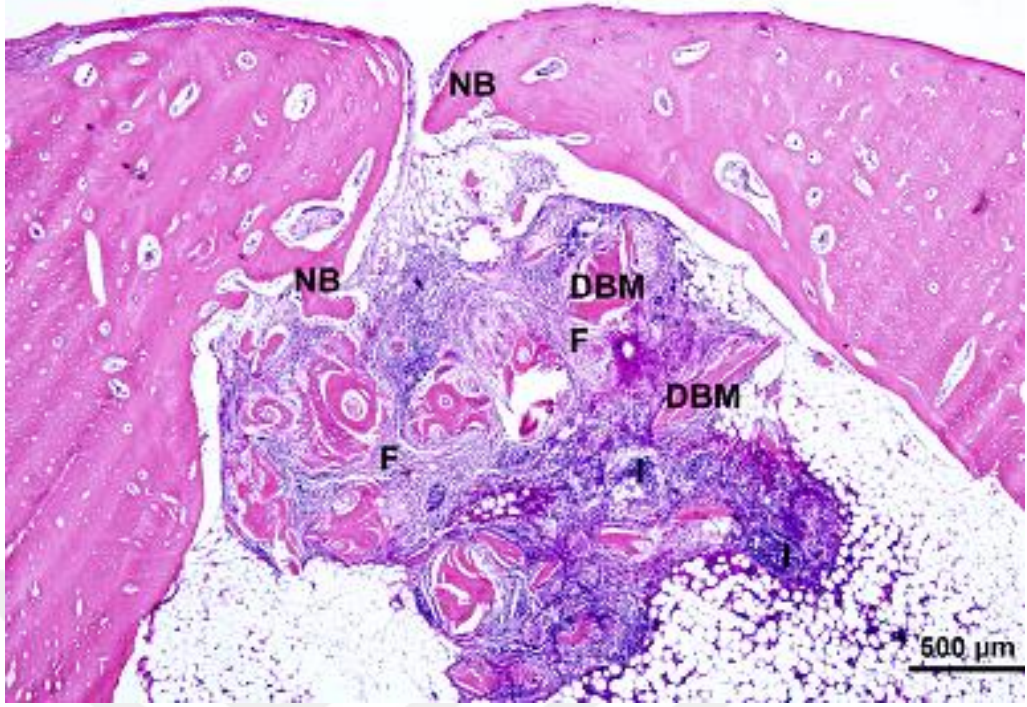


**Şekil 39.** MBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. MBM: Mineralize kemik matrisi, F: Fibröz doku, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, Ok: Osteoklast, I: Hücresel reaksiyon, HE x 10.

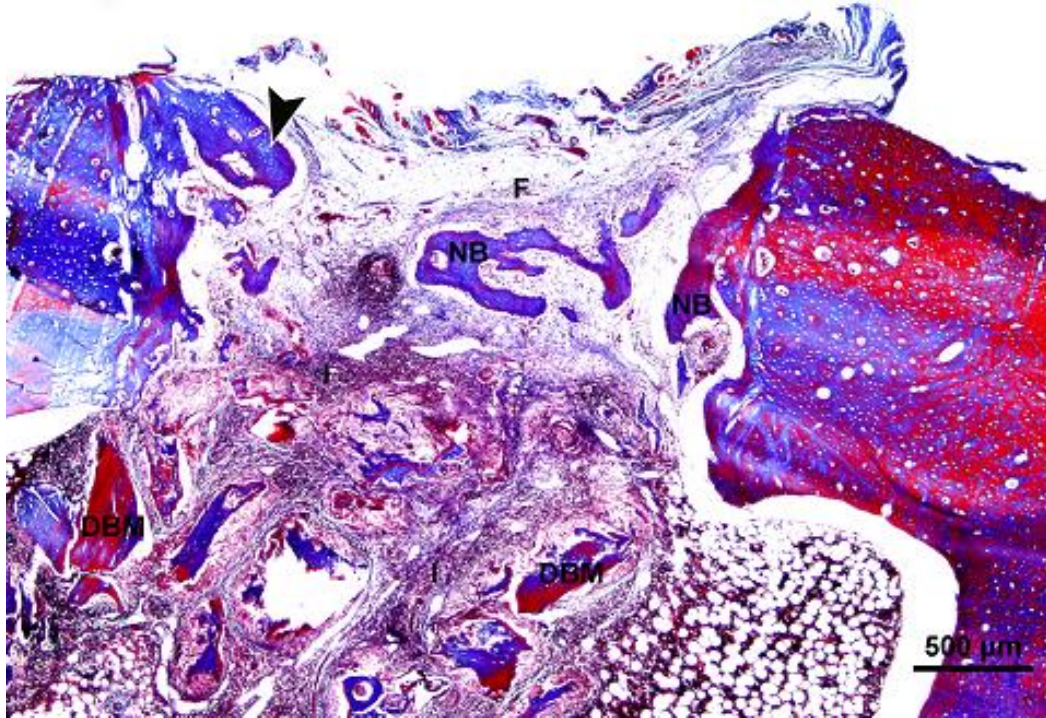


**Şekil 40.** MBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. MBM: Mineralize kemik matrisi, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, MTC x 10.

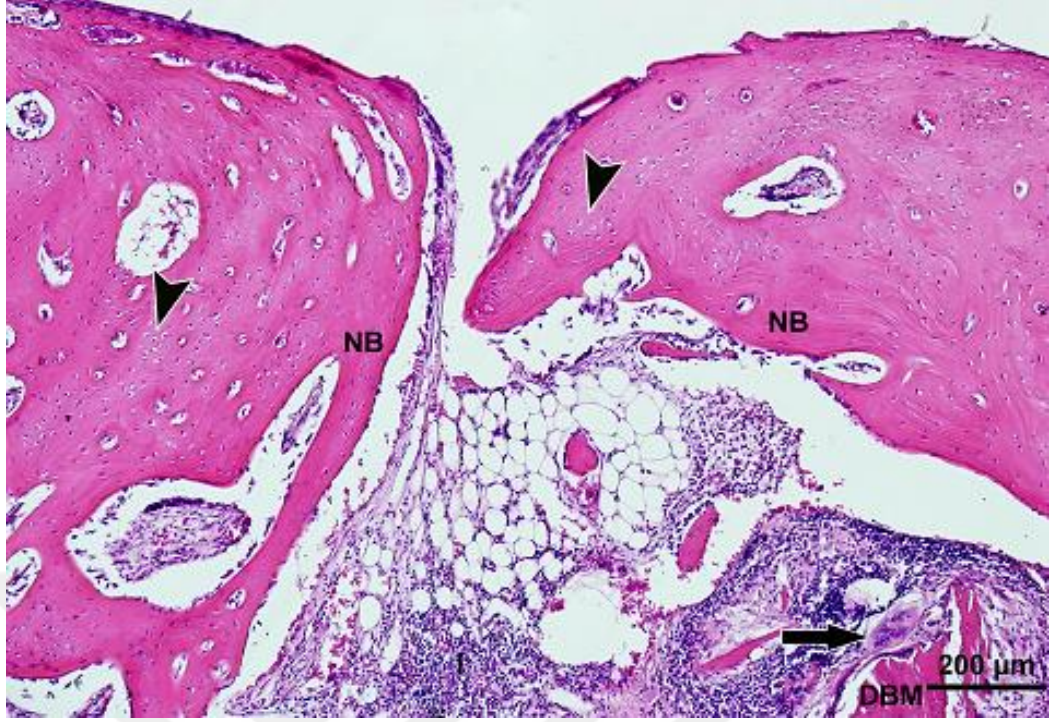
DBM grubunda 60. günde defekt onarımının tam olarak şekillenmediği tespit edildi. Bazı örneklerde defekt bölgesinde fibröz kallusun yerini immatür kemik dokunun aldığı, kemik iliğindeki şiddetli yangısal değişimlerin yerini fibröz doku aldığı ve bu dokunun greft materyalinin etrafını sardığı izlendi (Şekil 41). Bazı olgularda ise fibröz kallus içerisinde minimal düzeyde trabeküler kemik oluşumları ile birlikte şiddeti azalmış hücresel yanıtın varlığı dikkati çekti (Şekil 42). Greft materyalinden kompakt kemiğe doğru yeni kemik oluşumlarının olduğu gözlemlendi. Havers kanallarının kısmen yapılandığı ve yeni kemik iliği oluşumlarının oldukça iyi şekillendiği saptandı (Şekil 43).



**Şekil 41.** DBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. DBM: Deminerallize kemik matriksi, F: Fibröz doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, HE x 4.



**Şekil 42.** DBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. DBM: Deminerallize kemik matriksi, F: Fibröz doku, Ok başı: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, MTC x 4.



**Şekil 43.** DBM grubunda 60. günde defekt bölgesinin histolojik görünümü. DBM: Demineralize kemik matrisi, Ok başları: Kıkırdak doku, NB: Yeni kemik, Ok: Osteoklast, I: Hücresel reaksiyon, HE x 10.

Defektlerde oluşan kemik iyileşmesinin modifiye histolojik skorlama kriterlerine (165) göre 30. ve 60. günlerdeki değerlendirmeleri Tablo 8’de verilmiştir.

**Tablo 8.** Modifiye histolojik skorlama kriterlerine (165) göre defektlerin 30. ve 60. günlerdeki değerlendirmeleri.

Gün	n	Kontrol	Biyoaktif cam	MBM	DBM	P
30	7	1.42±0.20 <sup>b</sup>	3.00±0.21 <sup>a</sup>	1.28±0.18 <sup>b</sup>	1.71±0.28 <sup>b</sup>	0.002
60	7	3.85±0.14 <sup>b</sup>	5.14±0.26 <sup>a</sup>	3.00±0.30 <sup>b</sup>	4.28±0.68 <sup>ab</sup>	0.008
<b>P</b>		0.001	0.001	0.003	0.006	

<sup>a,b</sup> Aynı satırdaki gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

MBM: Mineralize kemik matrisi

DBM: Demineralize kemik matrisi

## 6. TARTIŞMA

Kemik defektleri günümüzde halen rekonstrüksiyonu güç problemlerden biri olmaya devam etmektedir. Kaybedilen dokunun tamiri amacıyla birçok hastaya kemik greftlemesi yaygın olarak uygulanmaktadır. Kemik greftlemesi, kemiğin travmatik yaralanmalarında, kemik rezeksiyonlarında, kırık iyileşmesinde, kaynama problemlerinde, kemik enfeksiyonlarında, eklem füzyonunda, eklem rekonstrüksiyonunda ve konjenital malformasyonların giderilmesinde kullanılmaktadır (155, 166, 167). Büyük kemik defektlerinde iyileşmenin kendiliğinden oluşmaması, iyileşme süresinin uzun zaman alması veya kemik defektlerinin kısa sürede onarım gerektirdiği yaşamsal önemi olan durumlarla sıklıkla karşılaşılması kemik greftleri ile ilgili birçok çalışmanın yapılmasına yol açmıştır. Lewandrowski ve ark. (168) 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada dünyada yılda yaklaşık 2.2 milyon kemik grefti kullanımının olduğunu, bunun da %10'unda sentetik materyallerin kullanıldığını bildirmişlerdir.

Kemik greftlerinin yeni kemik oluşumundan sonra kemik matürasyonu için gerekli olan sürede rezorbe olması tercih edilmektedir. Osteoindüktif özelliği yüksek olan greft materyallerinin yeni kemik oluşumunu arttırarak kısa sürede yerini yeni kemiğe bırakması istenilen bir durumdur (8, 79, 151).

Kemik greftlerinin çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Otojen greftlerin osteojenik özelliklere sahip olması gibi avantajları bulunmasına rağmen yetersiz miktarlarda elde edilebilmesi ve donör bölge morbiditesi gibi önemli dezavantajları bulunmaktadır. Allojen kemik greftleri ve alloplastik greft materyallerinin ise donör bölge morbiditesini ortadan kaldırması, cerrahi süresini anlamlı derecede kısaltması ve istenilen miktarlarda kullanılabilmesi gibi

avantajları ön plana çıkmaktadır. Otojen ve allojen kemik greftlerinin belirtilen dezavantajları, başka greft materyallerinin geliştirilmesi çalışmalarının artışına yol açmıştır (12). Kemik defektlerinin onarımında memnuniyet verici iyileşmeyi elde edebilmek amacıyla alternatif greftler ve greft yerine geçen materyaller üzerindeki araştırmalar halen devam etmektedir (3, 55, 169, 170).

Biyoaktif camın hem antibakteriyel hem de hemostatik özelliklerinin bulunduğu, bu özelliklerin de kemikleşme üzerinde hızlandırıcı etkisi olabileceği şeklinde görüşler vardır. Biyoaktif cam ile yapılan klinik çalışmalarda (120) başarılı sonuçlar elde edilebileceği belirtilmiştir. Biyoaktif camın enfekte dokuda bakteri artışını durdurduğu, kasten enfekte edilen vakalarda bile kimyasal bağlanmanın hiçbir şekilde etkilenmediği (117), cerrahi operasyonlar da dâhil olmak üzere travmaya bağlı oluşan enflamatuvar yanıtı ve makrofaj aktivitesini minimize ettiği (171) bildirilmektedir. Bazı alloplastik materyallerle karşılaştırıldığında kemik oluşumu üzerinde hızlandırıcı etkisinin bulunabileceği, yeni kemik oluşumunu hızlandırdığı ve yeni kemikle doğrudan bir bağlantı sağladıkları da rapor edilmiştir (116, 120, 172).

Hayvan kaynaklı mineralize kemik greftlerinin morfolojik olarak doğal bir yapısı olduğu, kemik ile karşılaştırıldığında daha geniş bir iç yüzeye ve poroziteye, kemik ile benzer kristal yapıya, elastikiyete, kimyasal bileşime ve kalsiyum/fosfor oranına sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (173, 174). Yeni kemiğe göre daha hızlı bir rezorpsiyon ve replasman sağlamak ve otojen kemiğe alternatif sunmak amacıyla mineralize kemik grefti kullanıldığı çalışmalar bildirilmiştir (175).

DBM, kemik defektlerinin onarımında otojen kemik greftlerine iyi bir alternatif olarak kabul edilmektedir (176). DBM'nin başka bir bireyin dokularından elde edilmiş olması dezavantaj olarak görülmekle birlikte bu konuda herhangi bir olumsuzluk rapor edilmemiştir (158). DBM'nin otojen kemik grefti ile eşit hatta daha fazla osteoindüktif aktivasyonu olduğu, kemik defektlerinin doldurulmasında uygun bir materyal olduğu ve revaskülarizasyonu hızlı bir biçimde gerçekleştirdiği, kırık iyileşmesini arttırmada, kemik defektlerinin onarımında yeni kemik oluşumu gereken ortopedik ve maksillofasiyal cerrahide kullanılmaya başlandığı bildirilmektedir (151, 158, 177).

Yapılan bu çalışmada kemik grefti kullanımının zorunlu olduğu durumlarda greft seçimine yardımcı olmak, kemik iyileşmesini hızlandırarak hasta refahına katkıda bulunmak ve bu konuda gerçekleştirilecek çalışmalar için araştırmacılara yararlı bir kaynak oluşturulması hedeflenmiştir. Bu amaçla biyoaktif cam ile MBM ve DBM uygulamalarının gerçekleştirilmesi ve kemik rejenerasyonuna sağladıkları yarar bakımından klinik, radyolojik ve histolojik karşılaştırmalarının yapılması amaçlanmıştır.

Kemik iyileşmesinin değişik hayvan modellerinde araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır (3, 7, 160, 178). Tavşan modelinde kemik defektlerinin onarımında biyoaktif cam uygulamalarının test edildiği çalışmalar rapor edilmiştir (179, 180). Yapılan bu çalışmada da deney hayvanı olarak diğer laboratuvar hayvanlarına göre daha dayanıklı olan ve oluşturulması istenilen defekt boyutları için daha uygun bulunan tavşan modelinin seçilmesi tercih edilmiştir.

Tavşanların anestezisinde farklı anesteziik maddeler değişik dozlarda uygulanabilmektedir (92, 181, 182). Bu çalışmada tavşanlara kas içi 5 mg/kg

dozunda Xylazine hydrochloride ve 35 mg/kg kas içi Ketamin hydroclorur uygulamasının yaklaşık 20 dakika süre ile operasyona izin verecek düzeyde anestezi sağladığı tespit edilmiş olup, anestezi sürecinde ve tavşanların anesteziden uyanması esnasında herhangi bir olumsuzlukla karşılaşmamıştır. Anestezi süresinin operatif işlemlerin yapılması için yeterli olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada minimum sayıda hayvan kullanılması için tavşanların her iki tibiasının proksimal metafizine yakın mesafede ikişer adet defekt oluşturulmuştur. Operasyon bölgesi olarak yumuşak doku hasarının minimal düzeyde olması ve kemiğe en rahat bir şekilde ulaşılacak bir bölge olması sebebiyle (183) tibianın medial yüzünün proksimalinin seçilmesi uygun görülmüştür. Operasyon esnasında derinin ensizyonunu takiben künt diseksiyon ile rahatça kemik yüzeyine ulaşılmıştır. Bu modelde tibianın proksimalinde oluşturulan unikortikal kemik defektlerinin klinik ve radyografik değerlendirmelerinin kolaylıkla gerçekleştirildiği belirlenmiştir.

Kemik iyileşmesinde kemik defektlerinin büyüklüğü önemli ölçüde etkilidir. Deneysel çalışmalarda oluşturulacak kemik defektlerinin kendiliğinden iyileşemeyecek boyutlarda olması kullanılacak greft materyallerinin kemik iyileşmesine olan etkilerinin değerlendirilebilmesi için önemlidir (6). Deneysel çalışmaların sınırlı bir süreye sahip olması ve deneklerin tüm hayatı boyunca çalışmanın devam ettirilememesi nedeniyle çalışma süresince iyileşmeyen defektler KBD olarak kabul edilmektedir (5, 6, 176).

Tavşan tibia modelinde 0.5-8 mm arasındaki kemik defektlerinin kemik iyileşmesinin araştırılması için yeterli olduğu, defektlerin kemik diyafiz genişliğinden büyük, özellikle 4 mm ve daha büyük olduğu durumlarda

istenmeyen kırıkların meydana gelebildiği bildirilmektedir (5, 6, 36). Yapılan bu çalışmada 3.5 mm'lik unikortikal defekt modeli oluşturulmuştur. Çalışma süresince tibialarda herhangi bir kırık oluşumunun gözlenmemesi oluşturulan defekt modelinin bu tür çalışmalar için uygun olduğunu bir kez daha ortaya koymaktadır. Radyolojik ve makroskopik değerlendirmelerde, kontrol defektlerinde gözlenen iyileşme yetersizliği defekt boyutlarının KBD olması ile açıklanabilir. Aynı zamanda histolojik değerlendirmelerde elde edilen bulgular da bu kanıyı güçlendirmektedir. Elde edilen bulgular tavşan tibiasının proksimal metafizine yakın bölgede oluşturulan 3.5 mm'lik unikortikal defektlerin 2 aylık çalışma süresi için KBD olduğunu göstermektedir.

Macun formundaki greft materyallerinin defekt bölgesine tutunma oranının partikül formundaki greft materyallerine göre daha fazla olduğu ve defekt bölgesine kolayca uygulanabildiği belirtilmektedir (159, 162, 184). Yapılan bu çalışmada biyoaktif camın macun formu, MBM'nin granül formu ve DBM'nin macun formu kullanılmıştır. Biyoaktif cam ve DBM'nin macun formunun tibia defektlerine rahatlıkla uygulanabildiği, defektlerin şeklini kolaylıkla aldığı, granül şeklinde kullanılan MBM'nin ise defekte yerleştirilmesinin daha zaman alıcı olduğu ve defekt bölgesine tutunmasında zorluklarla karşılaştığı belirlenmiştir. Greftleme işleminden sonra kas, fascia, deri altı bağ doku ve derinin greftlerin üzerini emniyetli bir şekilde kapatacak ve greftlerin yer değiştirmesini engelleyecek şekilde uygun ve ayrı dikişlerle kapatılmasının da greftlerin defekt içerisinde kalmalarında yardımcı olduğu düşünülmektedir.

Sunulan bu çalışmada operasyon yaralarının normal şekilde iyileşmesi, yaralarda açılma veya enfeksiyon gibi komplikasyonların bulunmamasının kemik

greft uygulamalarının araştırıldığı benzer tavşan modeli çalışmalarındaki (5, 6) bulgularla uyumluluk göstermektedir.

Greft uygulamalarında sıklıkla gözlenen enfeksiyon, hemoraji, post-operatif ölümler, morbiditenin artması, immun cevap gelişmesi, doku reddi gibi olumsuz bulgular literatür verileriyle (8, 79, 185, 186) uyumlu olarak bu çalışmada da gözlenmemiştir.

Bu çalışmada, operasyondan hemen sonra alınan radyografilerde kontrol grubundaki kemik defektleri ile biyocam, MBM ve DBM gruplarındaki greftler net bir şekilde belirlenmiştir. Bununla birlikte literatürlerle (3, 6, 8, 55) benzer şekilde, greftlerin sahip olduğu yoğunluğun zaman geçtikçe kemik kontrastına yaklaştığı ancak normal kemik kontrastının oluşmadığı saptanmıştır. Operasyon sonrası alınan radyografilerin çalışmanın ileri dönemlerinde gerçekleştirilen radyolojik değerlendirmeler için yararlı olduğu kanısına varılmıştır.

Sunulan bu çalışmadaki postoperatif radyolojik muayenelerde, kontrol grubundaki bütün olgularda defektlerin net bir şekilde gözlendiği, 30. günde hafif bir kemik aktivitesi oluşarak defektlerin %25'inin kapandığı, 45. günde iyileşmenin belirli oranda artarak %25-50 oranına çıktığı, 60. günde ise defektlerin kenardan merkeze doğru iyileştiği görülmekle birlikte defektlerin %50'sinin kapandığı izlenmiştir.

Osteokondüktif ve biyoyumlu greft materyallerinden biri olarak bildirilen (187, 188) biyoaktif cam kemik replasmanı ve augmentasyonunda (189, 190), değişik oral cerrahi olgularında (191), orbita, fasial iskelet (192, 193) ve kafatası defektlerinin onarımı (187) amacıyla kullanılmıştır. Biyoaktif camların kemik grefti yerine kullanılması ile ilgili farklı sonuçlar veren çalışmalar da

bulunmaktadır. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada (194), hidroksiapatit greftlerin biyoaktif camlara oranla kemik iyileşmesini daha fazla hızlandırdığı bildirilirken, bir başka çalışmada ise (195) iki farklı biyoaktif cam uygulanan tavşan tibia defektlerinin histolojik incelemelerinde meydana gelen yeni kemik oluşumunun kontrol grubuyla aynı düzeyde olduğu ve her iki biyoaktif cam arasında yeni kemik oluşumunu sağlama açısından bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Elshahat (196) ise biyoaktif camın kraniyofasiyal defektlerin onarımında kolay, güvenli, etkili ve uzun ömürlü bir greft uygulaması olduğu bildirmiştir. Kraniyal defektlerde kemik iyileşmesinin tespiti için kullanılan biyoaktif camın diğer greft materyallerinden daha fazla iyileşme sağladığı bildirilmektedir (196).

Yapılan bu çalışmada biyoaktif cam grubunun 30, 45 ve 60 günlük radyografik değerlendirmelerinde, defektlerin yeni kemik oluşumu ile doldurulması sırasıyla %50-75, %75-100 ve %100'e yakın olarak gözlenmiştir. Radyolojik değerlendirmelerde, biyoaktif cam kullanılan kemik defektlerindeki iyileşmenin diğer gruplara göre hem 30. günde ( $p<0.001$ ), hem de 60. günde ( $p<0.002$ ) daha iyi olduğunun gözlenmesi Sakallıoğlu ve Yavuz (120)'un yaptığı çalışma ile uyumluluk göstermektedir.

MBM'nin osteokondüktif özelliğe sahip olduğu, uygulandıkları yerde yeni kemik oluşumu için iskelet görevi gördüğü zamanla rezorbe olarak yeni kemik ile yer değiştirdiği bildirilmektedir (97, 170, 197). MBM'nin deneysel ve klinik kullanımıyla ilgili yapılmış çalışmalarda kemik oluşumunu ve iyileşmeyi arttırdığı rapor edilmiştir (134). İnsan, sığır ve sentetik kaynaklardan elde edilen bu greft materyalinin incelendiği bir çalışmada (198), sentetik kaynaklardan elde edilen osteokondüktif greft materyali için en iyi potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

MBM kullanılan bir çalışmada (134) postoperatif radyografik görüntülere göre; ilk ay defekt dolumu %48 olarak gözlenirken, her ay giderek artan derecelerde kemik defekt dolumunun 6. ayda %90 oranında olduğu tespit edilmiştir. Saflaştırılmış sığır kaynaklı ksenogreft (Laddec®) uygulanan bir çalışmada (170) radyografik görüntülere göre; postoperatif birinci ayda %56 olarak gözlenen defekt dolumunun zamanla artarak 6. ayda %92 oranına ulaştığı bildirilmiştir. Bu çalışmada MBM uygulanan kemik defektlerinin 30 günlük radyografik değerlendirmelerinde %25-50 oranında yeni kemik oluşumuyla dolması, 45 ve 60 günlük izleme süreleri içerisinde bu oranın artması literatür verileriyle (134, 170) benzer sonuçların alındığını göstermektedir.

DBM'nin sahip olduğu osteoindüktif potansiyeli sayesinde yeni kemik oluşumunu teşvik ettiği ve kansellöz kemik greftlerine tercih edilebileceği bildirilmiştir (5, 97, 151, 160, 199). Deneysel bir çalışmada (161) DBM'nin otojen kansellöz kemiğe olan ihtiyacı azalttığı, her iki greft materyalinin birlikte kullanılması ile daha iyi bir iyileşme elde edildiği bildirilmiştir (97). DBM'nin yeni kemik oluşumunu uyardığını rapor etmiştir. DBM'nin kraniyal (178) ve radial (200) defektlerde olumlu sonuç verdiğini bildiren çalışmaların aksine iyi sonuç vermediğini bildiren çalışmalar da (169) bulunmaktadır.

Lindholm ve ark. (201) kritik boyuttaki kemik defektlerinin onarımında DBM uygulandığında postoperatif radyografik görüntülere göre, genel olarak 9-12. haftada defektin %75-77 oranında yeni kemik ile dolduğunu bildirmektedirler. Sunulan bu çalışmada, DBM grubunda 30, 45 ve 60 günlük radyografik değerlendirmelerde, defektlerin yeni kemik oluşumu ile doldurulması sırasıyla %50, %50-75 ve %75 olarak gözlenmiştir. Radyolojik olarak 30. günde DBM'nin

kemik iyileşmesine olumlu katkıda bulunduğu ( $p<0.001$ ), ancak 60. günde kontrol grubu ile arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada 30. günde radyolojik olarak MBM grubu ile kontrol grubu arasında farklılık gözlenmezken, MBM grubundaki iyileşmenin DBM ve biyoaktif cam gruplarındakine göre daha az olduğu ( $p<0.001$ ) belirlenmiştir. MBM'nin DBM'ye alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanıldığını bildirilen çalışmaların (124, 125) aksine yapılan bu çalışmada, radyolojik bulgular 30. günde MBM kullanılan defektlerdeki kemik iyileşmesinin DBM grubundaki kemik iyileşmesine göre daha az olduğunu ( $p<0.001$ ) göstermiştir. Altmış günlük radyolojik değerlendirmelerde ise MBM, kontrol ve DBM grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, MBM grubundaki iyileşmenin biyoaktif cam uygulanan gruptakine göre daha az olduğu saptanmıştır ( $p<0.002$ ).

Kemik greftlerinin iyileşme üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde önemli yer tutan histolojik muayeneler için farklı izleme süreleri belirlenmiştir (2, 7, 8, 10, 12, 202). Ototogreft, hidroksiapatit ve yüksek derecede saflaştırılmış bir sığır ksenogreftinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (133) ilk ayda trabeküler kemik oluşumunun gözlemlendiği, 6. ayda epifizeal yapının tamamen tamir edildiği bildirilmiştir. Kemikleşmenin 1. ve 2. haftalarda başladığı, 6. ve 8. haftalarda ise defektlerin reorganize olarak dolduğu bilindiğinden (203), yapılan bu çalışmada histolojik muayenelerin 30. ve 60. günlerde gerçekleştirilmesi uygun bulunmuştur.

Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin fibröz doku ile doldurulmuş olması ve 60. günde ise ince trabeküler kemikle birlikte bazı olgularda fibröz

dokunun hala varlığını devam ettirmesi daha önceki raporlarla (12, 190, 202) benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada biyoaktif cam grubunda greft materyaline karşı gelişen hücresel reaksiyonun hemen hemen hiç oluşmaması, biyoaktif camın enflamatuvar yanıtı ve makrofaj aktivitesini minimize ettiğini bildiren çalışmalarla (171) uyumluluk göstermektedir. Ayrıca biyoaktif cam grubunda 30. günde belirgin greft rezorpsiyonunun gözlenmemesi, biyoaktif camların biyobozunumlarının genelde yavaş olarak gerçekleştiğini bildiren çalışmalarla da (86) paralellik göstermektedir.

Kobayashi ve ark. (204) koyunlarda L3, L4 ve L5 vertebra gövdelerinde oluşturdukları defekt modelinde biyoaktif cam, biyoaktif cam+otojen kansellöz kemik grefti ve kontrol gruplarından oluşan çalışma sonucunda her üç grup arasında da anlamlı bir farklılık gözlemediklerini bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise Kobayashi ve ark. (204)'nın bildirdiklerinden farklı olarak otuzuncu günde yapılan histolojik muayenelerde biyoaktif cam uygulanan defektlerdeki iyileşmenin diğer gruplardan daha iyi olduğu anlaşılmaktadır ( $p<0.002$ ). Bu durum radyolojik bulguların değerlendirmelerinden elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermektedir. Altmışıncı gündeki histolojik değerlendirmelerde ise biyoaktif cam uygulanan defektlerdeki iyileşmenin kontrol grubu ve MBM uygulanan defektlerdeki iyileşmeye göre daha iyi olduğu gözlenirken ( $p<0.008$ ), DBM grubundaki iyileşme ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

MBM uygulanan defektlerde greft rezorpsiyonunun gözlenmediği (205), veya az miktarda rezorpsiyon gözlendiği (206) bildirilmektedir. Başka bir çalışmada ise histolojik incelemelerde (207) MBM kullanılan defektlerde kemik

dolumunun %50 ile %60 arasında olduğu gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise 30 günlük histolojik incelemelerde mineralize kemik greftlerinde rezorpsiyonun olmadığı gözlenirken, 60 günlük histolojik incelemelerde ise greft materyallerinin kısmen rezorpsiyona uğradığı gözlenmiştir.

Noumbissi ve ark. (175) yaptıkları bir çalışmada, 10 ay sonunda mineralize kansellöz kemik allogreftinin rezorbe olduğu, yeni kemikle yer değiştirmesinin, demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti ve deproteinize sığır kemik ksenogrefti karışımı kullanılan gruptan daha hızlı ve daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir.

Histolojik incelemelerde 30. günde MBM uygulanan grupta kemik defektleri sadece fibröz kallus ile doldurulmuş, tüm örneklerde 60. günde bölge tam olarak fibrositlerden zengin bağ doku ile kapanmış, kıkırdak doku oluşumu ile birlikte yer yer primer kemik doku oluşumları bulunmuştur. Bununla birlikte iyileşme bakımından MBM grubu ile kontrol ve DBM grupları arasında hem 30. günde hem de 60. günde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Biyoaktif cam grubuna göre MBM grubundaki iyileşmenin hem 30. günde ( $p<0.002$ ) hem de 60. günde ( $p<0.008$ ) daha az gerçekleştiği gözlenmektedir. Elde edilen bu bulgular radyolojik bulgularla da uyumluluk göstermektedir.

DBM uygulanan bir çalışmada (5), 30 günlük histolojik bulgular defekt alanlarının fibröz kallus ile dolduğunu, 60. günde ise fibröz kallusun yerini immatür kemik dokunun aldığını kaydetmiştir. Clokie ve arkadaşları kritik boyutta kranial kemik defektlerini DBM ile greftlediklerinde, 6. hafta sonunda belirgin oranda kemikleşmenin ve kemik iliği oluşumunun gerçekleştiğini, 12. hafta sonunda ise büyük oranda kemik onarımının tamamlandığını bildirmişlerdir

(178). Yapılan bu çalışmada DBM uygulanan grupların 30. gündeki histolojik kesitlerinde defekt alanlarının fibröz kallus ile dolması, kıkırdak ve çok az düzeyde yeni kemik doku oluşumlarının başlaması ve 60. gündeki histolojik kesitlerde ise defekt onarımının tam olarak şekillenmemesi literatür verileriyle (5, 190, 202) benzerlik göstermektedir. Khoshzaban ve ark. (178) ratların kranium defektlerinde DBM uygulaması ile olumlu sonuç aldıklarını bildirirken, bazı çalışmalarda (5, 169) ise DBM kullanılan defektlerdeki kemik iyileşmesinin memnuniyet verici olmadığı bildirilmiştir.

Sunulan bu çalışmada kullanılan greft materyallerinin daha önce yapılan çalışmalardakine (8, 79, 152, 186) benzer bir şekilde zamanla rezorbe edilerek yerini yeni kemik oluşumlarına bıraktığı, ancak tam rezorpsiyonun hiçbir greft materyalinde oluşmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte kullanılan greft materyallerinin herhangi bir yabancı cisim reaksiyonuna yol açmadığı ve inflamatuvar bir yanıt oluşturmadığı belirlenmiştir.

Radyolojik ve histolojik bulguların 30. ve 60. günlerde grupların kendi içlerinde yapılan karşılaştırmalarındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Radyolojik bulguların anlamlılığı kontrol, biyoaktif cam, MBM ve DBM gruplarında sırasıyla  $p<0.010$ ,  $p<0.006$ ,  $p<0.006$  ve  $p<0.019$  olarak belirlenmiştir. Histolojik bulguların anlamlılığı ise kontrol, biyoaktif cam, MBM ve DBM gruplarında sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.003$  ve  $p<0.006$  olarak saptanmıştır. Elde edilen veriler tüm gruplarda ilerleyen zamana bağlı olarak defektlerde oluşan kemik iyileşmesinde artış kaydedildiğini gösterirken, aynı zamanda radyolojik ve histolojik değerlendirmeler arasında uyumluluk

gözlendirilmektedir. Bu çalışma 2 aylık bir in-vivo dönemi kapsadığı için oluşan değişimler bu süreçle sınırlı kalmıştır.

Sonuç olarak, elde edilen bulguların genel değerlendirmesi yapıldığında, kemik defektlerinin onarım sürecinin hızlandırılması, zaman, iş gücü ve ekonomik kayıpların en aza indirilebilmesi için kemik defektlerinin onarımında biyoaktif camın iyi bir greft materyali olarak kullanılabilmesi kanısına varılmıştır. Bununla birlikte kullanılan greft materyallerinin tamamen rezorpsiyonunun gerçekleşebileceği daha uzun süreli in-vivo çalışmaların yapılması ile bu greft materyallerinin uzun dönemdeki kemik iyileşmesine olan katkılarının daha iyi anlaşılabilmesi düşünülmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Erdoğan D, Hatiboğlu M, Görgün M, Ilgaz C. Genel Histoloji. 2. Baskı, Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 1999.
2. Özkaynak CK. Deneysel Olarak Diabet Oluşturulmuş Tavşanlarda Trombositten Zengin Plazma (TZP) Uygulamasının Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histolojik Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, 2007.
3. Can HN. Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerinde Değişik Greft Materyalleri ve Trombositten Zengin Fibrinin Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2013.
4. Kandal S. Sıçan Mezenkimal Kök Hücre Uygulamasının Kranial Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, 2006.
5. Durmuş AS, Çeribaşı AO, Can HN. Koral ve demineralize kemik matriksinin kemik iyileşmesi üzerine etkileri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 2016; 30(2): 131-136.
6. Bozkaya S. Deproteinize ve Demineralize Kemik Greftlerinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, 2005.
7. Bulut S, Durmuş AS, Köm M, Çobanoğlu B. Köpeklerde femur ve tibia diyafizinin deneysel maddi kayıplı kırıklarında ulna distalinin segmental kortikal otogref olarak kullanımı. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2001; 7(1): 77-85.
8. Durmuş AS, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel maddi kayıplı femur kırıklarında koral ve spongiyöz otogref uygulamalarının karşılaştırması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2001; 15(1): 101-112.
9. Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, et al. Bone-graft substitutes: facts, fictions and applications. J Bone Joint Surg Am 2001; 83(A): 98-103.
10. Durmuş AS, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel maddi kayıplı femur kırıklarında otojen fibular kemik grefti kullanımı. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi 2004; 2(3): 144-150.
11. Kahnberg KE, Rasmusson L, Zellin G. Bone Grafting Techniques for Maxillary Implants. Danimarka: Blackwell Pub Co, 2005.
12. Ulukaradağ G. Tavşan Kalvaryumunda Mezenşimal Kök Hücre Transplantasyonu İle Yönlendirilmiş Kemik Ogmentasyonunda Elde Edilen Yeni Kemiğin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara: GATA, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, 2007.
13. Junquera LC, Carneiro J, Kelly RO. Temel Histoloji. Aytakin Y (Çeviren). 8. Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi, 1998.
14. Ersoy B. Sıçanda Vaskülarize Periost Flebi, Hidroksiapatit ve Biyoaktif Cam ile Kemik Prefabrikasyonunun Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, 2010.
15. Manson PN. Facial bone healing and bone grafts. Clin Plast Surg 1994; 21(3): 331-348.
16. Schenk RK. Biology of fracture repair. In: Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG (Editors). Skeletal Trauma. Vol 1. 3rd Edition, Philadelphia: Saunders Co 2003: 29-73.
17. Buckwalter JA, Glimcer MJ, Cooper RR, Recker R. In: Pritchard DJ. (Editors). Bone biology-I. Instructional Course Lectures. Volume 45 AAOS 1996: 371-86.

18. Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 839-899.
19. Köse İ. Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Sentetik Kemik Greftleri İle Kalsiyum Kanal Blokerleri ve  $\beta$ -2 Reseptör Antagonistlerinin Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, Diyarbakır: Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
20. Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ. Modelling bone tissue fracture healing: a review. *Engineering Fracture Mechanics* 2004; 71: 1809-1840.
21. Miller MD. Miller'ın Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M (Çeviren).1. Baskı Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2006: 1-23.
22. Biçer EK. Taurinin Deneysel Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 2010.
23. Atalay C. Hidroksiapatit Esaslı Kemik Grefti-Trombositten Zengin Plazma Kombinasyonunun Tavşan Maksillasında Oluşturulan Deneysel Kemik Defektlerinde Kemik Rejenerasyonu Üzerine Etkilerinin Histolojik Açından Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı, 2011.
24. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem* 2005; 91: 131-137.
25. Karaman İ. Propolisin Kırık İyileşmesi ve Oksidan-Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi (Deneysel Çalışma). Tıpta Uzmanlık Tezi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 2009.
26. Görpe A, Cantez S. Pratik Nükleer Tıp. İstanbul: İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı, Nobel Tıp Kitabevi, 1992.
27. Gemalmaz HC. Kaviter Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Otojen Periost ve Seramik Kompozit Greftinin Etkisi. Uzmanlık Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 2007.
28. Buckwalter JA, Einhorn TA, Marsh JL. Bone and joint healing. In: Bucholz RW, Heckman JD (Editors). *Fractures in Adults*. Vol 1. 5th Edition, Philadelphia: Lippincott Co 2001: 245-271.
29. Darwish AH. Zeolit ve Trombositten Zengin Plazma (TZP) Uygulamasının Deneysel Kemik Defektleri Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011.
30. Paker Ş. Histoloji. 2. Baskı, Bursa: Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayınevi, 1993.
31. Adem A. Yağlı Kalsiyum Hidroksit Süspansiyonun ve Ksenogreft+Trombositten Zengin Plazma (TZP) Karışımının Deneysel Olarak Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkilerinin Karşılaştırmalı Olarak Histolojik Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
32. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of histology*. Cartilage and Bone. Chapter 7. 2nd Edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company 2001: 129-154.
33. Efeoğlu C. Kemik Defektlerinde Otojen Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve Trikalsiyum Fosfat Uygulaması Deneysel Çalışma. Doktora Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2003.
34. Soydan N. Genel Histoloji. İstanbul: Beta Yayıncılık, 1992.
35. Bancroft JD, Stevens A. *A theory and Practice of Histological Techniques*. Chapter 15. Bone 4th Edition, New York: Churchill Livingstone 1996: 309-339.
36. Hollinger JO, Buck CD, Bruder PS. *Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy*. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chap 1. 1st Edition, Chicago: Quintessence Publishing 1999: 223-228.

37. Sağlam M, Aştı RN, Özer A. Genel Histoloji. 6. Baskı, Ankara: Yorum Matbaacılık 2001.
38. Taşkaldıran A. Trombositten Zengin Plazma ve Trombositten Zengin Fibrin Yapılarının Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Hayvan Modelinde Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Kırıkkale: Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2013.
39. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology. Chapter 8. 10th Edition, New York: McGraw-Hill 2003: 144-146.
40. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R (Çeviren). 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2006.
41. Thibodeau GA, Patton KT. Anatomy and Physiology. 5th Edition, China: Mosby Inc 2003.
42. Cowin SC. Bone Mechanics Handbook. Section 1. 2nd Edition, Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Pres 2001: 1-68.
43. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. J Orthop Sci 2000; 5: 64-70.
44. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Fractures 2nd Edition, Philadelphia: Lippincott Co 1984; 1: 147-167.
45. University of Oklahoma Health Sciences Center Interactive Histology Atlas "Bone and bone formation". <https://www.ouhsc.edu/histology/> 09.05.2017
46. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Tissue Engineering. Quintessence books, Illinois 1999; 217-226.
47. Garg KA. Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants. 1th Edition, China: Quintessence Publishing 2004.
48. Ashammakhi N, Ferretti P. Topics in tissue engineering. Volume I (Electronic book). Chapter 7, 2003: 1-46.
49. Karadayı K. Maksillofasiyal Bölgedeki Kemik İçi Defektlerin Tedavisinde Plakattan Zengin Plazmanın Hidroksilapatit/Trikalsiyumfosfat Kemik Greft Materyali İle Birlikte Kullanılmasının Etkinliğinin Klinik ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.
50. Puzas FJ, Lewis GD. Biology of osteoclasts and osteoblasts in Orthopaedics. In: Bronner F, Worrell RV. (Editors). Principles of Basic and Clinical Science. Chapter 3. Boca Raton: CRC Press 1999.
51. Gil FTH, Gracia MAA, Pingarron MC, Jerez LB. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11: 47-51.
52. Kutsal YG. Osteoporoz. 2. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2005.
53. Bul Ö. Kemik İliği Kökenli Osteoblastik Liyofilizatın Kemik Hasarlarında Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitü Müdürlüğü, Biyoloji Anabilim Dalı, 2011.
54. Güzel N. Ginko Biloba (EGB 761)'nın Sıçanlarda Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 2011.
55. Durmuş AS. Köpeklerde Deneysel Maddi Kayıplı Femur Kırıklarında Koral ve Spongiyöz Ototreft Uygulamalarının Karşılaştırılması. Elazığ: Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, 2000.
56. Gartner LP, James LH. Color Atlas of Histology. Chapter 4. 3rd Edition, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins 2000: 73.
57. Ak US. Kırıklar Hakkında Genel Bilgiler. Ders Notları, Ankara: Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü, 2005.

58. Kılıçoğlu SS. Mikroskopik düzeyde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55(2): 143-150.
59. Reed AA, Joyner CJ, Brownlow HC. Human atrophic fracture non-unions are not avascular. J Orthop Res 2002; 20: 593-599.
60. Carter Dr, Van der Meulen MC, Beaupre GS. Mechanical factors in bone growth and development. Bone 1996; 18: 5-10.
61. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res 1998; 35 (5): 7-21.
62. Miller MD. Bone. In: Miller M. (Editors). Review of Orthopaedics. 4th Edition, Philadelphia: Saunders 2004.
63. Philips AM. Overview of the fracture healing cascade. Injury 2005; 36: 5-7.
64. Buckwalter JA, Einhorn TA, Marsh JL. Bone and joint healing. In: Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C. (Editors). Rockwood and Green's Fracture in Adults. 6th Edition, Philadelphia, Pennsylvania, ABD: Lippincott Williams&Wilkins 2006; 1: 297-330.
65. Ozan F. Propolisin Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.
66. Ege R. Travmatoloji. 5. baskı, Ankara: Bizim Büro Basımevi, 2001.
67. Brand RA, Rubin CT. Fracture healing. In: Evans CMcM. Surgery of the Musculoskeletal System. 2th Edition, New York: Churchill-Livingstone 1990: 93-114.
68. Sandy C, Marks JR, Steven N. Popoff: Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. The American Journal of Anatomy 1988; 83(1): 1-44.
69. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robin's pathologic basis of disease. 6th Edition, London: WB Saunders Co 1999.
70. Altunatmaz K. Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2004; 30(1): 141-147.
71. Çakmak M. Ortopedi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 1998.
72. Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: Favus MJ (Editor). Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism. Chapter 1. 4th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
73. Isogai Y, Akatsu T, Ishizuya T, et al. Parathyroid hormone regulates osteoblast differentiation positively or negatively depending on the differentiation stages. T Bone Miner Res 1996; 11: 1384-1393.
74. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science 1993; 260: 920-926.
75. O'Brien WJ. Dental Materials and Their Selection. 3rd Edition, Michigan: Michigan Quintessence Publishing Co, Inc 2002: 305-306.
76. Başarır S, Selek H, Yıldız Y, Sağlık Y. Ortopedik onkolojide kemik defektlerinin onarımında vaskülarize olmayan fibula greftleri. Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica 2005; 39(4): 300-306.
77. Öztürk BY. Tavşan Tibialarında Oluşturulan Segmenter Kemik Defektlerinin Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) Yüklenmiş Hidroksiapatit/Jelatin Matrisi İle Tedavisi. Uzmanlık Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 2010.
78. Von Heest A, Swiontkowski M. Bone-graft substitutes. Lancet 1999; 353: 28-29.
79. Guillemain G, Meunier A, Dallant P, et al. Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities. J Biomed Mater Res 1989; 23: 765-779.
80. Aichelmann ME, Yukna RA. Bone replacement grafts. The bone substitutes. Den Clin North Am 1998; 42: 491-503.

81. Muschler GF, Lane JM. Orthopedic Surgery. In: Habal MB, Reddi AH. (Editors). Bone Grafts and Bone Substitutes. Philadelphia: WB Saunders Co 1992; 375-407.
82. Stevenson S, Qing X, Davy DT, Klein L, Goldberg VM. Critical biological determinants of incorporation of non-vascularized cortical bone grafts. *J Bone Joint Surg* 1997; 79(A): 1-16.
83. Fleming JE JR, Cornell CN, Muschler GF. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 2000; 31(3): 357-374.
84. Durmuşlar C. Maksillofasiyal Bölgedeki Kemik İçi Defektlerin Tedavisinde Plateletten Zengin Plazmanın Demineralize Kemik Grefti İle Birlikte Kullanımının Etkinliğinin Klinik ve Radyolojik Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi, 2009.
85. Görmez U. Dental İmplant Çevresinde Cerrahi Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinde Sığır Kaynaklı Laktoferrinin Kemik Rejenerasyonuna Etkisi. Doktora Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
86. Kumar C. Nanoscale bioactive silicate glasses in biomedical applications in: Nanostructured Oxides. Wiley-VCH 2009; 203-216.
87. Habraken WJEM, Wolke JGC, Jansen JA. Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 234-248.
88. Ataoğlu T, Gürsel M. Periodontoloji. 3. Baskı, Konya: Damla Ofset AŞ, 1999.
89. Kurtar AS. Kraniektomi Defekt Onarımında Demineralize Kemik Matriksi Kullanılması ve Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Füzyon Üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi, İstanbul: GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Nöroşirurji Servisi, 2006.
90. Cranin AN, Klien M, Simon A. Atlas of Oral Implantology. New York: Thieme Medical Publishers, Inc, 1993.
91. Sandallı P, Güven Y. Oral İmplantolojide Biyomateryaller: Oral İmplantoloji. İstanbul: Erler Matbaacılık, 2000.
92. Durmuş AS, Can HN. Trombositten zengin fibrinin kemik iyileşmesi üzerine etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2015; 29(2): 91-95.
93. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 56-60.
94. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 45-50.
95. Mankin HJ, Gebhardt MC, Jennings LC, Springfield DS, Tomford WW. Long-term results of allograft replacement in the management of bone tumors. *Clin Orthop Relat Res* 1996; 324: 86-97.
96. Tomin E, Beksaç B, Lane ML. Amerika Birleşik Devletlerinde ortopedik girişimlerinde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış. *Journal of Arthroplasty&Arthroscopic Surgery* 2002; 13(2): 114-129.
97. Atay MH, Yılmaz FR. İki farklı kemik greftinin histopatolojik olarak incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2005; 32(4): 172-178.
98. Friedleander GE, Strong DM, Tomfort WW, Mankin HJ. Long-term follow-up of patients with osteochondral allografts. *Orthop Clin Nort Am* 1999; 538-588.
99. Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 389-398.
100. Schemitsch EH, Bhandari M. Bone healing and grafting. In: Koval KJ. (Editors). Orthopaedic knowledge update-7 AAOS 2002; 19-29.

101. Moucha CS, Einhorn TA. Enhancement of skeletal repair. In: Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG. (Editors). *Skeletal Trauma*. Vol 1. 3rd Edition, Philadelphia: Saunders Co 2003: 639-59.
102. Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S. Proportion of deproteinized bovine bone and autogenous bone effects bone formation in the treatment of calvarial defects in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; 38: 356-362.
103. Güven O, Saraçoğlu U. Solventlerle dehidrate olmuş kortikal kemik plakalar kullanarak osteopromotion tekniği ile kemik defektlerinin iyileşmesi. Pilot çalışma, Türkiye Klinikleri Dış Hekimleri Bilimleri Dergisi 2003, 9: 36-41.
104. Laurencin CT, Khan Y. "Bone graft substitute materials. Medicine. Instant Access to the minds of medicine". [www.emedicine.com/orthopaedic](http://www.emedicine.com/orthopaedic). Last Updated. 15.03.2005.
105. Chen ST, Darby IB, Adams GG, Reynolds EC. A prospective clinical study of bone augmentation techniques at immediate implants. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16: 176-184.
106. Lane JM. Bone graft substitutes. *West J Med* 1995; 163: 565-566.
107. Acil Y, Springer IN, Broek V, Terheyden H, Jepsen S. Effects of bone morphogenetic protein-7 stimulation on osteoblasts cultured on different biomaterials. *J Cell Biochem* 2002; 86: 90-98.
108. Wikesjö UM, Sorenson RG, Kinoshita A, Wozney JM. RHBMP-2/alpha BSM induces significant vertical alveolar ridge augmentation and dental implant osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002; 4: 174-182.
109. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *Totbid Dergisi* 2004; 3: 3-4.
110. Schwartz Z, Weesner T, Van Dijk S, et al. Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation. *J Periodontol* 2000; 71(8): 1258-1269.
111. Tudor C, Srour S, Thorwarth M, et al. Bone regeneration in osseous defects-application of particulated human and bovine materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105: 430-436.
112. Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontol* 2000 1999; 19: 74-86
113. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration: 1. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1993; 13 (1): 29-45.
114. Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med* 2006; 17(11): 967-78.
115. Qiu QQ, Ducheyne P, Ayyaswamy PS. New bioactive, degradable composite microspheres as tissue engineering substrates. *J Biomed Mater Res* 2000; 52(1): 66-76.
116. Ceyhan T, Günay V, Çapaoğlu A, Sayrak H, Karaca Ç. Production and characterization of a glass-ceramic biomaterial and in vitro and in vivo evaluation of its biological effects. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007; 41: 307-313.
117. Özsoy S. Biyoseramikler: Hidroxyapatit biocam. *Veteriner Cerrahi Dergisi* 1996; 2(1): 10-13.
118. Efeoğlu A. Periodontal tedavide kemik greftleri. *Akademik Dental Dışhekimliği Dergisi* 2002; 4: 1-13.
119. Keskin D, Tezcaner A, Bilgili H, Geçit MR. Değişik Kompozisyonlarda Biyocam/Kalsiyum Sülfat Temelli Kompozit Malzemelerin Geliştirilmesi, Mekanik ve Biyoetkinlik Özelliklerinin İncelenmesi. Proje No: 104M172. Ankara, 2007.
120. Sakalhoğlu U, Yavuz Ü. İnterproksimal kemikiçi defektlerin rekonstrüksiyonunda biyoaktif cam içerikli alloplastların etkinliğinin incelenmesi. *Hacettepe Üni Dış Hek Fak Derg* 2006; 30(1): 17-24.

121. Brunner TJ, Stark WJ, Boccaccini AR. Nanoscale bioactive silicate glasses in biomedical applications. In: Kumar C. (Editors). Nanostructured oxides. Weinheim, Germany: Wiley-VCH GmbH&Co. KGaA 2009: 203-20.
122. Kükürtçü B. Biyoaktif Cam ve Cam-Seramik Malzemelerin Üretimi ve Yapay Vücut Isısı İçerisindeki Davranımlarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
123. Macedo N, Matuda F, Macedo L, et al. Bone defect regeneration with bioactive glass implantation in rats. *J Appl Oral Sci* 2004; 12(2): 137-43.
124. Keith Jd JR. Localized ridge augmentation with a block allograft followed by secondary implant placement: A case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004; 24: 11-17.
125. Leonetti JA, Koup R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: Case report. *Implant Dent* 2003; 12: 217-226.
126. Glowacki J, Kaban LB, Sonis ST. Physiological aspects of bone repair using demineralized bone. In: Hurt TK, Heppinstall RB, Pines E, et al. (Editors). Soft and hard tissue repair. New York: Praeger 1984: 265-280.
127. Tomford WW, Mankin HJ. Bone banking, update on methods and materials. *Orthop Clin North Am* 1999; 30(4): 565-570.
128. Academy report. Position paper. Tissue banking of bone allografts used in periodontal regeneration. *J Periodontol* 2001; 72: 834-838.
129. Mellonig JT. Freeze-dried bone allografts in periodontal reconstructive surgery. *Dent Clin North Am* 1991; 35: 505.
130. Quintero G, Mellonig JT, Gambill VM, Pelleu GB Jr. A six month clinical evaluation of decalcified freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1982; 53: 726-30.
131. Gunther KP, Scharf HP, Pesch HJ, Puhl W. Osteointegration of solvent-preserved bone transplants in an animal model. *Osteologie* 1996; 5: 4-12.
132. Türkkan MT. Periodontal Kemik İçi Defektlerin Tedavisinde İki Farklı Kemik Greftinin Kollagen Membranla Kombine Kullanımının Etkinliğinin Klinik ve Radyografik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, İstanbul: Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.
133. Chappard D, Zhioua A, Grizon F, Basle MF, Rebel A. Biomaterials for bone filling: comparisons between autograft, hydroxyapatite and one highly purified bovine xenograft. *Bull Assoc Anat* 1993; 77(239): 59-65.
134. Cui FZ, Li Y, Ge J. Self-assembly of mineralized collagen composites. *Mater Sci Eng R* 2007; 57: 1-27.
135. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury* 2005; 36: 20-27.
136. Yiğiter Ö. Kemik Defektlerine Uygulanan Tip I Kollajenin Osteogeneze Spesifik Genlere Etkisi ve Histopatolojik İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 2010.
137. Harakas NK. Demineralized Bone-Matrix-Induced Osteogenesis. *Clin Orthop Rel Res* 1984; 188, 239-251.
138. Reddi AH, Huggins C. Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblast in adolescent rats. *Proc Nat Acad Sci USA* 1972; 69: 1601-1605.
139. Mulliken J, Glowacki J, Kaban L, Folkman J, Murray J. Use of demineralized allogenic bone implants for the correction of maxillofacial deformities. *Ann Surg* 1981; 194: 366-372.
140. Tiedman J, Garvin K, Kile T, Connolly J. The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. *Orthopedics* 1995; 18: 1153-1158.

141. Goldstein SA, Bonadio J. Potential role of direct gene transfer in the enhancement of fracture healing. *Clin Orthop* 1998; 355: 154-162.
142. Ripamonti U. Bone induction in nonhuman primates: An experimental study on the baboon. *Clin Orthop* 1991; 269: 284-294.
143. Gerhart TN, Kirker-Head CA, Kriz MJ, et al. Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 1993; 293: 317-326.
144. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton MW. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. *J Craniofac Surg* 2005; 16: 981-989.
145. Colnot C, Romero DM, Huang S, Helms JA. Mechanisms of action of demineralized bone matrix in the repair of cortical bone defects. *Clin Orthop Relat Res* 2005; 435: 69-78.
146. Swenson CL, Arnoczky SP. Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85: 323-332.
147. Skowronski PP, An YH. Bone graft materials in orthopaedics. *Musc Orthopaed J* 2003; 6: 58-66.
148. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84A(3): 454-64.
149. Ünlü F, Gürses N. Ana Hatlarıyla Periodontoloji. İzmir: Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları, 1997.
150. Özyiğit HA. Deneysel Olarak Oluşturulan Defektlerde Titanyum Partikülleri ve Değişik Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Ankara: GATA, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2007.
151. Atay MH, Kaya B, Atay Ç, Arslan SG. Demineralize kemik matriksinin osteoindüktivitesini etkileyen etmenler. *Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Dergisi* 2005; 9: 48-52.
152. Kawcak CE, Trotter GW, Powers BE, et al. Comparison of bone healing demineralized bone matrix and autogenous cancellous bone in horses. *Veterinary Surgery* 2000; 29: 218-226.
153. Guo MZ, Xia ZS, Lin LB. The mechanical and biological properties of demineralized cortical bone allografts in animals. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B(9): 791-794.
154. Özdemir MT. Kemik Defektlerinin Kompozit Biyomateryallerle Tamiri. Uzmanlık Tezi, Ankara: GATA, Askeri Tıp Fakültesi, 2003.
155. Oruç M. Kemik Defektlerinin Kapatılmasında Otojen Kemik Grefti, Demineralize Kemik Matriksi (DBM),  $\beta$  Trikalsiyum Fosfat ( $\beta$  TCP) ve Kombine DBM+Trikalsiyum Fosfat Kullanımının Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Ankara: Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, I. Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, 2008.
156. Moghadam HG, Sandor GK, Holmes HH, Clokie CM. Histomorphometric evaluation of bone regeneration using allogeneic and alloplastic bone substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 202-213.
157. Einhorn TA. Clinical applications of recombinant human BMPs: early experience and future development. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85: 82-88.
158. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2002; 60: 1018-1025.
159. Bender S, Rogalski J, Mills M, et al. Evaluation of demineralized bone matrix paste and putty in periodontal intraosseous defects. *Journal of Periodontology* 2005; 76(5): 768-777.

160. Bigham AS, Shadkhast M, Bigham Sadegh A, et al. Evaluation of osteoinduction properties of the demineralized bovine foetal growth plate powder as a new xenogenic biomaterial in rat. *Research in Veterinary Science* 2011; 91(2): 306-310.
161. Özdemir MT, Çakır M. Repair of long bone defects with demineralized bone matrix and autogenous bone composite. *Indian Journal of Orthopaedics* 2011; 45(3): 226-230.
162. Babbush C. Histologic evaluation of human biopsies after dental augmentation with a demineralized bone matrix putty. *Implant Dentistry* 2003; 12(4): 325-332.
163. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1987; 18(2): 213-225.
164. Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd Edition, Newyork: Blakiston Division, McGraw-Hill 1968.
165. Emery SE, Fuller DA, Stevenson S. Ceramic anterior spinal fusion. Biologic and biomechanical comparison in a canine model. *Spine* 1996; 21(23): 2173-2719.
166. Bruder SP, Fox BS. Tissue engineering of bone. *Clin Orthop* 1999; 367: 68-83.
167. Davy DT. Biomechanical issues in bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 1999; 30: 553-563.
168. Lewandrowski KU, Gressr JD, Wise DL, Trantolo DJ. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductives: a histologic evaluation of osteointegration of poly(propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. *Biomaterials* 2000; 21: 757-764.
169. Khorsand A, Rasouli Ghahroudi AAR, Motahhari P, Rezaei Rad M, Soleimani Shayesteh Y. Histological evaluation of Accell Connexus<sup>®</sup> and Bio-Oss<sup>®</sup> on quality and rate of bone healing: a single blind experimental study on rabbit's calvarium. *Journal of Dentistry (Tehran)* 2012; 9(2), 116-127.
170. Pappalardo S, Guarnieri R. Efficacy of Platelet-Rich-Plasma (PRP) and Highly Purified Bovine Xenograft (Laddec<sup>®</sup>) combination in bone regeneration after cyst enucleation: Radiological and histological evaluation. *Journal of Oral and Maxillofacial Research* 2013; 4(3): 3.
171. Sudağdan M. Test of biomaterials in biological systems (fullfillment disserrtation). Master of Science, İzmir: İzmir Institute of Technology, 2001.
172. Abdel Salam G, Ali AM, Ahmed OF, Ali IS. Histological study of the effect of bioactive glass on tibial bone repair in rats. *International Journal of Clinical and Developmental Anatomy* 2015; 1(2): 13-21
173. Kasabah S, Simunek A, Krug J, Lecaro MC. Maxillary Sinus Augmentation with Deproteinized Bovine Bone (Bio-Oss) and Impladent Dental Implant System. Part II. Evaluation of Deproteinized Bovine Bone (Bio-Oss) and Implant Surface. *Acta Medica* 2002; 45(4): 167-71.
174. Stephan EB, Jiang D, Lynch S, Bush P, Dziak R. Anorganic bovine bone supports osteoblastic cell attachment and proliferation. *J Periodontol* 1999; 70(4): 364-369.
175. Noubissi SS, Lozada JL, Boyne PJ et al. Clinical, histologic and histomorphometric evaluation of mineralized solvent-dehydrated bone allograft (Puros) in human maxillary sinus grafts. *J Oral Implantol* 2005; 31(4): 171-179.
176. Clockie CM, Moghadam H, Jackson MT, Sandor GK. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. *J Craniofac Surg* 2002; 13: 111-121.
177. Elsubeihi ES, Heersche JNM. Effects of postmenopausal osteoporosis on the mandible. In: Zarb G, Lekholm U, Albrektsson T, Tenenbaum H. (Editors). *Aging Osteoporosis and Dental Implants*. Quintessence Publishing Co, Inc, Illinois 2002: 207-215.
178. Khoshzaban A, Mehrzad S, Tavakoli V, et al. The comparative effectiveness of demineralized bone matrix, beta-tricalcium phosphate, and bovine-derived anorganic bone matrix on

- inflammation and bone formation using a paired calvarial defect model in rats. *Clinical Cosmetic and Investigational Dentistry* 2012; 3, 69-78.
- 179.Vogel M, Voigt C, Gross UM, Muller-Mai CM. In vivo comparison of bioactive glass particles in rabbits. *Biomaterials* 2001; 22(4): 357-362.
- 180.Hing KA, Wilson LF, Buckland T. Comparative performance of three ceramic bone graft substitutes. *The Spine Journal* 2007; 7(4): 475-490.
- 181.Koç B, Sarıtaş ZK. *Veteriner Anesteziyoloji ve Reanimasyon*. Malatya: Medipress Matbaacılık Yayıncılık, 2004.
- 182.Apaydın N, Kaya Ü, Koç B, Kaya A. Tavşanlarda acepromazine-propofol anestezisi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)* 2004; 26(1): 1-6.
- 183.Piermattei DL, Flo GL, DeCamp CE. Brinker, Piermattei and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair. 4th Edition, Philadelphia: Saunders, 2006.
- 184.Kaya Y, Yalım M, Bahçecitapar M, Baloş K. Comparison of applying particulate demineralized bone matrix (DBM), putty DBM and open flap debridement in periodontal horizontal bone defects. A 12-month longitudinal, multi-center, triple-blind, split-mouth, randomized, controlled clinical study. Part 1.Clinical and radiographic evaluation. *Journal of Oral Rehabilitation* 2009; 36: 524-534.
- 185.Durmuş AS. Kemik grefti yerine doğal bir biyoseramik: Deniz mercanı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2015; 29(2): 145-150.
- 186.Durmuş AS, Eröksüz H. Subkondral defektlerde otojen spongiyöz kemik grefti ve koral implant uygulamalarının karşılaştırılması: köpek diz ekleminde deneysel çalışma. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi* 2008; 6(3): 93-99.
- 187.Gosain AK. Bioactive glass for bone replacement in craniomaxillofacial reconstruction. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2004; 114(2): 590-593.
- 188.Cortez PP, Brito AF, Kapoor S, et al. The in vivo performance of an alkali-free bioactive glass for bone grafting, FastOsVRBG, assessed with an ovine model. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2017; 105: 30-38.
- 189.Silver IA, Deas J, Erecinska M. Interactions of bioactive glasses with osteoblasts in vitro: Effects of 45S5 Bioglass, and 58S and 77S bioactive glasses on metabolism, intracellular ion concentrations and cell viability. *Biomaterials* 2001; 22(2): 175-185.
- 190.Yuan J, Cui L, Zhang WJ, Liu W, Cao Y. Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous b-tricalcium phosphate. *Biomaterials* 2007; 28: 1005-1013.
- 191.Sculean A, Pietruska M, Arweiler NB, Auschill TM, Nemcovsky C. Four-year results of a prospective-controlled clinical study evaluating healing of intra-bony defects following treatment with an enamel matrix protein derivative alone or combined with a bioactive glass. *Journal of Clinical Periodontology* 2007; 34(6): 507-513.
- 192.Aitasalo K, Kinnunen I, Palmgren J, Varpula M. Repair of orbital floor fractures with bioactive glass implants. *Journal Oral Maxillofac Surg* 2001; 12: 1390-1395.
- 193.Duskova M, Kotova M, Sedlackova K, Leamerova E, Horak J. Bone reconstruction of the maxillary alveolus for subsequent insertion of a dental implant in patients with cleft lip and palate. *J Craniofac Surg* 2007; 18: 630-638.
- 194.Schmitt JM, Buck DC, Joh SP, Lynch SE, Hollinger JO. Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical-sized defects. *Journal of Periodontology* 1997; 68(11): 1043-1053.
- 195.MacNeill SR, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study. *Journal of Clinical Periodontology* 1999; 26(4): 239-245.
- 196.Elshahat A. Correction of craniofacial skeleton contour defects using bioactive glass particles. *Egypt J Plast Reconstr Surg* 2006; 30(2): 113-119.

197. Moon KN, Kim SG, Oh JS, et al. Evaluation of bone formation after grafting with deproteinized bovine bone and mineralized allogenic bone. *Implant Dentistry* 2015; 24(1): 101-105.
198. Al Ruhaimi KA. Bone graft substitutes: a comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16(1): 105-14
199. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop* 2000; 371: 10-27.
200. Audisio SA, Vaquero PG, Torres PA, et al. Radiological evaluation of radial bone defects treated with demineralized bone matrix in an experimental rabbit model. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2015; 18(2): 132-139.
201. Lindholm TC, Gao TJ, Lindholm TS. Granular hydroxyapatite and allogenic demineralized bone matrix in rabbit skull defect augmentation. *Ann Chir Gynaecol* 1993; 207: 91-98.
202. Miyamoto I, Tsuboi Y, Takahashi K, Hyon SH, Iizuka T. Enhancement of bone volume in guided bone augmentation by cell transplants derived from periosteum: An experimental study in rabbit calvarium bone. *Clinical Oral Implants Research* 2004; 15(3): 308-314.
203. Dumas A, Moreau MF, Gherardi RK, Basle MF, Chappard D. Bone grafts cultured with bone marrow stromal cells for the repair of critical bone defects: an experimental study in mice. *J Biomed Mater Res A* 2009; 90(4): 1218-29.
204. Kobayashi H, Turner AS, Seim HB, Kawamoto T, Bauer TW. Evaluation of a silica-containing bone graft substitute in a vertebral defect model. *Journal of Biomedical Materials Research* 2010; 92(2): 596-603.
205. Valentini P, Abensur D, Densari D, Graziani JN, Hammerle C. Histological evaluation of Bio-Oss® in a 2 stage sinus floor elevation and implantation procedure. *Clinical Oral Implants Research* 1998; 9(1): 59-64.
206. Merx M, Maltha J, Freihofer H, Kuijpers-Jagtman A. Incorporation of particulated bone implants in the facial skeleton. *Biomaterials* 1999; 20(21): 2029-2035.
207. Melloning JT, et al. Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1976, 47: 125.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Diyarbakır'da tamamladım. 2003 yılında Diyarbakır Anadolu Lisesi'nden mezun oldum. 2005 yılında başladığım Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi lisans eğitimimi 2010 yılında tamamladım. 2011 bahar döneminde Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. 2011 yılından bu yana Bağlar İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü'nde veteriner hekim olarak görev yapmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.