

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

**TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN
KEMİK DEFECTLERİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNDE
DEĞİŞİK GREFT MATERYALLERİ VE
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN'İN ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

HAVVA NUR CAN

ELAZIĞ, 2013

ONAY SAYFASI

Doç.Dr.Oktay BURMA
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

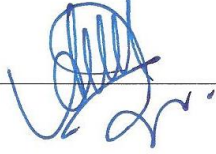

Prof.Dr. İbrahim CANPOLAT

Cerrahi (Veteriner) Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden ~~Yüksek Lisans~~/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ali Said DURMUŞ

Danışman



Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

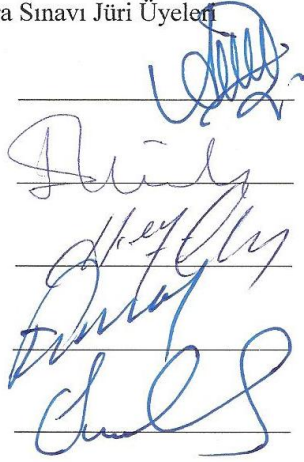
Prof.Dr. Ali Said DURMUŞ

Prof.Dr. Emine ÜNSALDI

Prof.Dr. Hamit YILDIZ

Prof.Dr. Fahrettin ALKAN

Prof.Dr. Servet KILIÇ



Fazilet-Mehmet DAĞISTANLI

Ve

Mehmet ÇINAR’a

ithafen

TEŞEKKÜR

Bu çalışma boyunca sabırla bana her türlü yardım ve desteklerini sağlayan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali Said DURMUŞ'a, doktora eğitimim boyunca ve tezin tüm aşamalarında yardımlarını gördüğüm Anabilim Dalı Başkanım ve Anabilim Dalı tüm öğretim üyelerine ve asistan arkadaşlarıma, tez jürisindeki öğretim üyelerine ayrıca deney aşamasında bireysel katkılarından dolayı Arş. Gör. Sema ÇAKIR'a, çalışmanın patolojik değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ali Osman ÇERİBAŞI'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olarak beni destekleyen sevgili eşim R. Tuna CAN'a, ve sevgili ailem Mehmet Gazi, Mihriban, Orhan Gazi, Bilge ÇINAR'a, Mehmet Zülküf, Gülten, Süha CAN, a Mualla, Suna, M.Fazıl DAĞISTANLI'ya Leyla, Hakan, Kutay ÖZSÖZEN' e tüm ÇINAR ve DAĞISTANLI ailelerine sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	TABLolar	vii
	ŞEKİLLER	viii
	KISALTMALAR	x
1.	ÖZET	xi
2.	ABSTRACT	xii
3.	GİRİŞ	1
3.1.	KEMİK DOKU	4
3.1.1.	Kemik Dokunun Makroskopik Yapısı	5
3.1.2.	Kemik Dokunun Mikroskopik Yapısı	7
3.1.2.1.	Kemik Matriksi	8
3.1.2.1.1.	Organik Matriks	9
3.1.2.1.2.	İnorganik Matriks	9
3.1.2.2.	Kompakt Kemik	10
3.1.2.3.	Spongiyöz Kemik	11
3.1.2.4.	Periost (Periosteum)	12
3.1.2.5.	Endost (Endosteum)	13
3.1.2.6.	Kemik Hücreleri	13
3.1.2.6.1.	Osteoprogenitör Hücreler	13
3.1.2.6.2.	Osteoblastlar	14
3.1.2.6.3.	Osteositler	15
3.1.2.6.4.	Osteoklastlar	15
3.1.3.	Kemik Oluşumu (Osteogenez)	16
3.1.3.1.	Zarlararası Kemikleşme (İntramembranöz Ossifikasyon)	17
3.1.3.2.	Kıkırdak İçi Kemikleşme (Endokondral Ossifikasyon)	18
3.1.3.3.	Kemik İyileşmesinin Temelleri	18
3.1.3.3.1.	Hematoma ve inflamasyon fazı	20
3.1.3.3.2.	Anjiogenesis ve kartilajinöz kallus fazı	21
3.1.3.3.3.	Kartilaj Kalsifikasyonu Fazı	22
3.1.3.3.4.	Kemik Formasyonu (Ossöz Kallus) Fazı	22
3.1.3.3.5.	Remodeling (Yeniden Şekillenme) Fazı	23
3.1.3.3.6.	Kemik İyileşmesinin Komplikasyonları	24
3.2.	TRANSPLANTASYON	25
3.2.1	Transplantasyon ve İmmun Sistem	26
3.2.2.	Transplantasyonun Temel Kuralları	26
3.2.3.	Greftlerin İndüktif Etkilerine Göre Sınıflandırılması	27
3.2.3.1.	Osteogenez	27
3.2.3.2.	Osteoindüksiyon	27
3.2.3.3.	Osteokondüksiyon	27
3.2. 4.	Greft Tipleri	27
3.2.4.1.	Otojen Greftler	29
3.2.4.2.	Homojen Greftler	30
3.2.4.2.1.	Allogreftler	30
3.2.4.2.1.	İzogreftler	30
3.2. 4.3.	Heterojen (ksenogreft) Greftler	31
3.2. 4.4.	Alloplastik Greftler (biyomateryaller)	31

3.2. 4.4.1.	Biyotolere Maddeler	31
3.2. 4.4.2.	Biyoinert Maddeler	31
3.2. 4.4.3.	Biyoaktif Maddeler	32
3.2. 4.4.3.1.	Hidroksiapatit (HA)	32
3.2. 4.4.3.2.	Trikalsiyum Fosfat (TCP)	33
3.2. 4.4.3.3.	Koral	34
3.2. 4.4.4.	Büyüme Faktörleri ve Sitokinler	35
3.2. 4.4.4.1.	Kemik Proteinleri	36
3.2. 4.4.4.2.	Tombositten Zengin Plazma (TZP)	37
3.2. 4.4.4.3.	Tombositten Zengin Fibrin (TZF)	38
3.2. 4.4.4.3.1.	TZF'deki Trombositlerden Salgılanan Sitokinler	41
3.2. 4.4.4.3.2.	TZF'deki Lökositler Tarafından Salgılanan Sitokinler	41
3.2. 4.4.4.3.3.	Trombositten Zengin Fibrinin Avantajları	42
4.	GEREÇ VE YÖNTEM	43
4.1.	Hayvanlar ve Protokol Dizaynı	43
4.2.	Greft Materyalleri	44
4.3.	Anestezi	48
4.4.	Operatif prosedür	48
4.5.	Radyolojik Muayeneler	51
4.6	Histopatolojik Muayeneler	52
5.	BULGULAR	53
5.1.	Greft Materyallerine Ait Bulgular	53
5.1.1.	Koral'e Ait Bulgular	53
5.1.2.	HA'e Ait Bulgular	53
5.1.3.	TCP'a Ait Bulgular	53
5.1.4.	TZF'ye Ait Bulgular	54
5.2.	Operasyon Bulguları	54
5.3.	Klinik Bulgular	55
5.4.	Radyolojik Bulgular	55
5.4.1.	Postoperatif Radyolojik Bulgular	55
5.4.2.	Postoperatif 15. Gündeki Radyolojik Bulgular	60
5.4.3.	Postoperatif 30. Gündeki Radyolojik Bulgular	60
5.4.4.	Postoperatif 45. Gündeki Radyolojik Bulgular	62
5.4.5.	Postoperatif 60. Gündeki Radyolojik Bulgular	63
5.5.	Histopatolojik Bulgular	65
5.5.1.	Makroskobik Bulgular	65
5.5.1.1.	Otuz Günlük Gruplardaki Makroskobik Bulgular	65
5.5.1.2.	Altmış Günlük Gruplardaki Makroskobik Bulgular	67
5.5.2.	Mikroskobik Bulgular	68
5.5.2.1.	Otuz Günlük Gruplardaki Histopatolojik Bulgular	68
5.5.2.2.	Altmış Günlük Gruplardaki Histopatolojik Bulgular	73
6.	TARTIŞMA	79
7.	KAYNAKLAR	97
8.	ÖZGEÇMİŞ	105

TABLolar

- Tablo 1.** Bauer ve Müschler'e göre kemik greftlerinin sınıflandırılması.
- Tablo 2.** Kemik esaslı greft materyalleri.
- Tablo 3.** Kemik esaslı olmayan kemik grefti materyalleri.
- Tablo 4.** Büyüme faktörleri ve sitokinlerin hedef dokuları ve etkileri.
- Tablo 5.** İzleme süreleri ve uygulandıkları gruplara göre defekt sayıları.
- Tablo 6.** Modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skrlama kriterleri.
- Tablo 7.** Lane ve Shandu'ya göre postoperatif 30. gündeki radyografik değerlendirmeler.
- Tablo 8.** Lane ve Shandu'ya göre postoperatif 60. gündeki radyografik değerlendirmeler.

ŞEKİLLER

- Şekil 1.** Kompakt kemik yapısı görülmektedir.
- Şekil 2.** Yassı kemik. Kompakt kemik ile sınırlanmış spongiyöz kemik yapısı görülmektedir.
- Şekil 3.** Pıhtılaşma mekanizması
- Şekil 4.** Aktif trombositler renkli ve normal SEM
- Şekil 5.** TZF ve SEM görüntüleri
- Şekil 6.** Koral greft (*Madracis* sp.)
- Şekil 7.** Uygulamaya hazır koral greft (*Madracis* sp.)
- Şekil 8.** Kullanılan hidroksiapatit greft materyali
- Şekil 9.** Kullanılan trikalsiyum fosfat greft materyali
- Şekil 10.** Trombositten zengin fibrin
- Şekil 11.** Trombositten zengin fibrinin koral ile karıştırılmış hali
- Şekil 12.** Trombositten zengin fibrinin HA ile karıştırılmış hali
- Şekil 13.** Trombositten zengin fibrinin TCP ile karıştırılmış hali
- Şekil 14.** Tibia'nın medial yüzü ve tibiada oluşturulan defektler
- Şekil 15.** Kontrol grubu ve koral uygulanmış defekt
- Şekil 16.** HA uygulanmış defekt ve TCP uygulanmış defekt
- Şekil 17.** TZF uygulanmış defekt ve koral+TZF uygulanmış defekt
- Şekil 18.** HA+TZF uygulanmış defekt ve TCP+TZF uygulanmış defekt
- Şekil 19.** Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte koral uygulanmış, distal defekt kontrol grubu
- Şekil 20.** 45 ve 60. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte koral uygulanmış, distal defekt kontrol grubu
- Şekil 21.** Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte TZF, distal defekte TZF+koral uygulanmış görünüm
- Şekil 22.** 45 ve 60. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte TZF, distal defekte TZF+koral uygulanmış görünüm
- Şekil 23.** Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte HA, distal defekte HA+TZF uygulanmış görünüm
- Şekil 24.** 45 ve 60. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte HA, distal defekte HA+TZF uygulanmış görünüm
- Şekil 25.** Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte TCP, distal defekte TCP+TZF uygulanmış görünüm
- Şekil 26.** 45 ve 60. günlerde alınan radyografilerde proksimal defekte TCP, distal defekte TCP+TZF uygulanmış görünüm.
- Şekil 27.** Radyografik skorlamanın grafik halindeki gösterimi
- Şekil 28.** Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. Ok başları: Kıkırdak doku, F: Fibröz doku, H-E Bar=200µ
- Şekil 29.** Koral grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik C: Koral, H-E Bar=200µ
- Şekil 30.** HA grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. Ok başı: Kıkırdak doku, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ

- Şekil 31.** TCP grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, TCP: Trikalsiyum fosfat, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ
- Şekil 32.** TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ
- Şekil 33.** Koral + TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. C: Koral, F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ
- Şekil 34.** HA+TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. Ok başı: Kıkırdak doku, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ
- Şekil 35.** TCP + TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, TCP: Trikalsiyum fosfat, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ
- Şekil 36.** Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik, Ok başı: Kıkırdak doku, H-E Bar= 200µ
- Şekil 37.** Koral grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, C: Koral, H-E Bar=200µ
- Şekil 38.** HA grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ
- Şekil 39.** TCP grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, TCP: Trikalsiyum fosfat, H-E Bar=200µ
- Şekil 40.** TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ
- Şekil 41.** Koral + TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, C: Koral, H-E Bar=200µ
- Şekil 42.** HA+TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ
- Şekil 43.** TCP + TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, TCP: Trikalsiyum fosfat, H-E Bar=200µ

KISALTMALAR

HA	Hidroksiapatit,
TCP	Trikalsiyum fosfat
α-TCP	Alfa trikalsiyum fosfat
β-TCP	Betatrikalsiyum fosfat
TZF	Trombositten zengin fibrin
TZP	Trombositten zengin plazma
TGF-β	Transforming Growth Factor beta
IGF-I	Insulinlike Growth Factor I
IGF-II	Insulinlike Growth Factor II
FGF	Fibroblast Growth Factor
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PDAF	Platelet Derived Angiogenesis Factor
PF-4	Platelet Factor 4
BMP	Bone Morphogenic Protein
OP	Osteoindüktif Protein
PTH	Parathormon
IL-1β	İnterlökin-1 β
IL-4	İnterlökin 4
IL-6	İnterlökin-6
PDAF	Platelet Derived Angiogenesis Factor
PDEGF	Platelet Derived Epidermal Growth Factor
EGF	Epidermal Growth Factor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
FGF	Fibroblast Growth Factor
TNF-α	Tümör Nekroze Edici Faktör alfa
GMM	General Medikal Marete
Cr-Co	Krom-kobalt
rad	Bir dokuya 100 Erg'lik enerji veren radyasyon birimi
kv	Kilo volt
mA	Mili amper
cm	Santi metre
mm	Mili metre
nm	Nano metre
μm	Mikro metre
Å	Angstrom
°C	Santigrad derece
ppm	<i>Parts per million (milyonda bir birim)</i>
IU	İnternasyonal ünite
ml	Mili litre
dk	Dakika
g	Gravity (yer çekimi ivmesi)
mg/kg	Mili gram/kilo gram
XRD	X-ray Diffraction
sp	Species (cins)
PVC	Polivinil klorür
SEM	Scanning

1. ÖZET

TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KEMİK DEFİKTLERİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNDE DEĞİŞİK GREFT MATERYALLERİ VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN'İN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Kritik boyuttaki kemik defektlerinde iyileşmeyi sağlamak için greft kullanılması zorunluluğu bilinmektedir. Bu amaçla kullanılan birçok kemik greft materyali bulunmaktadır. Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde iyileşmeyi hızlandırmak için kullanılan doğal koral, hidroksiapatit (HA), trikalsiyum fosfat (TCP) ve trombosit zengin fibrin (TZF) uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması ve elde edilen bulguların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 24 adet Yeni Zellanda tavşanı kullanıldı. Tavşanların her iki tibiasının proksimal metafizine yakın mesafede ikişer adet olmak üzere her tavşanda dört adet tibial defekt oluşturuldu. Oluşturulan 96 adet defektin on iki adedi boş bırakılarak kontrol grubu olarak değerlendirildi. Geriye kalan defektler her birinden on iki adet olmak üzere koral, HA, TCP, TZF, koral+TZF, HA+TZF ve TCP+TZF ile dolduruldu. Klinik ve radyografik muayeneler operasyondan hemen sonra, 15, 30, 45 ve 60. günlerde gerçekleştirildi. Postoperatif 30. ve 60. günlerde ise her bir gruptan altı adet defekt bulunacak şekilde tavşanlar kurban edilerek histopatolojik muayeneleri gerçekleştirildi.

Radyolojik ve histolojik muayeneler sonucunda TZF kullanılan defektlerdeki kemik iyileşmesinin daha iyi olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, TZF'nin erken dönem kemik iyileşmesini önemli miktarda artırdığı, iyi bir greft materyali olarak rahatlıkla kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kemik iyileşmesi, greft, koral, hidroksiapatit (HA), trikalsiyum fosfat (TCP), trombosit zengin fibrin (TZF).

2. ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS OF DIFFERENT GRAFT MATERIALS AND PLATELET RICH FIBRIN ON HEALING OF EXPERIMENTALLY CONSTITUTED BONE DEFECTS IN RABBITS

The regeneration of critical size bone defects is known to be an obligation to use the graft. Many graft materials are used for this purpose. This study aimed at investigating the effect of natural coral, hydroxyapatite (HA), tricalcium phosphate (TCP) and platelet-rich fibrin (PRF) used as bone healing accelerator in experimentally induced bone defects and comparing the finding obtained.

In the study, 24 New Zealand rabbits were used. A total of four defects, two from the upper proximal metaphysis of both tibia of each rabbits were created. Twelve of ninety-six defects performed were left empty to serve as the control group and the remaining defects were filled with coral, HA, TCP, PRF, coral+PRF, HA+PRF and TCP+PRF, twelve for each. Clinical and radiographic examinations, immediately and the 15th, 30th, 45th and 60th days after the operation were performed. Postoperative 30th and 60th days, the rabbits, in a way each group containing six defects, were sacrificed and histopathological examinations were performed.

Radiological and histological examinations showed that the bone healing in PRF defects was better than other.

As a result, PRF was observed to considerably improve early bone healing, which suggested that it can readily be used as a good graft material.

Keywords: Bone healing, graft, coral, hydroxyapatite (HA), tricalcium phosphate (TCP), platelet-rich fibrin (PRF).

3. GİRİŞ

Kemikler organizmanın dinamik, mekanik ve metabolik düzeni içinde kendine özgü yapısı yüksek oranda özelleşmiş, hücreler arası madde üzerine inorganik tuzların çökeldiği, sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikleri olan bağ dokudan oluşan birimlerdir. İskelet sistemini oluşturarak şekil vermenin yanında hayati organları dış etkilerden korumakta, kaslarla beraber bütün mekanik fonksiyonlarda, içerdği kemik iliği ile kan hücrelerinin üretiminde ve kalsiyum fosfor metabolizmasında da önemli rol oynamaktadır. Yapıları diğer dokulardan çok daha sert ve kuvvetli olmalarına rağmen travma nedeniyle kolayca kırılabilmekte, enfeksiyon veya tümöral lezyonların zorunlu rezeksiyonu ile geniş defektler açılabilir.

Bu özelliklerinin yanında kemik doku yüksek rejenerasyon kapasitesi ile skar oluşturmadan kendini tamamen yenileyebilmektedir. Ancak bu süre diğer dokularla kıyaslandığında çok uzun zaman almakta, doğru tedavi edilmediğinde defekt büyüklüğüne göre bu iyileşme aylarca sürmekte hatta hiç iyileşmeyebilmektedir. Hayati organların yakınındaki defektler organları savunmasız bırakıp ölüme neden olabileceği gibi diğer organlardakilerde yaşam kalitesini ciddi olarak düşürmekte ve kozmetik deformasyonlara neden olabilmektedir. Bu durum araştırmacıları iyileşme sürecini başlatacak, hızlandıracak veya rejenerasyon kalitesini artıracak pek çok tedavi yöntemi aramaya yönlendirmiştir. Bu yöntemler arasında geniş defektlerde kemik greftlerinin kullanılması en yaygın metottur. Kemik greftlerinin temel görevi, yeni

kemik dokusu, yumuşak dokular, vasküler ve diğerk metabolik bileşenlerin rejenerasyonu için bir çatı oluşturmaktır.

Kemik defektlerinin onarılmasında literatürlerde bulunan ilk greft uygulaması milattan önce 3000 yıllarında kafatasında altın, gümüş plakalar veya deniz kabuklarıyla ve sadece defektin kapatılması amacıyla yapılmıştır (1,2). 1682 yılında Jobi Meekren bir askerin kafatasındaki bir defekti köpekten aldığı kafatası kemiğı ile onarmıştır (3-8). 1739 yılında Duhamel periostun kemik iyileşmesine katkıda bulunma özelliğini subperiostal yerleştirilen tellerin kemik ile örtölmesiyle göstermiştir (9-11). Literatürlerde 1809 ve 1810 yıllarında ilk başarılı kemik grefti uygulamasının hayvanların kraniumlarında uygulandığı bildirilmiştir (3,6,12). 1864 yılında Haller epifiz tabakasının kemiğın büyümesindeki önemini vurgularken, Gegenbauer ilk kez osteoblast hücrecini tanımlamıştır. Nussbaum ilk başarılı otogreft uygulamasını insanda gerçekleştirmiştir (11,13). 1881 yılında Macewen bir çocuğın humerusundaki osteomyelitisin rezeksiyonu ile oluşan geniş defekte allogreft uygulaması yapmıştır. 1889 yılında kemik ve periost grefti kullanılarak parietal bir defektin onarıldığı, 1914 yılında Manekir'in kranial defektte ilium kaynaklı greft uygulanmasını başlattığı, 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 (6,14,15).

Greft materyalleri otogreft, allogreft, heterogreft ve alloplastik materyaller olmak üzere dört ana grupta toplanırlar. Otogreftlerin ikinci şirurjikal uygulamaya yol aması, allogreftler ve heterogreftlerin hastalık transferi ve immunolojik cevap oluşturmaları gibi dezavantajlarının belirlenmesiyle

hidroksiapatit (HA), trikalsiyumfosfat (TCP), biocam (Bioglass), metal, karbon bileşikleri, seramikler ve akrilikler gibi birçok materyal kemik grefti yerine kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Bunlardan başka kemiğe çok benzeyen yapısı ile koral (deniz mercanı) doğal haliyle veya hidroksiapatit (HA) formunda, reaksiyon oluşturmaması, kolay elde edilmesi ve ekonomik olması ile kalsiyum kaynaklı greft materyalleri arasına girmiştir. Ancak otojen greftler hariç greft materyallerinin çoğunun sadece osteokondüktif olması araştırmacıları osteoindüksiyon etkisine de sahip greft materyalleri arayışına sevk etmiştir.

Yapılan araştırmalar (2,5,11,16-19) ile kemik morfojenik proteinleri (BMP-Bone Morphogenic Proteins), sitokinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörleri, trombositten zengin plazma (TZP) ve trombositten zengin fibrin (TZF) gibi yeni osteoindüktif materyaller kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırmak amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. Veteriner ortopedinin en büyük problemlerinden biri olan geniş kemik defektlerinin onarımında doğru, hızlı, kolay ve ekonomik tedavinin sağlanabilmesi için kullanılacak greft materyalinin belirlenmesi çok önemli bir işlemdir.

Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar bulunmasına karşın tri-kalsiyum fosfat (TCP), hidroksiapatit (HA) ve doğal koral gibi osteokondüktif greft materyallerinin sitokinler ve fibrin ile beraber kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliğinin birlikte incelendiği ve karşılaştırmasının yapıldığı literatürlere rastlanmamış olması nedeniyle “*Tavşanlarda Deneyisel Olarak Oluşturulan Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerinde Değişik Greft Materyalleri ve Trombosit Zengin Fibrin’in Etkilerinin İncelenmesi*” konusunun doktora çalışması olarak değerlendirilmesi uygun bulunmuştur.

Bu çalışma ile kullanılan greft materyalleri arasından hangisinin kemik onarımında daha etkili olduğunun tespiti yapılacak ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ile daha sonra gerçekleştirilecek çalışmalar için araştırmacılara kapsamlı bir kaynak oluşturacağı amaçlanmaktadır.

3.1. KEMİK DOKU

İskelet ve hareket sisteminin temel yapısal birimi olan kemik doku kendine özgü yapısıyla gerçek anlamda bir çatı oluşturarak vücudu tam olarak destekleyerek kaslar, ligamentler, tendolar ve kıkırdak dokuyla birlikte bütün motor fonksiyonlarda önemli rol oynar. Kemikler üzerine yapışan kas ve tendolar ile harekete yardımcı olurlar, kendilerine iletilen kuvveti absorbe ederek dağıtır, kafatası ve göğüs kafesini şekillendirerek beyin, kalp ve akciğerler gibi hayati önemi olan yumuşak dokulu organları dış etkenlerden korurlar. Sert yapısı ile gerçekleştirdiği bu fonksiyonlarının yanında kemik iliği ile kan hücrelerinin yapımına katılmak, içerdiği yüksek orandaki kalsiyum, fosfat ve diğer bazı iyonların kan konsantrasyonunu dengelemek için iyonların kontrollü olarak salınmalarını veya depolanmalarını sağlamak gibi metabolik görevleri de bulunmaktadır.

Metabolik olarak organizmanın en aktif dokularından biri olan kemiğin içerisinde özelleşmiş kemik hücreleri ve bu yapıların metabolik ihtiyaçlarını karşılayan ve işlevlerini idare eden son derece yoğun vasküler ve nöral ağlar yerleşmektedir. Bu kompleks yapı kollagen ağ içine yerleşen hücrelerin, damarların, sinirlerin etrafında mineral tuzların bir sistem oluşturarak yerleşmesiyle şekillenir (5,20-25).

Kemik doku dişin mine tabakasından sonra dentin ile birlikte organizmanın en sert dokusudur. Güçlü ve sert olmasına karşın çok özel

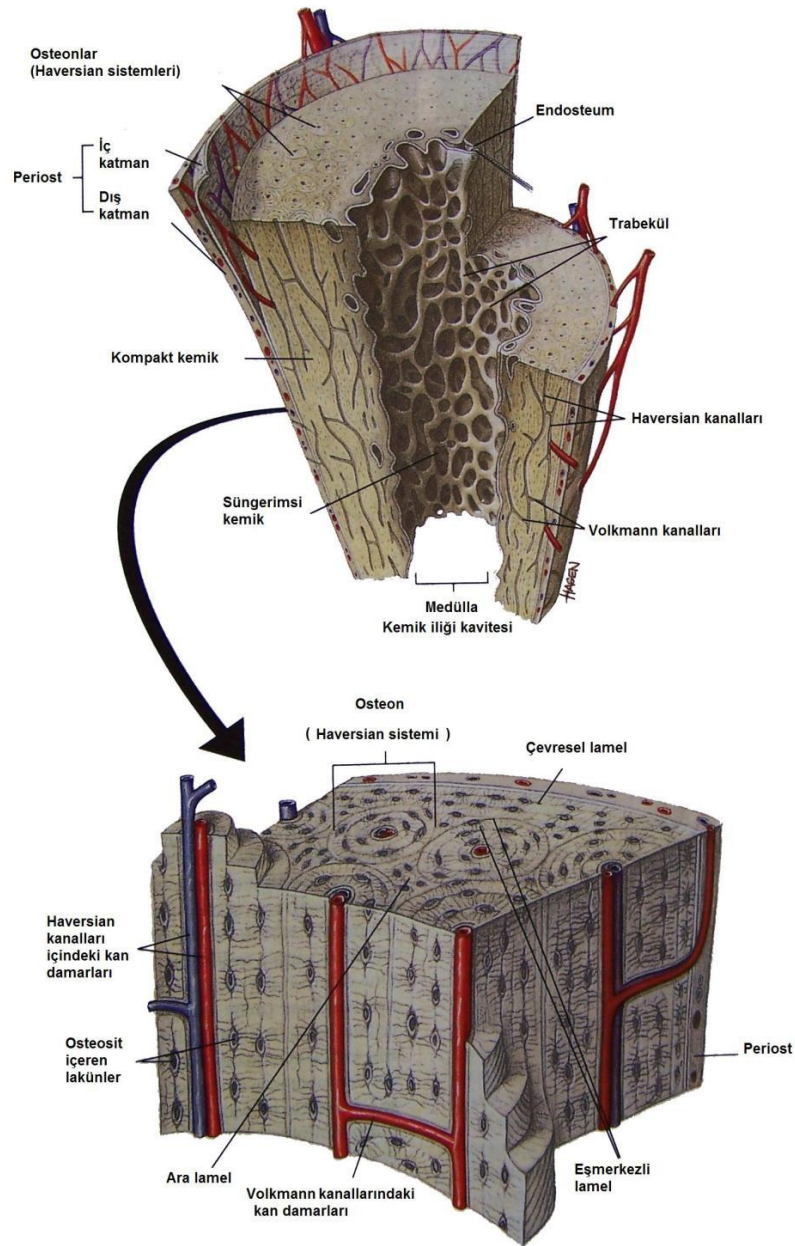
yapısından dolayı son derece hafif olan kemikler yüksek rejenerasyon kapasitesiyle yaşam boyu yıkılıp yeniden yapılan, herhangi bir skar dokusu oluşturmada kendine özel bir rejenerasyon gösteren dinamik bir dokudur. Sürekli olarak gerçekleşen yapım ve yıkım olaylarına bağı olarak yapısındaki mineraller, yaşam boyunca aktif olarak dönüşüm geçirerek her yıl kemiklerdeki kalsiyumun yeni doğanlarda %100'ü, erişkinlerde %18'i yenilenmektedir (23,26).

3.1.1. Kemik Dokunun Makroskopik Yapısı

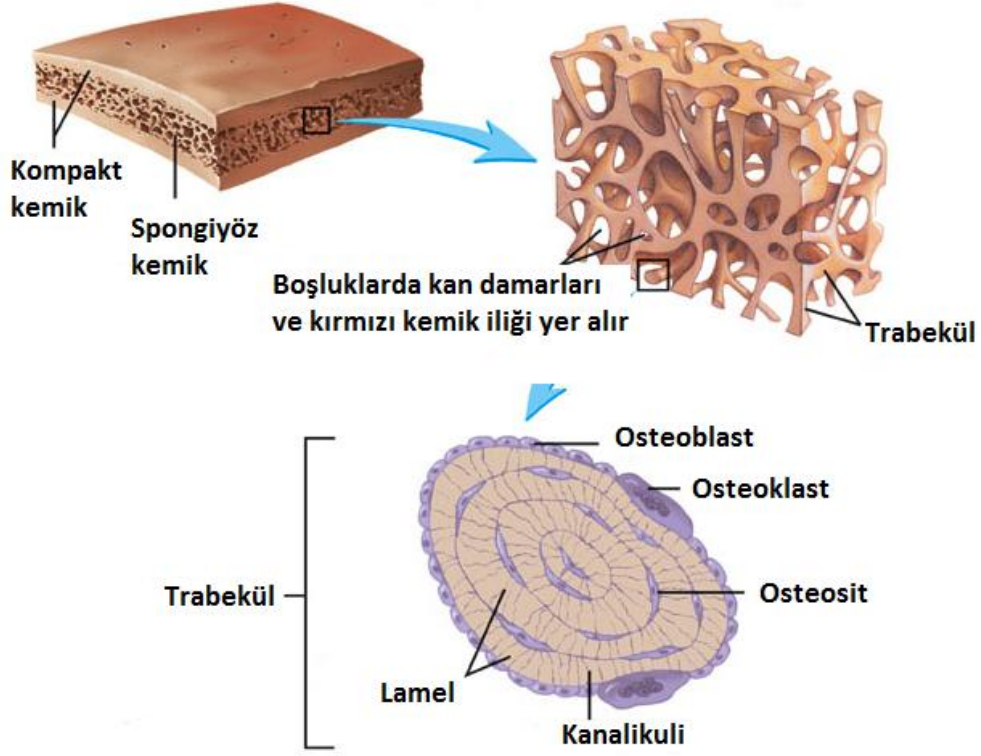
Kemikler yassı, uzun veya kısa gibi farklı şekil ve büyüklükte olmalarına rağmen *kompakt* (kortikal, sert, lamellar) kemik ve *spongiyöz* (kansellöz, süngerimsi, trabeküler) kemik olmak üzere temel olarak iki makroskopik yapı görülmektedir. Uzun kemikler anatomik olarak, merkezde diyafiz ve kemik sonlarında epifizden (sekonder ossifikasyon merkezi) oluşur. Kompakt kemik uzun kemiklerin diyafizini oluştururken, uzun kemiklerin metafiz ve epifiz bölgeleri ile tüm kısa ve yassı kemiklerin dış yüzeyini ince bir tabaka halinde kaplar. Uzun kemiklerin diyafiz bölgesinde merkezde kompakt kemik ile çevrili sirküler ve silindirik diyafiz boyunca uzanan bir boşluk bulunur. Bu boşlukta adipozal hücrelerden zengin sarı kemik iliği yerleşmiştir. Epifiz ve diyafiz birleşiminde epifiz plağı denilen geniş bir büyüme bölgesi bulunur. Bu bölgede normal uzunlamasına büyüme gerçekleşir. Yassı kemiklerde epifiz plağı bulunmaz. Spongiyöz kemik ise uzun kemiklerin metafiz ve epifiz bölgelerinde, kısa ve yassı kemiklerin merkezinde kompakt kemik ile çevrelenmiş şekilde bulunmaktadır (6,11,20-22,27-30).

Kompakt kemik makroskopik olarak düz ve boşluksuz bir yapıda görünmesine karşın daha detaylı şekilde incelendiği zaman çok düzenli bir damar

ve kanallar sistemine, lamelli bir yapıya sahip olduğu görülmektedir (Şekil 1). Kompakt kemik toplam iskelet kütlesinin %75 - %80'ini oluşturur. Spongiyöz kemik ise, tüm kemik kitlesinin %20'sini oluşturur ve kemik lamelleri çok daha aralıklı içleri kırmızı kemik iliği ile dolu boşluklu, düzensiz ince kemik trabeküllerinin şekillendirdiği gözle görülebilen birbiriyle bağlantılı süngerimsi bir ağ yapı şeklinde görülür (6,11,20-22,27-31).



Şekil 1. Kompakt kemik yapısı görülmektedir (32).



Şekil 2. Yassı kemik. Kompakt kemik ile sınırlanmış spongiyöz kemik yapısı görülmektedir (32).

3.1.2. Kemik Dokunun Mikroskopik Yapısı

Kemik dokuda mikroskopik olarak *immatür* (woven, nonlamellar, primer, faz I, örgü, dokuma) kemik, *kompozit* kemik ve *matür* (lamellar, sekonder, faz II) kemik olmak üzere üç ayrı kemik türü görülmektedir.

Faz I kemik olarak ta bilinen immatür kemik sadece embriyonik gelişme döneminde ve kırık iyileşmesi sırasında kallusta, hipertroidizm ve paget hastalığında (osteitis deformans) gözlenmektedir. Kırık iyileşmesi sırasında çok çabuk oluşur ve önemli rol üstlenir, non-organize ve yumuşak bir yapıda olması nedeniyle dayanıklılığı çok azdır. Düzensiz vasküler boşluklardan meydana gelen immatür kemik dokusu dağınık, düzensiz demetler halinde kollajen lifler ve

kemik hücreleri ile kaplanmıştır. Doku hücrelerden oldukça zengin olmakla beraber yeterince kalsifiye olmamıştır mineral yoğunluğu matür kemiğe göre oldukça yetersizdir. Bu kemik hızlı bir şekilde rezorbe olurken yerini Faz II yani matür kemik almaktadır (5,33).

İmmatür kemiğin ve matür kemiğe dönüşümü sırasında görülen kemik kompozit kemik olarak bilinmektedir. Kafes şeklindeki immatür kemiğin arasında yer yer lamellerin organize olduğu matür kemik gözlenmektedir.

Olgun matür kemik mikroskobik olarak iyi organize olmuş kollajen fibriler ağ içine kalsifiye matriks ile belirli bir düzen içinde yerleşen çeşitli kemik hücreleri, kan damarları ve sinirlerden oluşan kompleks doku olarak izlenmektedir. Hidroksiapatit (HA) kristalleri kollajen fibrillerin üzerlerine düzenli bir şekilde yerleşerek lamelli yapıdaki matür kemik dokuya sertlik ve dayanıklılık sağlamaktadır. Lamel üzerindeki kollajen fibriller birbirlerine paralelken, komşu lamellere çapraz geçişler ve spiraller yaparak birleşmeleri kemiğe güçlü bir yapı kazandırarak ve yük taşıma kapasitesi artırır (26,33-35).

Kemik hücreleri osteositler immatür kemikte dağınık olarak izlenirken matür kemik dokusunda lamellerin aralarında belirli bir düzen içinde yerleşmektedirler. Bu yapıların organizasyon şekline göre ise matür kemik kompakt kemik ve spongiyöz kemik olmak üzere iki şekilde izlenmektedir (26,33).

3.1.2.1. Kemik Matriksi

Kemik matriksi, 3-7 mikron kalınlığında kemik lamelini oluşturan kemiğin ara maddesidir. Matriksin %25'i organik matriks, % 65'i kalsiyum ve fosfor gibi mineraller içeren inorganik matriks, % 10'u sudan meydana gelmektedir.

3.1.2.1.1. Organik Matriks

Organik matriksin ise %90'ı çok kompleks kollajen protein lif ağından diğer kısmı ise proteoglikanlar, kondroidin sülfat, keratan sülfat ve hiyaluronik asit gibi glikozaminoglikanlar ve özellikle kemik morfojenik proteinleri (Bone Morphogenic Proteins-BMP) gibi kemik metabolizmasında önemli görevleri olan nonkollajenöz amorf protein ve polisakkaritlerden meydana gelmektedir (20,30,31). Büyüme, rejenerasyon ve hücrel metabolik olaylarda önemli görevleri olan organik matriks osteoblastlar ve kısmen bağ doku hücrelerinde sentezlenir, kemik hücreleri ve fibröz yapıları bir arada tutup destek sağlamaktadır, ayrıca kemiğin yapısal iskeletini şekillendirirken inorganik tuzların kristaller şeklinde depolanması için uygun zemin oluşturmaktadır. Kemik dokuda deri ve tendoda bulunan Tip I kollajen bulunmaktadır. Primer kemik iyileşmesinde çok az kallus oluştuğundan Tip I kollajen görülürken sekonder kemik iyileşmesinde encondral kemikleşmeye bağlı olarak kartilajinöz kallus oluşumu nedeniyle Tip II kollajen de görülebilmektedir. Sert yapıda olan kemiklerin içerdiği kollajen fibriller ağ aksiyal kuvvetlere karşı dayanıklılığı artırırken kolay kırılmasını engeller kemik dokuya kısmen esneklik ve kıvrılma özelliği sağlamaktadır (2,32,36-41).

3.1.2.1.2. İnorganik matriks

Kollajen ağa yerleşen minerallerden oluşan inorganik matriksin % 85'i kalsiyum fosfat, % 10'u kalsiyum karbonat ve kalan % 5'i kalsiyum florit ve magnezyum florit gibi mineral tuzlardan şekillenmektedir Çakır, Tekelioğlu, Ayhan, Arun, Meyer (5,23,26,42,43). Kollajen ağa başlangıçta amorf olarak yerleşen kalsiyum tuzları 300 Å uzunluğunda ve 20 Å kalınlığında hidroksiapatit

($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) kristallerine dönüşerek sıralanmaktadır Çakır, Tekelioğlu, Meyer (5,23,43). Kalsifikasyonda kristaller kollajen lifler arasındaki mikroskobik boşluklara iğne şeklinde çubukçuklarla tabakalar oluşturarak kollajen lif içinde demetin uzun eksenine paralel şekilde yerleşerek stres ve mekanik deformasyona karşı güçlü yapı oluşturmaktadır. Bu özellik çok geniş bir yüzey/hacim oranı sağlarken, kristallerin yüzeyini çevreleyen hidrasyon kabuğu sayesinde iyonlar bu kristal yüzeyinden dokular arası sıvıya serbestçe hareket ederek metabolik iyon dengesi korunmaktadır. Protein-kristal yapıdaki kemiğin sertliği ve dayanıklılığı inorganik matrikse, esnekliği kollajen ağa ve organik matrikse bağlı olması kemiğin güçlü, esnek ve kırılmaya çok dayanıklı yapı kazanmasını sağlayarak dayanıklılığın orta derece bir çelikle kıyaslanabilmesine olanak vermektedir (20,30-32,44,45).

3.1.2.2. Kompakt Kemik

Kompakt kemik büyük çoğunluğu kemik uzun eksenine paralel olarak yerleşen Havers kanalları etrafında iç içe yerleşmiş halkalar şeklindeki 4-20 adet lamelin oluşturduğu silindirik yapıdaki *Havers sistemi* veya *osteon* adı verilen temel birimlerin kompleks ve sıkı bir şekilde organize olmasıyla şekillenmektedir. Havers sistemleri, kompakt kemiğin endosteal, periosteal yüzeylerindeki veya kemik içindeki osteoklastların açtığı tünellerdeki yeni kemik oluşumu ile meydana gelirken, kompakt kemikte lameller oldukça sıkı ve düzenli bir yapıda üç ayrı şekilde yerleşmiştir. Kompakt kemik doku genel olarak osteonlardan oluştururken, osteonlar arasında kalan boşlukları düzensiz şekil ve büyüklükte lamelli kemik alanları ara lamel sistemi (interstisiyel sistem) doldurmaktadır. Kompakt kemiklerin dış (periosteumun hemen altı) ve iç (endosteumun hemen

altı) yüzleri iç içe daireler şeklinde uzanan kemik gövdesini saran sirkumferansiyel lameller ile sınırlanmaktadır. Dış sirkumferansiyel lameller, iç sirkumferansiyel lamellerden daha kalındır (44). Bu lameller sistemi arasında kemik hücreleri birbirlerine bağlanarak kompakt kemiğin çatısını meydana getirirler. Her osteon kemiği uzunlamasına geçen kan damarını çevreyerek besinlerin alınmasına ve kemik hücrelerinin atıklarının uzaklaştırılmasına izin verecek yapıya sahiptir. (Şekil-1) Osteon lamel, lakün, kanaliküli ve Havers kanalı olmak üzere 4 tip yapıdan oluşmaktadır. Lamel sınırları lakünlerle belirlenen katlı olarak sıralanan kalsifiye matriks katmanlarıdır. Lakün lameller arasında kemik hücrelerinin yerleştiği, içinde doku sıvısı bulunan küçük boşluklardır. Kanaliküli lakünden her yöne doğru uzanan ve onları birbirine ve Havers kanallarına bağlayan çok küçük kanallardır, doku arasındaki kemik hücreleri stoplazmik uzantıları ile bu kanallar yardımıyla birbirleriyle ve doku sıvısıyla bağlantı kurmaktadır. Havers kanalı osteon sisteminin merkezi içinden boylamasına uzanan kan damarları, lenf kanalları ve sinirlerin yerleştiği kemik uzun eksenine paralel kanallar sistemidir ve birbirlerine transversal veya oblik olarak lamelleri delerek geçen Volkmann kanalları ile bağlanarak kemik iliği boşlukları, periosteum ve kendi aralarında iletişim kurarlar. Besinler ve oksijen Havers kanalından kanaliküli aracılığı ile lakün ve lakün içindeki kemik hücrelerine kadar iletilmektedir. Bu kanallar, sinirleri, kan ve lenf damarlarını tüm kemik boyunca iletilmesini sağlamaktadırlar (2,34,38,44-46).

3.1.2.3. Spongiyöz Kemik

Süngerimsi veya kansellöz kemikte osteonlar ve lameller bulunmaz bunun yerini trabekül adı verilen iğnemsî kemik spikülleri almaktadır.

Trabeküllerde ince spiküllerin içindeki kemik hücreleri yüzeye uzanan kanaliküller yardımıyla difüzyon ile hücrelerin beslenmesi ve metabolik artıkların uzaklaştırılmasını sağlamaktadırlar. Şekil 2’de görülen süngerimsi kemik iki kompakt kemiğin arasında yer almaktadır. Trabeküllerin arasındaki kırmızı kemik iliği boşluklar nedeniyle süngerimsi bir görünümündedir. Spongiyöz kemiğin ortasındaki *diploe* adı verilen tabakaya kafa kemikleri gibi yassı kemiklerde rastlanmaktadır. Trabeküllerin dağılımı rastgele değildir kemik üzerine etkiyen kuvvetin yapısı ve büyüklüğüne göre değişerek stres hatları boyunca düzenlenmiş olması kemiğin dayanıklılığını büyük ölçüde arttırmaktadır (31,32,47).

3.1.2.4. Periost (Periosteum)

Periost iç tabaka (osteoblastik tabaka, kambiyum) ve dış tabaka (fibrotik tabaka) olmak üzere iki tabakadan oluşur. Kas ve ligamentlerin bağlandığı fibroblast içeren sıkı dış tabaka kollajen ve elastik liflerden oluşurken hücresel ve osteoblastik olan iç tabaka damardan zengin bir yapıdadır ve osteoprogenitör hücrelerinin ve büyüme faktörlerinin kaynağıdır. Hücresel tabaka ossifikasyon ve rejenerasyon sırasında çok aktifken, matür kemiklerde incelir ve bir miktar osteoprogenitör hücreyi yedek olarak depolamaktadır. Periost, damardan zengindir ve bu damarlardan bir kısmı foramen nutrisyumdan kemik dokusuna girerek Havers ve Volkmann kanalları ile kemik içinde dağılarak kemiğin besenmesini sağlamaktadır. Periostun dış katından ayrılan kollagen lifler (Sharpey lifleri) kemik dokusuna girerek dış sirkumferansiyel lamellerle yüzeye yakın ara lamellerin derinlerine kadar inerek periostu kemik dokusuna sıkı bir şekilde bağlamaktadır (20,28,30,31,33).

3.1.2.5. Endost (Endosteum)

Endosteum, kemik iliği stromasının periferik tabakası olup osteoprogenitör hücreler ile bağ dokusundan oluşur, osteojenik özellikleri periosteuma benzemekle beraber daha ince yapıdadır. Kompakt kemiklerin iç yüzleri ile spongiyöz kemik trabeküllerinin dış yüzlerini kaplamaktadır. Periost ve endosteum kemik dokusunun büyümesi ve rejenerasyonu için gerekli olan osteoblastların kaynağıdır (20,28,30,31,33).

3.1.2.6. Kemik Hücreleri

Aktif olarak büyümekte olan kemiklerde osteoprogenitor hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar olmak üzere mezenşimden köken alan dört çeşit kemik hücresi bulunur. Bunlardan ilk üç hücre, osteoklastlardan farklıdır, birbirlerine dönüşebilirler ve aynı hücre tipinin farklı işlevsel evreleri olarak izlenmektedirler (20-22,28,29).

3.1.2.6.1. Osteoprogenitör Hücreler

Kemik hücresine dönüşme yeteneğindeki mezenşim hücrelerine osteoprogenitor (osteoprokürsör), osteojenik hücreler veya kemik kök hücreleri denir. Bu hücreler matür kemiklerin dış ve iç yüzeylerini örten periosteum ve endosteum zarlarında, bu kemiklerin içerdikleri Havers ve Volkmann kanallarının örtüsünde, kırık iyileşme bölgesinde ve büyüyen kemiklerin metafizindeki kıkırdak matriksinin trabeküllerinde bulunurlar. İnaktif şekillerini morfolojik olarak belirlemek zor olmakla birlikte iğ şeklinde ve oval çekirdekli olarak görülürler. Kemik iyileşmesi gibi durumlarda kemik yapımı uyarıldığında sayıca artarak osteoblastlara dönüşmektedirler (21,22,28,31).

Osteogenez (kemik yapımı) durduğunda osteoblastlar osteoprogenitor hücrelere benzeyen inaktif bekleme hücreleri (bone lining cells)'ne dönüşmektedirler (21,22,28,31).

3.1.2.6.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar, mezenşimal dokudaki osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasından veya kambiyum hücrelerinden köken alırlar. Bölünme yeteneğine sahip olayan osteoblastlar kemik yapan hücrelerdir bu yüzden kemik yapımı sırasında sayıları artmaktadır. Boyutları 15–20 µm arası değişir ve metabolik aktif haldeyken protein sentezi yapan hücreler gibi sitoplazmaları granüllü retikulumdan ve golgi aygıtlarından zengin çekirdekleri ökromatiktir. Aktif osteoblastlar prizmatik ya da kübikken inaktif halde basık yassı şekilli olabilirler. Bu hücreler organik kemik matriksinin kollajen ipliklerle proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgırlar. Osteoblastların dekalsifiye organik matriks ile sarılı haline *osteoid* adı verilir ve salgıladıkları bu doku içinde gömülü kalırlar. Osteoblast ve kemik matriksi arasında kalsifiye olmamış organik matriks bulunmasına *kemik apozisyonu* adı verilir. Osteoblastların sitoplazmik uzantılarının çevresinde matriksin salınması lakün ve kanalikulileri daha belirginleştirmektedir. Osteogenez döneminde, yeni oluşan kemik trabekül ve lamellerinin yüzeylerinde osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan bir sıra osteoblast bulunur. Osteoblastların sitoplazmalarının yüksek oranda alkalin fosfataz içermesi kalsifikasyonu düzenlediğini göstermektedir (22,28,34,48,49,50).

Osteoblastlar yeni osteogenez veya remodeling için aktive olmayı beklerken inaktif halde kendi matriksleri içine gömülü hale gelerek osteosit formuna da dönüşürler (2,28,34,48).

3.1.2.6.3. Osteositler

Osteositler kemiğin esas hücreleri olup, kendi matriksleri içine gömülen osteoblastların fonksiyonlarının ve morfolojik özelliklerinin değişmesiyle oluşmaktadırlar. Osteositler yassı ve ovaldirler ve boyutları 20–60 µm arasında değişir. Osteositlerin osteoblastlara göre protein sentezi miktarı azalırken sitoplazmik uzantıları çoğalır ve gelişir. Bu uzantılar ve uzantıların oluşturduğu kanalikuliler yardımıyla hücreler kemik dokusundaki lakünler, diğer osteositlerin ve osteoblastların uzantıları ile bağlantı kurarak metabolik ihtiyaçlarını karşılarlar. Bu hücrelerin kanali sistemleri ile kan dolaşımına bağlanmaları sayesinde oksijen ve metabolitleri aktararak kemiğin beslenmesini sağladıkları düşünülmektedir (34,44,49).

Osteositlerin, kalsiyum metabolizmasına katkıları bilinmemekle beraber kemiğe uygulanan fiziki stresten en çok etkilenirler. Osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlarla sürekli temas halinde olduğundan travmalarda diğer hücreleri uyardığı düşünülmektedir (2,28,34,48).

3.1.2.6.4. Osteoklastlar

Osteoklastların osteoprogenitör kök hücreler, monositlerin birleşmesi sonucu oluşturdukları mononükleer fagositik sistem ve dolaşımdaki farklılaşmamış mononükleer hücreler (preosteoklastlar) olmak üzere üç kaynaktan köken aldığı düşünülmektedir. Kemik rezorpsiyon bölgesinde enzimatik olarak

açılmış howship lakünasında bulunan osteoklastlar çok büyük, heterojen çok çekirdekli (2–100 çekirdek), hareketli ve çok sayıda uzantılı hücrelerdir. Kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen artıkların ortadan kaldırılmasında görev alırlar (27,28). Kemik hücrelerinden daha büyüktürler ve çapları 20–100 µm arasındadır (51-57).

Osteoklastlar sentezledikleri proteolitik enzimler, kollajenaz ve asitler ile kemik matriksinin rezorpsiyonunu sağlarken fagositik özellikleri ile de bu sırada ortaya çıkan metabolik artıkları ortamdan uzaklaştırırlar. Osteoklastlar IL–6 (interlökin-6), hidrojen iyonları ile doğrudan PTH ve 1,25(OH)₂ vitamin D₃ tarafından dolaylı olarak stimüle edilirken, kalsitonin, TGF-β ve anti IL–6 inhibe edilerek fonksiyonları düzenlenir ve rezorbsiyon kontrol edilir. İnterferon-gama osteoklast oluşturacak mononükleer öncü hücrelerin farklılaşmasını inhibe ederek önleyerek direk osteoklast sayısını azaltır (28,34,50).

3.1.3. Kemik Oluşumu (Osteogenez)

Kemik bölgede bulunan bir çeşit bağ dokusunun değişikliğe uğrayarak farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin osteoblastlara dönüşmesiyle oluşur. Kemik osteoblastların ortama sentezlediği organik matrikse Hidroksiapatit kristallerinin yerleşmesiyle mineralizasyonla başlar, osteoklastların ortama gelmesiyle remodeling ile son şeklini alır. Remodeling kemik şekillendikten sonrada sistemik hormonlar, lokal sitokin ve büyüme faktörleri tarafından düzenlenerek yaşam boyu devam eder (2,20,22,26,28,58,59).

Kemikleşme iki yolla olur. Kemik, osteoblastlar tarafından salgılanan matriksin mineralizasyonu ile oluşuyorsa buna zarlararası kemikleşme (intramembranöz ossifikasyon); daha önceden bulunan kıkırdak matriksi üzerine

kemik matriksinin birikmesi ile oluşuyorsa buna da kıkırdak içi kemikleşme (endokondral ossifikasyon) adı verilir (20-22). Kemiklerin kalınlıkları periosteum yardımıyla intramembranöz kemikleşmeyle artarken, epifiz bölgesindeki sekonder ossifikasyon merkezleri (büyüme plakları) endokondral kemikleşmeyle uzamaktadırlar (2,60-62).

3.1.3.1. Zarlararası Kemikleşme (İntramembranöz Ossifikasyon)

Mezenşimal membranlar içinde kıkırdak safhasını geçirmeden kemikleşmeye intramembranöz ossifikasyon denir. Kan damarları yönünden de zengin olan bu bölgede mezenşim hücreleri yoğunlaşıp uzantılarıyla birbirleri ile bağlantı kurarak hücrelerin arasındaki boşluklar ince kollajen fibril ağı ile örülü zarımsı tabakalar şekillendirir. Mezenşimal hücreler farklılaşarak büyümeye başlar, boyut ve yapılarındaki değişikliklerle bazofilik osteoblastlara dönüşerek, çevrelerine organik matriks salgırlar. Matrikste ince ipliksi kalsifiye yapıların görünmesi kemik oluşumunun göstergesidir. Gelişen bu iğnemsî yapılara kemik spikülü adı verilir. Kemik matriksindeki bu ince ipliksi yapılar yakındaki kan damarlarına eşit uzaklıkta birikerek spikülleri, spiküller ise trabekülleri şekillendirir. Yoğun mezenşim doku içinde kemikleşmenin başladığı ilk yere *primer kemikleşme merkezi* denir (21,22,28,50,59,63).

Frontal, parietal, oksipital, temporal kemikler ile mandibula ve maksillanın bazı kısımları bu tür kemikleşme ile meydana gelir (21,22,28,29,63).

Spongiyöz kemiğin sürekli kalacağı bölgelerde, remodeling ile trabeküller son şeklini alır; damarlı bağ dokusu da kan hücrelerini üretecek olan hemopoietik kırmızı kemik iliği haline dönüşür. Kemiği saran bağ dokusu ise

yoğunlaşarak periosteumu oluşturur. İntramembranöz kemikleşme ve kemik büyümesi periosteal faaliyetlerle devam eder (21,22,28,29,63,64).

3.1.3.2. Kıkırdak İçi Kemikleşme (Endokondral Ossifikasyon)

Endokondral ossifikasyonda mezenşimal hücreler kondrositlere dönüşerek oluşacak kemiğin şeklinde hiyalin kıkırdak model şekillendirirler. Kıkırdak dokudaki kalsifiye kıkırdak matriksin septumları tarafından dejenere olan ve hipertrofik bir yapı kazanan kondrositler tarafından bırakılan lakünalara osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinin penetrasyonu başlar ve osteoprogenitör hücreler bölgeye yerşelerek, osteoblastlara dönüşürler ve kıkırdak septumlarını kemik matriksi ile kaplayarak demineralize kıkırdak yapı üzerinde kemik üretirler. Bu sırada *osteojenik tomurcuk* adı verilen ilk kemik noktaları oluşur. Kemik doku arasında kalan kondrositler dejenere olur ve kıkırdak matriks tamamen kalsifiye olur ve remodeling ile kemik son şeklini alır (20-22,29,63,65).

Kafatasının alt kısmı, omurga, pelvis, eksremite kemikleri ile mandibulanın bazı kısımları endokondral ossifikasyon ile oluşur, kemik büyümesi büyüme plaklarında plaklar kapanana kadar bu şekilde devam eder (20,23-29).

İntramembranöz veya endokondral kemikleşme ile oluşan immatür kemik mekanik faktörlerin etkisi ile matür kemiğe dönüşür (28,31,50).

3.1.3.3. Kemik İyileşmesinin Temelleri

Dinamik ve biyolojik yönden aktif rejeneratif olan kemik dokuda iyileşme biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik birçok etkenin fizyolojik organizasyonu ile skar oluşturmada anormik olarak bozulmuş dokuyu tamamen orijinal haline döndürmeyi amaçlar (33).

Kemik iyileşmesi *primer (birincil,kontakt,temas)* kemik iyileşmesi ve *sekonder (ikincil)* kemik iyileşmesi olmak üzere iki ana yolla gerçekleşir. Primer kemik iyileşmesi rijit internal fiksasyon gibi kesin bir immobilizasyon sağlandığı durumlarda ve fissurlar (çatlak)'da, belirgin bir kallus oluşturmada ve kemik uçlarında rezorpsiyon olmadan doğrudan kemik formasyonu ile gelişir. Gerçekleşmesi için fragmentlerin tam anatomik redüksiyon ve immobilizasyonun sağlanması şarttır. Kırık uçlarında torsiyon ve makaslama olmadığından *Böhler'in kaçınılmaz kısalığı* görülmez. Bu tip kemik iyileşmesi kırık uçlarının arasındaki mesafeye göre iki şekilde (primer ve sekonder) oluşur.

İlkinde kırık aralığı hücre ve damarların penetrasyonuna izin vermeyecek kadar yani 0,01mm' az ise matriks salgısıyla lameller kırık hattını geçerek birleşirler. İkincisi *aralık iyileşmesi* olarak ta bilinir. Kırık aralığının 0.5 mm'den az olduğu durumlarda görülür. Periosteum ve endosteumdan gelen hücreler kırık hattına yerleşir ve matriks sekresyonu ile kemikleşme tamamlanır (66,67).

Sekonder kemik defektli kırıklarda ve kapalı redüksiyon ile tedavi edilen kırıklarda ve iyi redüksiyon yapılmayan kırıklarda görülen kompleks fazlarla gerçekleşen bir olaydır. Bu iyileşme fazları zaman olarak birbirinden kesin olarak ayrılamaz ve her faz kendinden önceki ve sonraki faz içinde bir miktar bulunur. De Palma'ya göre kırık iyileşmesinde histolojik olarak dört fazdan oluşur (65,66,68);

1- Hücresel kallusun oluşması

a - Hematom fazı

b - Hücresel kallusun oluşumu

2- Hücresel kallusun damarlanma fazı

3- Hücresel kallusun kemikleşme fazı

4- Kemiğin yeniden şekillenme fazı (remodeling)

Cruess ve Dumont'a göre ise sekonder kırık iyileşmesi üç fazdır; (66,69)

1- Yangı (Enflamasyon) evresi,

2- Onarım (Reperasyon) evresi,

3- Yeniden şekillenme (Remodeling) evresi.

Bu fazların bir diğer sınıflandırması şöyle tanımlanır; (70)

1-Hematom ve inflamasyon fazı (fibröz kallus),

2-Anjiogenesis ve kartilajinöz formasyonu fazı(fibro-kartilajinöz kallus),

3-Kartilaj kalsifikasyonu (kartilajinöz kallus)

4-Kemik formasyonu fazı (ossöz kallus)

5- Remodeling (yeniden şekillenme) fazıdır.

Fazların kesin sınırlarının olmaması sınıflandırılmalarındaki farklılığa neden olmasına karşın temel iyileşme mekanizması aynıdır(70).

3.1.3.3.1. Hematom Ve İnflamasyon Fazı

Kırık kemikte matrikste hasara, hücre ölümlerine, periosteum, endosteum ve yumuşak doku hasarına dolayısıyla kanama ve doku tamiri için inflamasyona neden olur. Bu süreç ortalama 7 gün sürer. Kırık oluşumuyla beraber kemik doku, periosteum, endosteum ve çevredeki yumuşak dokuların hasarı ilk 8-24 saatte kırık hematomu şekillenir. Kırık oluşumuyla beraber arterlerde geçici vasokonstriksiyonu bölgedeki mast hücrelerinin histamin salgısıyla kılcal arteriol ve venlerde vasodilatasyon şekillenir ve damar geçirgenliği artarak bölgede ödem oluşur. Kırık hematomu kemik iyileşmesini etkileyen önemli bir faktördür ve hematoma boşalması durumunda kırık iyileşmesinin geciktiği veya hiç olmadığı bildirilmiştir. Deneysel olarak hematoma organize olduktan sonra bölgeden

uzaklaştırılmasıyla osteojenik uyarının büyük bir kısmının kaybolduğu öne sürülmüştür. Hematomun onarım hücrelerinin göçünü kolaylaştıracak fibrin iskelet oluşturduğu düşünülmektedir (66,71). Hematom içindeki trombositlerin etkisiyle hematoma pıhtılaşırken, bölgede fibrin ağı, fibroblast ve yeni kapiller yapıların gelişimine uygun ortam sağlanır. Bu pıhtıdaki trombositlerden bu esnada transforming growth factor beta (TGF – β) ve platelet derived growth factor (PDGF) gibi hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynayan büyüme faktörleri salgılanarak kırık iyileşmesi uyarılır. Aynı zamanda pıhtı içine yerleşen makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer hücreler gibi enflamatuvar hücreler ve fibroblastlar, prostaglandin etkileşimi ve sitokinlerin salınması ile kemiğe infiltre olarak inflamasyonu başlatırlar. Kırık uçlarındaki damarsal harabiyet nedeniyle kırık hattının her iki ucundan bir miktar kemik nekroze olur. Bu bölgedeki hücrelerde lizis görülmesi nedeniyle ortaya çıkan nekrotik ürünler ve prostaglandin salgısı akut yangının başlamasında ve yangı hücrelerinin göçünde rol oynar. Bunu kırık bölgesindeki fibrin ağı içinde granülasyon dokusu oluşumu ve mezenşimal hücre göçü ile fibröz doku yani fibröz (primer kallus, pro-kallus) kallus oluşumu izler. Fibroblastlar, vasküler yapıların gelişmesi için vasküler göçe yardım etmek üzere stromaya yerleşir (33,66,67,72).

3.1.3.3.2. Anjiogenesis ve Kartilajinöz Kallus Fazı

Fibröz kallustaki vasküler göç arttıkça fibroblastlar kollajen matriks sentezlerler. Bu esnada periosteum ve endosteumdan kırık bölgesine yayılan osteoprogenitör osteoblastlara farklılaşarak osteoid proteinleri sentezleyerek osteoidler oluşturur. Eş zamanlı olarak kollajen matriks içindeki fibroblastlar

kondroblastlara dönüşerek kollajen ve glikozaminoglikanları sentezleyerek granülasyon dokusunun kıkırdak dokuya düşmesini sağlar. Osteojen hücrelerin yoğunluğuna rağmen direk olarak ossöz kallus gelişmemesinin sebebi kılcıl damar gelişiminin osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmamasıdır. Bunun sebebi ise damar endotelinin sialik asite bağlı olarak, kıkırdak matriksi ise içerdiği proteoglikanlar nedeniyle negatif yüklü olması kıkırdak dokunun damar oluşumunu engellemesidir. Kemiğe yakın bölgelerde direk hücreler osteoblastlara farklılaşırken, kılcıl damardan yetersiz orta kısımdaki hücreler kondroblast ve kondrosite farklılaşırlar. Böylece kırık bölgesinde fibro-kartilajinöz kallus oluşur (66,67,72).

3.1.3.3.3. Kartilaj Kalsifikasyonu Fazı

Kırık çevresinde oluşan fibro-kartilajinöz kallus içinde kan damarlarının yayılmasıyla bu kan damarlarının etrafında ki hücreler osteoblastlara farklılaşarak çevreye kemik matriks proteinlerini salgırlar. Kartilajinöz matriks içinde kalsiyum tuzlarının çökmeye başlamasıyla pozitif yüklü kalsiyum iyonları kıkırdak dokunun negatif yükünü pozitif çevirerek damar gelişmesini olumlu etkiler. Salgılanan kemik matriksi kalsifiye olarak kıkırdak doku içinde kan damarlarının seyrini takip eden düzensiz kemik trabekülleri oluşturur. Bu şekilde kıkırdak doku kemik trabekülleriyle örülür (66,69,71,73,74).

3.1.3.3.4. Kemik Formasyonu (Ossöz Kallus) Fazı

Gelişen trabeküller arasında kalan kıkırdak dokuda kondrositler hipertrofiye olarak kondroblastlara dönüşürken ortamda alkalenfosfataz salgılanır ve kıkırdak matrikste kalsiyum fosfat birikir. Kalsifiye doku içinde kalan

kondrositler difüzyon ile beslendiklerinden ölür ve boşluklar oluşur. Bu boşlukları kan damarlarının doldurmasıyla kemik doku ilerler. Kıkırdak dokunun tamamen düzensiz kemik trabekülleriyle örülü immatür kemiğe dönüşmesi ile ossöz (sekonder) kallus oluşur. Kalsifiye doku olmasına rağmen henüz mukavemeti kemik doku kadar iyi değildir. Bu dönemde kallus spongiyöz kemik formasyonunu kazanır. Defekt bölgesindeki kıkırdak doku içinde osteoblast göçü ile endokondral kemikleşme görülürken, kıkırdağın periosteum ve endosteum yüzeylerinde intramembranöz kemikleşme hemen hemen aynı zamanda görülür ve yapı kemikleşse de henüz tam kemik şekillenmemiştir. Bu süreç yaş, kemiğin damarlanma durumu gibi birçok nedene bağlı olarak 4-16 hafta kadar sürebilmektedir (28,50,66,69,71,73,74,75).

3.1.3.3.5. Remodeling (Yeniden Şekillenme) Fazı

Bu en uzun dönemdir, aylar veya yıllar sürebilir. Sert, güçlü ama düzensiz immatür kemiğin düzenli lamel yapısına sahip matür kemiğe dönüşmesidir. Bu kallusun etkisiz kısımlarının ortadan kaldırılıp, trabeküllerin kemiğin stres çizgilerine göre yeniden organize olduğu dönemdir. Kırık uçlarındaki nekrotik bölgede prostaglandinlerin uyararak aktifleştirdiği düşünülen osteoklastlar bu dönemde özellikle görev alırlar. Osteoklastlar trabekül veya osteonların yeniden yapılanması için bölgedeki kemik matriksini ve artıkları ortadan kaldırırken, osteoblastlar yeni matriks sentezi ile düzenli matür kemik oluşumunu sağlar. Bu mekanizmada kemiğe gelen mekanik stresler rol oynar. Wolf 1982’de iskelet sistemindeki kemik yapısının mekanik streslere uygunluk gösterdiğini kemiğin şekillenmesinde temel kural olarak kabul edilen *Wolf Kanunu* ile göstermiştir. Buna göre mekanik stres altındaki kemiğin konveks yüzü

pozitif, konkav yüzü ise negatif yüklü olduğundan, osteoklastik aktivitenin yüksek olduğu konveks yüzde rezorbsiyon görülürken, osteoblastik aktivitenin yüksek olduğu konkav yüzde ise osteogenez görülür. Kemik bu kurala göre tamamen rejenere olur (66,69,70,73,76).

3.1.3.3.6. Kemik İyileşmesinin Komplikasyonları

Kemik defektlerinin iyileşmesi sırasında özellikle geniş defektlerde ve iyi tespit edilmeyen kırıklarda kallus gecikmesi, iyileşme yokluğu (non-union), iyileşme yetersizliği, yalancı eklem ve yumuşak doku apozisyonu gibi sorunlar nedeniyle kemik iyileşmesinin istendiği biçimde gerçekleşememesidir. Kırık bölgesindeki bağ doku gibi yumuşak dokuların ve kemik dokunun onarım hızlarının değişik olması kemik boşluğunun yumuşak bağ dokusu hücreleri tarafından doldurulması neden olabilmektedir. Hem iç ve dış korteksi içeren büyük kemik defektlerinde kavitenin fibrotik sikatrisyel doku ile dolduğu deneysel olarak gösterilmiştir ayrıca bazı olgularda kemik iyileşmesinin yıllar sonra bile tam olarak sağlanmadığı izlenmiştir. Bu komplikasyonlar hastanın yaşam kalitesini daha uzun süre düşmesine sebep olur ve ikinci operasyon zorunluluğunu getirebilir. Bu komplikasyonların önlenmesinde cerrahi prensiplere uygun tam bir fiksasyon ve geniş defektlerde kemik grefti kullanımı gerekmektedir. (33,68,77,78).

Bu gereksinimler çeşitli biyomateryallerin ve otojen, allojen ve alloplastik kemik greftlerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur

3.2. TRANSPLANTASYON

Transplantasyon herhangi bir nedenle işlevini tam olarak gerçekleştiremeyen, organ veya dokunun yerine organizmanın bir bölümünden ya da farklı canlı türlerinden elde edilen organ, dokuların veya biyomateryallerin başka bir bölgeye yerleştirilmesine denir. Bu amaç için kullanılan materyale greft denir (2,79,80).

Transplantolojinin temelini işlevini gerçekleştiremeyen parçanın yenisi veya aynı etkiyi oluşturacak bir madde ile değiştirmek oluşturur. Asırlar önce sadece bir eksikliği gidermek amacıyla çeşitli materyallerin kullanılmasıyla başlayan transplantasyon, hayvan çalışmaları ile geliştirerek bu zamana kadar organ ve doku nakilleri için çeşitli yöntemler ve yeni greft materyalleri geliştirilmesiyle çok ilerlemiştir. Kan transplantasyonda bugüne kadar en başarılı ve sık uygulanan materyal olarak karşımıza çıkarken, kan grubunun basitçe belirlenmesine rağmen diğer transplantasyonu yapılabilecek doku veya organların transplantasyon antijenlerinin belirlemenin zorluğu diğer uygulamaları güçleştirmektedir. Transplantasyon konudaki güçlükler son yıllarda geliştirilen yeni doku işleme yöntemleri ve ilaçlarla büyük ölçüde aşılmıştır. Kemik doku kandan sonra transplantasyonda ençok kullanılan dokudur. Greft olarak kullanılan farklı dokulardan farklı sürelerde ve farklı etkinlikler göstermesi beklenir. Kan transplantasyonunda amaç belirli bir süre kaybedilen kanın yerini alması iken, kalp, karaciğer ve böbrek gibi dokularda uzun süre etkinlik beklenir. Kemik doku greftleri ise çok rezorbe olan materyallerden hayat boyu imlante edilen metalik greftlere kadar çeşitlilik gösterir. Kemik greft materyalleri sadece destek amaçlı olabileceği gibi iyileşmeyi hızlandırıcı ve yaplandırıcı nitelikte de olabilmektedir (2,81).

3.2.1. Transplantasyon ve İmmun Sistem

Transplantasyonda en önemli komplikasyon donörün immün cevabı ile gelişen greft materyalinin organizma tarafından reddedilmesi(rejeksiyon) ya da atılmasıdır. Greft materyali alıcının lenfositlerini aktive ederek immün sistem tarafından antijen (yabancı cisim) olarak kabul edilmesine neden olur. Allojenik ve ksenojenik greft materyalleri antijenik özellik gösterirken, otojen greft materyalleri antijenik değildir, izojenik greft materyalleri ise genetik benzerliğe bağlı olarak zayıf antijenik özelliktedirler (2,81,82).

Transplante edilen materyalde rejeksiyon önlemek için donöre kortikosteroidler ve lenfositotoksik ajanlar gibi immünsüpresif ilaçlar uygulanmakta veya irridasyon, dondurma, dondurup kurutma yöntemleriyle kemik ya da kıkırdak gibi transplantın yapısında var olan antijenik özelliği azaltılabilmekte veya tamamen ortadan kaldırılabilmektedir. (2,81).

3.2.2. Transplantasyonun Temel Kuralları

Bir dokunun transplantasyonunda başarılı olunabilmesi için transplant bazı şartlara uygun olmalıdır. Dokularda Histolojik uyumluluk sağlanmalıdır. En mükemmel uyumluluk otogreft ve izogreftler ile sağlansada mümkün olmadığı durumlarda histolojik uyumluluk için çeşitli yöntemlerle antijenik özellikler azaltılır veya ortadan kaldırılabilir. Transplantasyonda cerrahi prensiplere tam olarak uyulmalıdır ve bölge iyi hazırlanmalı, greft uygun bir şekilde yerleştirilerek iyi bir şekilde tespit edilmelidir. Enfeksiyona karşı önlem alınmalıdır. Greft materyalinin canlılığını devam ettirmesi için iyi vaskülarizasyon sağlanması gereklidir (2,80,84). Greft materyalinin hareketetmesi durumunda beslenmesini sağlayacak kapillerlerin ilerlemesi engellenir (2,80,84).

3.2.3. Greftlerin İndüktif Etkilerine Göre Sınıflandırılması

Kemik greft materyallerinin temel fonksiyonları indüktif etkilerine göre üç basamakta kategorize edilmiştir (2,79,81,84).

3.2.3.1. Osteogenez: Osteogenetik karaktere sahip tek greft materyali otojen kemiktir, greft hücreleri nakledildikleri dokuda yaşar ve kendileri yeni kemik yaparak aktif olarak iyileşmeyi sağlarlar (2,79,81,84,85).

3.2.3.2. Osteoindüksiyon: Greft yeni kemik oluşumunu uyarır veya başlatır, greft materyalleri doku içerisindeki farklılaşmış mezenşim hücrelerini osteoblast ve kondroblastlara dönüştürebilmektedir. Bu özellikteki en yaygın kullanılan materyaller kemik allogreftleridir (2,79,81,86,87).

3.2.3.3. Osteokondüksiyon: Greft kemik oluşumuna yardımcı olacak bir çatı veya ağ görevi görür. Yeni kemik dokusunun gelişmesi apozisyonel kemikleşme ile olduğu için kemik veya farklılaşmamış mezenşimal hücre varlığında olabilmektedir. Herhangi yumuşak doku içerisine yerleştirilen osteokondüktif bir materyal tek başına kemik oluşturmaz, kemik ile direkt temasta bulunan implant üzerinde oluşan kemik, osteokondüktif bir oluşum olarak kabul edilmektedir (79,81).

3.2.4. Greft Tipleri

Kemik grefti olarak kullanılan çok çeşitli materyaller vardır. Bu durum greftlerin kendi içinde değişik sınıflandırılmalarına neden olmuştur. Bauer ve

Müschler greft materyallerini kompozisyonlarına göre Tablo 1’deki gibi sınıflandırmışlardır (88,89).

Tablo 1. Bauer ve Müschler’e göre kemik greftlerinin sınıflandırılması (88,89).

Otogreftler	Allogreftler	Sentetik Materyaller
Kemik oluşturabilme yeteneğindeki işlenmiş hücreler (Kemik iliği ya da kök hücreler)	Greft işlenişine göre - Taze - Dondurulmuş - Dondurulmuş-kurutulmuş - Demineralize dondurulmuş-kurutulmuş (liyoflize) kemik	Osteokondüktif blok ya da granüller (biocoral, bioglass, HA ve TCP’ın hazırlanmış değişik formları)
Kansellöz (spongiyöz) kemik	Greft Anatomisine Göre - Kortikal - Kansellöz (Spongiyöz) - Osteokondral	Osteokondüktif simanlar
Non-vaskülerize kortikal kemik	Greft Sterilizasyonuna Göre - Steril şekilde işlenmiş - Radyasyon uygulanmış - Etilen dioksit uygulanmış	Osteoindüktif proteinler -BMP (kemik morfojenik proteinler) -sitokinler, büyüme faktörleri
Vaskülerize kortikal kemik	Kullanım şekline göre (hazır paket üründe) -Toz -Partiküllü -Jel - Macun (Putty) - Çip - Blok - Masif	Kompozitler

Greft materyallerinin diğer bir sınıflandırması ise Tablo 2 ve Tablo 3’te görülmektedir (89-94).

Tablo 2. Kemik esaslı greft materyalleri (89-94).

Otogreftler	Homogreftler	Heterogreftler
- Kortikal kemik - Kansellöz (spongiyöz) kemik - Kortiko-kansellöz (kortiko-spongiyöz) kemik	1. izogreft -Taze kansellöz (spongiyöz) kemik ve kemik iliği 2. Allogreft -Sterilize kansellöz (spongiyöz) kemik ve kemik iliği -Dondurulmuş-kurutulmuş (liyofilize) kemik -Demineralize dondurulmuş-kurutulmuş kemik	- Kaynatılmış kemik - Os purum - Anorganik kemik (deproteinize kemik) - Boplant(dondurulmuş kurutulmuş buzağı kemiği) - Kiel bone(kanatlı sternumu) -Mercan kaynaklı kalsiyum karbonat

Tablo 3. Kemik Esaslı Olmayan Kemik Grefti Materyalleri (89-94).

Doku kaynaklılar	Polimerler	Kalsiyum sülfat	Bioseramikler
- Dentin - Sement - Kıkırdak - Sklera - Duramater - diğerleri	- Polimetilmetakrilat - Proplast	- Paris Alçısı - Capset	- Trikalsiyum fosfat - Hidroksiapatit - Biyoaktif camlar (bioactive glasses)

Greftler alındıkları kaynaklara göre otojen (otojenöz), homojen (homojenöz), heterojen (heterojenöz, ksenogreft), alloplastik ve kompozit greftler olmak üzere beş sınıfta incelenebilir (2,79,81,84,85,95,96).

3.2.4.1. Otojen Greftler: Bireyin kendi herhangi bir bölgesinden alınıp başka bir bölgesine yerleştirilen, canlı osteoblast ve osteoprogenitör hücreleri içeren grefttir (2,97). Greft materyallerinin *altın standardı* olarak kabul edilmektedir. Otojen kemik greftlerinde kemik iyileşmesi osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon yoluyla olur, ancak otogreftler avantajlı

görünmelerine rağmen ikinci bir şirurjikal uygulama gerektirmeleri, anestezi süresinin uzaması, operasyon bölgesinde hematoma, enfeksiyon, ağrı, parestezi görülebilmesi, greft materyali alınan kemikte dayanımın azalması sonucu kemik kırıklarının oluşması, alınan greft materyalinin yetersizliği gibi bir çok dezavantajları bulunmaktadır.

Bu dezavantajları, başka yöntemlerin araştırılmasına ve geliştirilmesine yol açmıştır (82,98-105).

3.2.4.2. Homojen Greftler: Aynı türün genetik olarak benzer bireyleri arasında transfer edilen greft tipidir. Homojen greftler allogreftler ve izogreftler olmak üzere iki alt gruba ayrılabilirler (95).

3.2.4.2.1. Allogreftler: Aynı canlı türünün genetik olarak farklı bireylerinden elde edilen greft tipidir. Kadavradan veya canlı bireylerden (kalça kırığı gibi durumlarda) çıkarılan kemiklerin antijenitesini azaltarak reddini önlemek amacıyla deproteinizasyon, demineralizasyon, dondurma ve dondurup-kurutma (liyofilizasyon), kaynatma ve otoklavize etme, radyasyona tabi tutma gibi işlemlerle elde edilirler (2,79,81,82,84).

Hastalık taşıma ve reddedilme riskinin bulunması gibi dezavantajları yanında greftin kalitesi alındığı donöre bağlıdır (2,82,90,101,103).

3.2.4.2.2. İzogreftler: Tek yumurta ikizleri gibi genetik olarak aynı özellikleri taşıyan bir bireyden diğerine uygulanan greft çeşididir.

3.2.4.3. Heterojen (ksenogreft) Greftler: Farklı türde canlı dokularından elde edilen greftlerdir. Kemiğe benzer yapıda ve biyolojik olarak uyumlu oldukları için sığır kemiği ve doğal mercandan elde edilen iki tip osteokondüktif greft yaygın olarak kullanılmaktadır (106).

3.2.4.4. Alloplastik Greftler (biyomateriyaller): Canlı organizmayla antijenik olarak biyolojik uyumlu doku içine implante edilen sentetik veya deorganifiye edilmiş maddelerdir. (2,79,107).

Biyomateriyaller indüktif etkilerine göre üç ana grup halinde incelenebilirler:

3.2.4.4.1. Biyotolere Maddeler

Bu maddeler kemik dokusu içerisine yerleştirildiklerinde fibröz bir bağ doku ile sarılırlar ve materyal kemik dokusu ile doğrudan temas etmediğinden mesafe osteogenezi oluşmaktadır. Kırık fragmentlerinin tespitinde kullanılan krom-kobalt (Cr-Co) yapılı mini plaklar ve vidalar bu grupta incelenirler (2,79,82,107).

3.2.4.4.2. Biyoinert Maddeler

Bu maddeler kemik dokusu içerisine uygulandığında içerisinde etraflarında fibröz bağ dokusu oluşmaz ve materyal ile kemik dokusu arasında ki doğrudan temas ile temas osteogenezi izlenir. Titanyum ve alüminyum oksit seramikler bu grupta incelenirler (2,79,82,107).

3.2.4.4.3. Biyoaktif Maddeler

Bu maddeler kemik dokusuna kimyasal olarak bağlanırlar, yani birleşme osteogenezi gelişir. Bu materyallerin kemik hücrelerinin mitotik aktivitesini arttırarak iyileşmeyi ve yeni kemik oluşumunu hızlandırması beklenmektedir. Hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) bu grupta incelenirler (2,79,82,107).

3.2.4.4.3.1. Hidroksiapatit (HA)

Hidroksiapatit ($\text{HA-Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), kemiğin inorganik yapısının doğal bileşenidir. Greft materyali olarak günümüzde kullanılan HA başlıca sığır kemiği, insan kemiği veya *Porites* mercanlarının, por büyüklüğü 200 nm olan, kemik dokuya benzeyen kalsiyum karbonat yapıda bir iskeletinden elde edilir. Bu kalsiyum karbonat yapıda kimyasal bir reaksiyonla karbonat ile fosfatın yer değişimi sağlanarak HA elde edilir. Elde edilen materyal, kemiğin porlu yapısına benzer ve kimyasal kompozisyon olarak da kemik ile aynıdır. Kemiğe iyi şekilde bağlanabilme özelliğine sahip olan HA yabancı cisim reaksiyonu ya da inflamatuvar cevap oluşturmaz (33,108,109).

Sığır kemiğinden elde edilen HA 300 °C’de 15 saatten daha fazla bir süre ısıtma işlemi ile deproteinize edilerek ve böylece tüm organik ve olası antijenik özellikleri giderilir (33,108,110,111). Daha sonra alkalın ile işleme sokulan materyal 160°C’de sterilize edilerek yüksek porözite ile birlikte 10-60 nm büyüklüğündeki kristal yapısının oluşmasını sağlamaktadır. olması sağlanmıştır (33,108).

Kemiğin tamamen deproteinize edilmesiyle elde edilen HA osteokondüktif doğal bir greft materyalidir. Çalışmalarda HA’in yapısı kemik ile

karşılaştırıldığında daha geniş bir iç yüzeye ve poröziteye, kemik ile benzer kristal yapıya, elastikiyete, kimyasal bileşime ve kalsiyum/fosfor oranına sahip olduğu gösterilmiştir (31).

HA'ın porları bağlantılı ağ şeklinde bir yapısının olması anjiogenezisi ve osteoblastların migrasyonunu kolaylaştırır, yeni kemik oluşumu için bir yardımcı çatı görevi görür. İç yüzeyin geniş olması yeni kemiğin bu bölgede yerleşmesine ve büyümesine olumlu yönde etki ederek greft materyali kemik ile bağlanmaktadır (33,108). HA içindeki kalsiyum ve fosfor bileşenleri, anorganik kemik matriksinin kimyasal analizi ile belirlenmiştir. Anorganik kemiğin infrared (kızılötesi) spektrum ve X-ray difraksiyon yöntemi ile incelemesinde kalsiyum oranı $\% 37,1 \pm 0,7$, fosfor oranı $\% 17,8 \pm 0,5$ ve kalsiyum /fosfor oranı da $2,1 \pm 0,1$ olarak saptanmıştır. Bazı çalışmalarda ise kalsiyum /fosfor oranı 1,80; kalsiyum oranı $\% 38,5$; fosfor oranı $\% 17,1$; magnezyum oranı $\% 0,49$ olarak saptanmıştır. Bunun yanında 209 ppm stronsiyum, 125 ppm baryum, 10 ppm nikel, 146 ppm çinko içerdiği de saptanmıştır (31).

3.2.4.4.3.2. Trikalsiyum Fosfat (TCP)

Trikalsiyum Fosfat [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] fosforik asitin kalsiyum tuzudur, kemik külü olarak ta bilinir. HA'e çok benzer ancak kemiğin doğal bir bileşeni değildir. Doğada kayaç şeklinde bulunabilen bileşik sentetik olarak üretilir. Trikalsiyum fosfat kemik grefti olmasının yanında ayrıca absorbent, antikoagulant, hayvan yemi mineral katkısı, gıdalarda topaklanmayı önleyici ve tamponlayıcı ajan olarakta endüstride sıklıkla kullanılır. Kemik greft materyali olarak kullanılan sentetik bileşiğin α -TCP non-poröz yapıda iken β -TCP kalsiyum

fosfatın poröz formudur. Kalsiyum fosfat oranı 3/2'dir. TCP osteokondüktif bir sentetik seramik olup kemik oluşumu için bir çatı oluşturarak yeni kemikle yer değiştirir. TCP kısa dönemli biyolojik bir dolgu maddesi olup enkapsülasyon olmadan zamanla osteoblastlar tarafından rezorbe edilir. TCP'in rezorpsiyon oranındaki değişiklikler materyalin kimyasal özelliğine, porözitesine ve partikül büyüklüğüne göre değişmektedir. Isıya ve sterilizasyona karşı çok duyarlıdır. Greft materyalin defekte tespit ve başarısını arttırabilmek için osteojenik materyaller ile birlikte kullanılabilir.

TCP greft materyalleri güvenli olup, inflamasyon ve yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaz doku uyumları mükemmeldir. (11,47,112).

3.2.4.4.3.3. Koral

Doğal deniz mercanı olarak bilinen koralin bazı türlerinin iskeleti spongiyöz kemik yapısında olduğu gibi birbirleriyle bağlantılı por yapısına sahip olduğu keşfedildikten sonra araştırmacılar tarafından kemik grefti yerine kullanılmaya başlanmıştır. Antozoa sınıfının Hexacorallia alt sınıfına ait aragonit iskelete sahip Scleractinia/Madrepোরaria takımından Poritidae ailesinden porites veya goniopora cinsi koralin kemik grefti yerine kullanıldığı bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda koral yapısı gereği kolayca şekillendirilen, biyolojik olarak inert ve zamanla dokuda rezorbe olan kalsiyum karbonat yapısında olduğu anlaşılmıştır (7,113-115).

Koral osteokondüktif bir greft materyalidir, uygulandığı bölgede yapı iskelesi görevi görür. Koralin poröz ve birbiri ile bağlantılı yapısı organizma dokularıyla bağlantı kurması, hücre infiltrasyonlarına izin vermesi ve burada oluşan dokuların vaskülarizasyonuna yardımcı olması nedeniyle tercih edilmektedir.

Korallin kimyasal yapısı kemik doku ile karşılaştırıldığında kalsiyum ve içerdikleri diğer elementlerin benzediği anlaşılmıştır. Koral iskeleti %99 inorganik, %1 ise organik bileşenlerden oluşur. Koralde bulunan bazı iz elementler kemikte de mevcut olduğundan yeni oluşan kemik dokunun mineralizasyonu da hücre içi enzimatik faaliyetlerin başlamasına yardımcı olur. Doğal koral iskeleti kalsiyum karbonattan oluşur ve yapısında çok az organik madde bulunduğundan antijenik reaksiyon oluşturmaz. Greft materyali olarak kullanılacak korallın por çapı hücre ve vasküler yapıların yerleşmesine izin verecek kadar en az 50- 150µm arası olmalıdır. 150 µm den büyük por çapları mineral kemik invazyonunu kolaylaştırır (7,113-115).

3.2.4.4.4. Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

Doku ve kandaki sitokinler ile büyüme faktörlerinin keşfiyle araştırmacılar son yıllarda kemik ve yumuşak doku rejenerasyonunda bu maddelerin etkileri üzerine yoğun bir şekilde çalışmaktadırlar (116).

Bu faktörler hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması, sekresyonu ve rezorpsiyonunu etkileyerek kemik ve doku rejenerasyonunu stimüle eder. Yara iyileşmesinde bazı spesifik hücreler tarafından salınan bu faktörlerin organizmadaki görevleri, kemotaksis, proliferasyon, hücre farklılaşması ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretilmesi gibi hücresel olayların çoğunu düzenlemektir. Bu görevlerini yüksek afiniteli hücre membran reseptörlerine bağlanarak yerine getirirler (106,116).

Büyüme Faktörleri ve Sitokinler hakkında özet bilgiler Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin hedef dokuları ve etkileri.

Sitokin	Salgılandığı kaynak	Hedef Yapı	Etkisi
TGF- α (Transforming growth factor- α)	Makrofaj, keratinosit	Keratinosit	Re-epitelizasyon
TGF- β (Transforming growth factor- β)	Trombosit, t-lenfosit, makrofaj, monosit, nötrofil	Fibroblast, kemik iliği hücreleri, endothelial hücreler, preosteoblastlar	Osteoblast, fibroblast proliferasyonu damarlanma, kollajen sentezi, kollajenaz kontrolü
PDGF (Platelet derived growth factor)	Trombosit, monosit, makrofaj, endothelial hücreler, düz kas hücreleri	Fibroblast, düz kas hücreleri, glia hücreleri, makrofaj, nötrofil, osteoblast	Fibroblast, glia, düz kas hücrelerinde kemotaksisi ve proliferasyonu, kollajen sentezi, makrofaj aktivasyonu
PDAF (Platelet derived angiogenesis factor)	Trombosit, endothelial hücreler	Endothelial hücreler	Damarlanma, diğer büyüme faktörlerinin kontrolü
PDEGF (Platelet derived epidermal growth factor)	Trombosit, makrofaj, monosit	Fibroblast, endothelial hücreler, epitel hücreleri	Proliferasyon, damarlanma, kollajenaz kontrolü
IGF-I (İnsulin like growth factor-I)	Trombosit, osteoblast, makrofaj, kondrosit	Fibroblast, osteoblast, kondrosit	Osteoblast proliferasyonu, osteoblast sentezi, damarlanma
EGF (Epidermal growth factor)	Trombosit, makrofaj, monosit	Fibroblast, keratinosit	Re-epitelizasyon, farklılaşmayı kontrol eder, fibroblast proliferasyonu
VEGF (Vascular endothelial growth factor)	Makrofaj, keratinosit	Endothelial hücreler	Damarlanma
FGF (Fibroblast growth factors 1,2,4)	Makrofaj, endothelial hücreler	Fibroblast, keratinosit, endothelial hücreler	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis, damarlanma

3.2.4.4.1. Kemik Proteinleri

Osteoindüktif bir protein olan Bone Morphogenic Protein (BMP) implante edildiği bölgede büyüme faktörlerinden farklı olarak farklılaşmış hücreleri kıkırdak veya kemik oluşturan hücrelere dönüştürerek yeni kemik oluşumunu uyarır. (2).

Osteoblastlar tarafından sentezlenip kemikte depolanan Osteoindüktif proteinler (OP 1) demineralize kemik matriksinden izole edilmişlerdir ve kemik büyümesini indüklerler. Recombinant Human BMP-2 (rhBMP-2) ve Bovine BMP (sığır BMP) gibi proteinler osteogenezi uyarak diğer greft materyallerinin tedavi

edici etkilerini arttırmak için kullanılırlar. Son zamanlarda bazı implant yüzeyleri de bu maddelerle kaplanabilmektedir (82,106).

3.2.4.4.2. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Fibrin yapıştırıcıları keşfedildiği 1970'lerden beri cerrahide vasküler anastomozlarda suture deliklerinin kapatılması, akciğer rezeksiyonları sonrası hava kaçağı ve kanamanın önlenmesi, ciddi yanık vakalarında hemostazın sağlanması, trakeal ya da özefageal anastomozların örtülmesi, sinir greftlerinin rekonstrüksiyonu, vasküler tümörlerin embolize edilmesi, kafa tabanı kırıklarında meydana gelen serebrospinal sıvı fistüllerinin örtülmesi, kardiyak cerrahi, karaciğer ve dalak yaralanmalarında kanamanın kontrol edilmesi, eklemde ayrılan kırıkta dokuların yerine yapıştırılması, periosteal ve perikondreal greftlerin korunması ve süngerimsi kemik parçacıkları ile beraber kemik içi defektlerin doldurulması gibi oldukça çeşitli kullanım alanları bulmuşlardır (5,117,118).

Üretim maliyetlerinin fazlalığı kadar, içerdiği konsantre fibrinojenin de az oluşu fibrin yapıştırıcılarının beklenen başarıyı elde edememesine neden olmuştur. Bu ideal hemostatik ajanı bulmak için ileriki dönemde gerçekleştirilen araştırmalar, 1990'ların başında otolog platelet jel'in bulunmasına kadar devam etmiştir (5,117,118).

İlk defa 1997'de Whitman ve arkadaşlarının (117) tanıttığı trombositten zengin plazma (TZP); trombosit konsantrasyonunu artırmak için kan birkaç defa santrifüjlenerek (106,116) konsantre edilmiş otojen plateletlerden oluşan bir kan komponentidir ve aralarında Transforming Growth Factor (TGF), Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) ve Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF) gibi

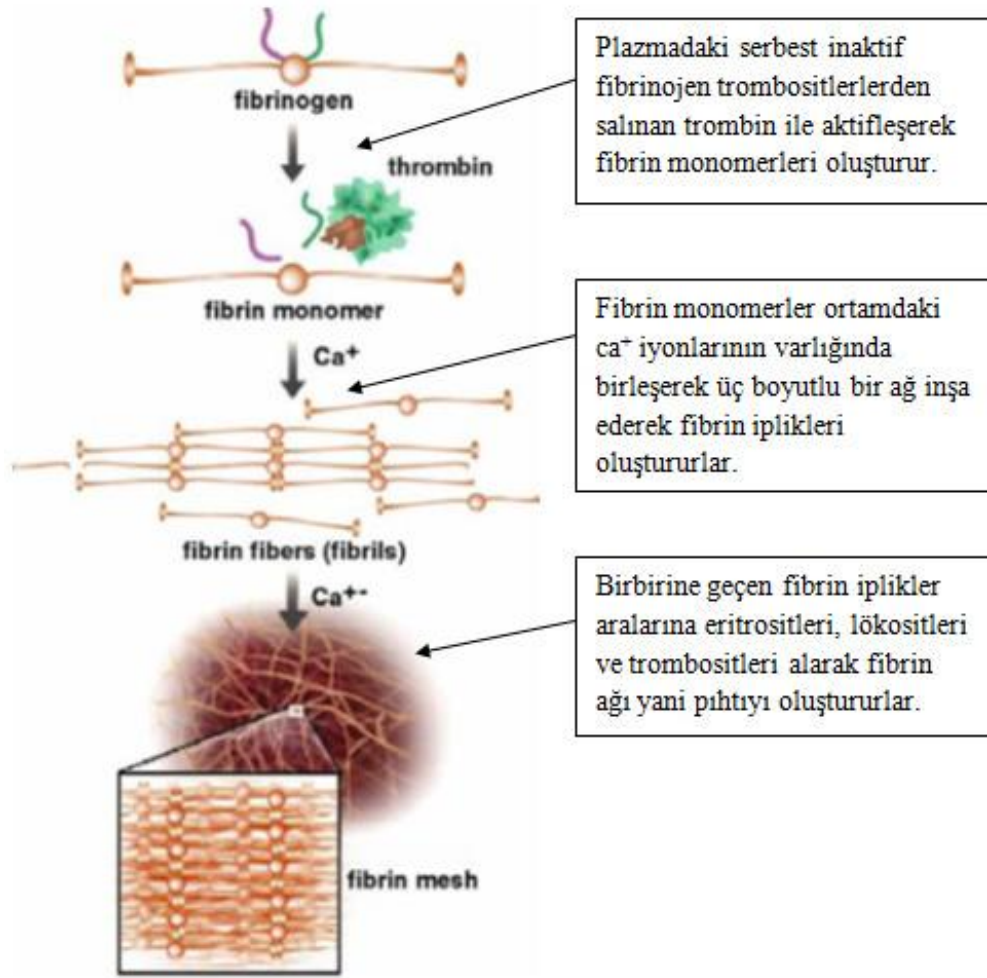
büyüme faktörlerini içerir. TZP içerdiği büyüme faktörleri ile yumuşak ve sert doku iyileşmesi, osteogenez ve anjiyogeneze yardımcı olurken greft materyaliyle karıştırılarak greftlerin defekt bölgesine tespitine yardımcı olmaktadırlar (5,117,119,120). TZP avantajlı gibi görünmesine rağmen zaman içinde trombositlerin kimyasal olarak yeteri kadar aktive edilememesi sığır trombin eklenmesi ve kit gerektirmesi gibi nedenlerle yerini trombositten zengin fibrine bırakmıştır.

3.2.4.4.3. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

Fibrin, kanda ki inaktif fibrinojenin aktive edilmiş formudur. Plazmadaki serbet fibrinojen trombosit agregasyonu ile açığa çıkan trombin tarafından aktive edilerek kalsiyum iyonlarının varlığında fibrin iplikler oluşturur ve oluşan bu iplikler aralarına kanın şekilli elemanlarını alarak fibrin ağı örerler. Bu bilinen normal pıhtılaşma mekanizmasıdır.

Çözülebilir bir protein olan fibrinojen hemostaz sırasında, trombin tarafından çözülmemeyen bir molekül olan fibrine dönüşerek kanama bölgesinde biyolojik yapıştırıcı olan fibrin jeli meydana getirerek vasküler defekti kapatır. Bu fibrin matriks içindeki hücrelerden yara iyileşmesini uyaran büyüme faktörleri ve sitokinlerde salgılanmaktadır.

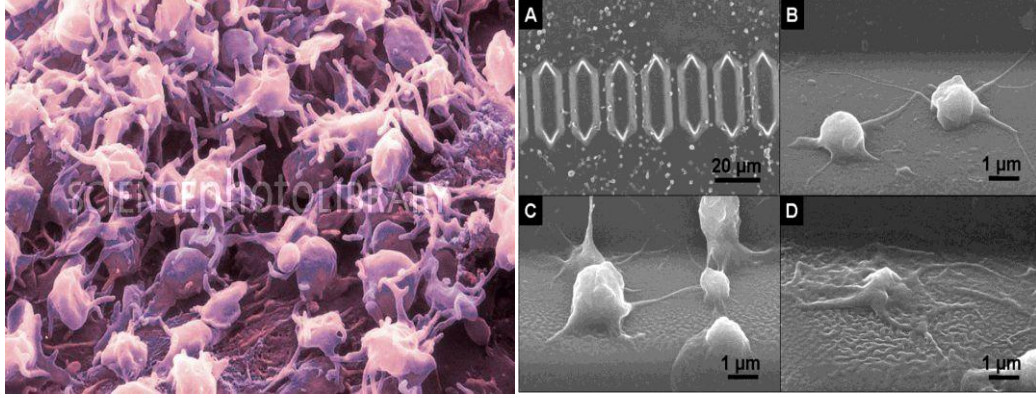
Trombositlerin bu özelliklerinden yararlanarak fibrin yapıştırıcılar, Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve son olarak geliştirilen ikinci kuşak trombosit konsantrasyonu olarak da TZF gibi uygulamalar geliştirilmiştir.



Şekil 3. Pıhtılaşma mekanizması (29).

Doku hasarında trombositler, kalıcı bir kan pıhtı oluşturup yara iyileşmesini başlatmak, desteklemek ve devam ettirmek için büyüme faktörlerinin salınmasından sorumludur. Trombositlerdeki sitokinler ve büyüme faktörlerinin kemik ve yumuşak doku metabolizması üzerine etkilerini spesifik hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak gösterdikleri çalışmalar mevcuttur (17,18,121).

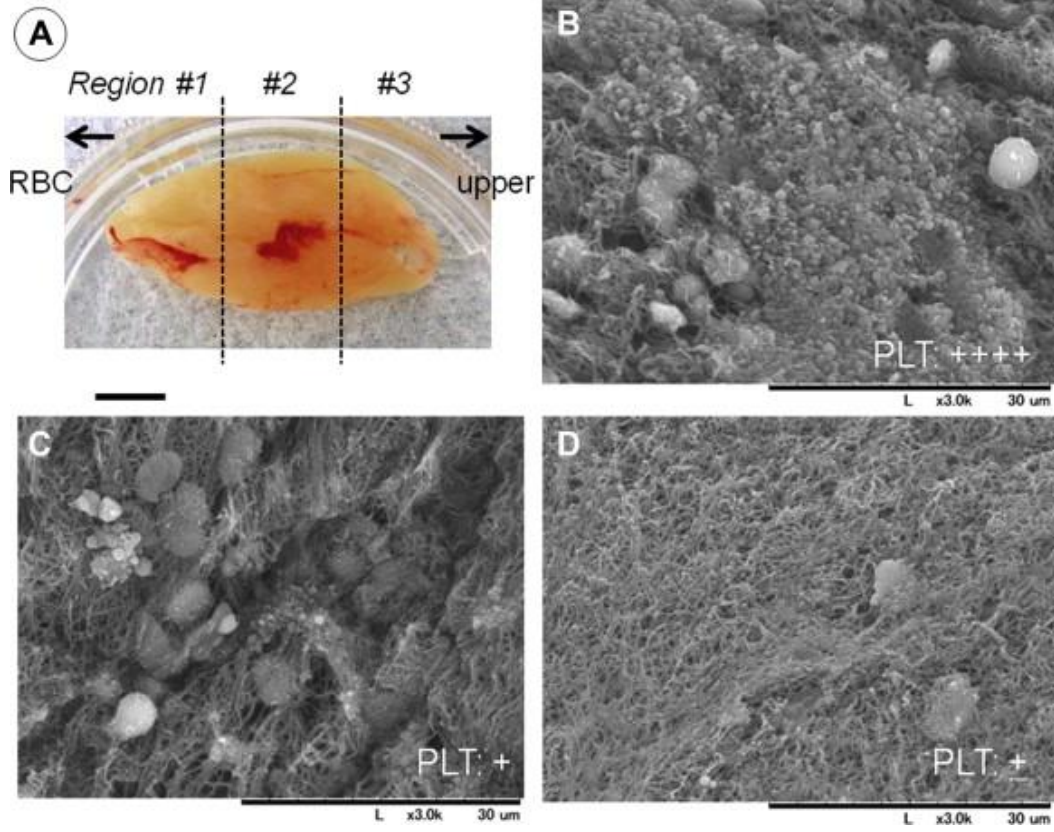
Trombositten Zengin Fibrin Fransa'da Choukroun ve arkadaşları tarafından oral ve maksillofasiyal yumuşak ve sert dokularda hemostaz ve yara iyileşmesinde etkili otojen doğal bir greft materyali olarak geliştirilmiştir(11,16-19,33).



Şekil 4. Aktif trombositler renkli ve normal SEM(122).

TZF 10 ml'lik otojen kan alınıp antikoagülan, sığır kaynaklı trombin veya başka kimyasal madde içermeyen steril cam tüpte 10 dk 400 g'de santrifüje edilerek hazırlanmaktadır. En altta kırmızı kan hücrelerini içeren tabaka, ortada yoğun bir şekilde trombosit içeren TZF ve plazma olmak üzere tüpte üç tabaka oluşmaktadır. TZF'de pıhtılaşma kan cam tüp yüzeyine değdiği anda doğal olarak başlamaktadır. Santrifüj hızının düşük olması fibrin ağın doğal fibrin ağına çok benzemesine, trombosit ve sitokinlerin rahat migrasyonuna izin vermektedir. Ayrıca trombositler kimyasal olarak antikoagülan ile baskılanmadığı için çok daha iyi aktive olup TZF ve fibrin yapıştırıcı oranla daha fazla büyüme faktörü ve sitokinin ortama salınmasıyla hemostatik ajandan çok yara iyileşmesini hızlandıran bir materyal olarak nitelendirilmesine sebep olmaktadır (11,16-19,33).

TZF içerisinde lökositler tarafından salgılanıp polimorfonükleer lökosit, makrofaj gibi hücreleri aktive edilip inflamasyon kontrolünde görev alan sitokinler de tespit edilmiştir. TZF'deki sitokinlerin hızlı hücresel cevapla savunma mekanizması oluşturular. Çalışmalar sitokinlerin remodeling aşamasında yavaş salınarak uzun dönemde etkili olduklarını gösterilmiştir (11,16,18).



Şekil 5. TZF ve SEM görüntüleri (123).

3.2.4.4.3.1. TZF'deki Trombositlerden Salgılanan Sitokinler

TZF içinde bulunan trombositlerin α (alfa) granüllerinden Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF), Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β) ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I (IGF-I) gibi sitokinler salınır. Bu faktörlerin TZF'nin içerisinde bulunduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bu büyüme faktörlerinin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinden dolayı, TZF'nin kullanımı yaygınlaştırmaktadır (11,17,19,33).

3.2.4.4.3.2. TZF'deki Lökositler Tarafından Salgılanan Sitokinler

IL-1 β (Interlökin-1 β)

IL-6 (Interlökin-6)

TNF- α (Tümör Nekroze Edici Faktör α)

IL-4 (Interlökin 4)

VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

3.2.4.4.3.3. Trombositten Zengin Fibrinin Avantajları

Operasyon bölgesinde vasküler hemostaz ile kanamanın azalması, büyüme faktörleri dokuların vaskülarizasyonunun ve yumuşak ve sert doku iyileşmesini hızlandırması, adeziv yapısı ile greft materyalinin tespitini sağlaması, toksik olmaması, otojen olduğu için immün reaksiyonlara enfeksiyöz hastalıkların geçişine sebep olmaması yani doku uyumlu olması, kısa sürede ve kolayca hazırlanması, içerdiği lökosit sitokinleri ile enflamasyon ve enfeksiyonu baskılaması gibi birçok avantajı vardır.(11,16-19,123).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalında yapılan bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi Hayvan Deneyleri Etik kurulunun 09.06.2010 tarih ve 59 numaralı kararı ile onaylanmış ve 2078 proje numarası ile Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi tarafından 29.09.2010 tarih ve 2010/5 sayılı oturumunda alınan kararı ile desteklenmiştir.

4.1. Hayvanlar ve Protokol Dizaynı

Çalışma da 24 adet 5-6 aylık erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar biriminden sertifikalı olarak temin edildi ve deney süresince bakım ve beslenmesi aynı birimde yapıldı. Tavşanlar rastgele 30 ve 60 günlük postoperatif takiplerini yapmak üzere her grupta 12 adet olacak şekilde gruba ayrıldı. Tüm operasyonlar Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Küçük Hayvan Kliniği operasyon salonunda yapıldı. Radyografiler Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı radyoloji ünitesinde GMM (General Medikal Marete) G 800 rad 1000 mA ve 40-150 kv cihazı ile dijital olarak alındı.

4.2. Greft Materyalleri

Çalışmada oluşturulan defektlerin doldurulması amacıyla koral, TCP, HA ve TZF kullanıldı.



Şekil 6. Koral greft (*Madracis* sp.).

Madreporaria takımına ait koraller (Şekil 6) distile su ile yıkanıp kurutulduktan sonra steril havanda ezilerek granüller elde edildi. Greft olarak uygulanacak 0,5-1 mm boyutlarında granülleri elde etmek için elemeye tabi tutuldular. Uygun boyutlardaki bu granüller operasyondan önce 24 saat kristal penisilin (kristapen, Deva, penisilin G potasyum 1.000.000IU) solüsyonunda bekletildi (Şekil 7).



Şekil 7. Uygulamaya hazır koral greft.

Operasyon sırasında defektleri doldurmak için steril paketlerinden çıkartılarak kullanılan TCP (0.3-0.6 mm, 1g, Poresorb-TCP, Lasak, Czech Republic) (Şekil 8) ve HA (0.3-0.6 mm, 1 g, Idrossilapatite AT[®], Monouso, Padova) (Şekil 9) hazır ticari preparatlar.

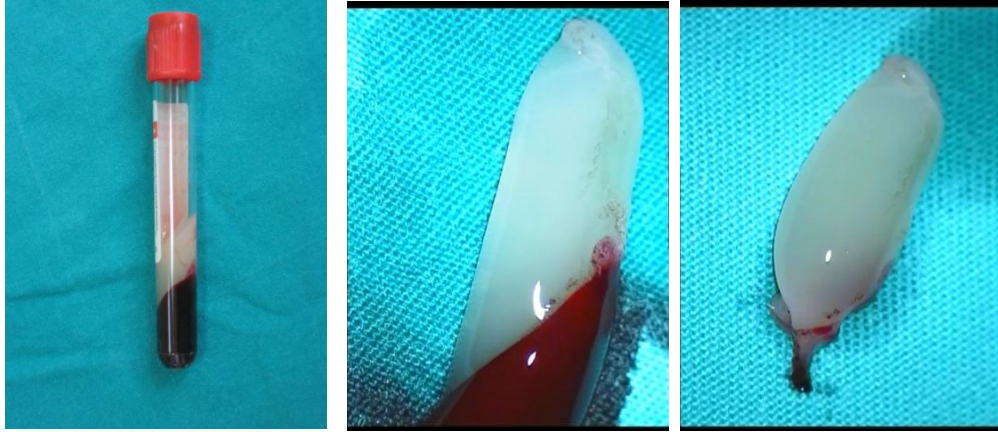


Şekil 8. Kullanılan hidroksiapatit greft materyali.

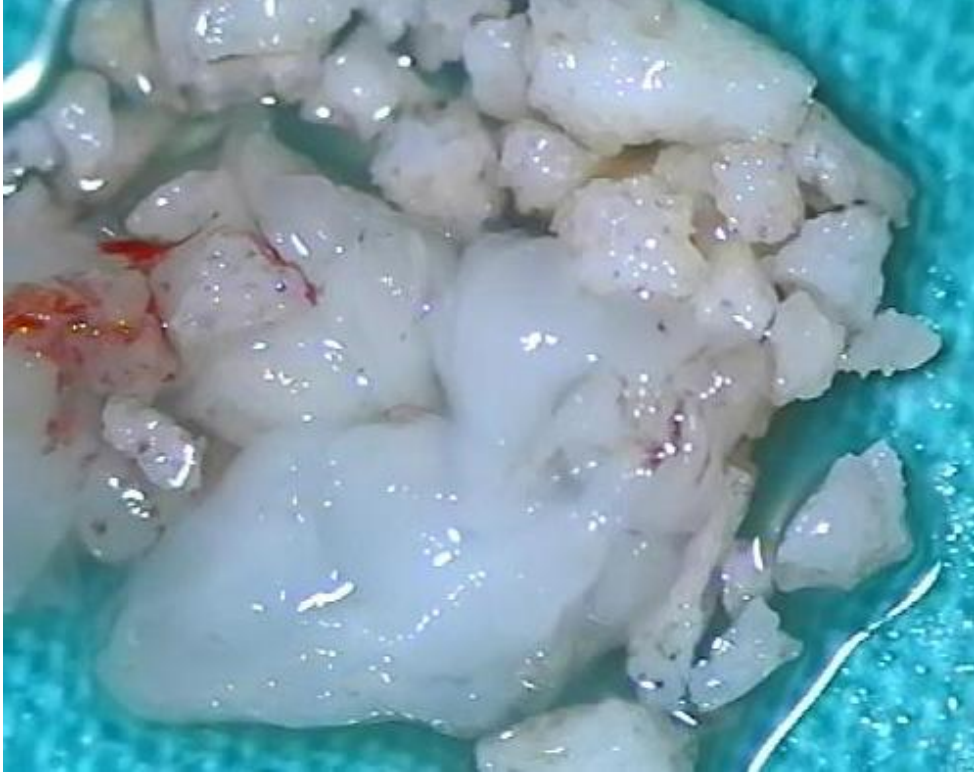


Şekil 9. Kullanılan trikalsiyum fosfat greft materyali.

Tavşanlardan anestezi uygulanmasından sonra hemen kullanılmak üzere deneklerden operasyon öncesi steril şartlarda vena jugularis'ten 8 ml kan alınıp 400 g'de 10 dk sanrifüj işlemi yapılarak trombositen zengin fibrin hazırlandı.



Şekil 10. Trombositen zengin fibrin.



Şekil 11. Trombositten zengin fibrinin koral ile karıştırılmış hali.



Şekil 12. Trombositten zengin fibrinin HA ile karıştırılmış hali.



Şekil 13. Trombositten zengin fibrinin TCP ile karıştırılmış hali.

4.3. Anestezi

Tavşanlara anestezi için 5 mg/kg dozunda Xylazine hydrochloride (Rompun, Bayer, 23.32mg/ml) kas içi enjekte edildikten 10 dakika sonra, 35 mg/kg kas içi Ketamin hydroclorur (Ketalar, Parke-Davis, 50 mg/ml) uygulandı.

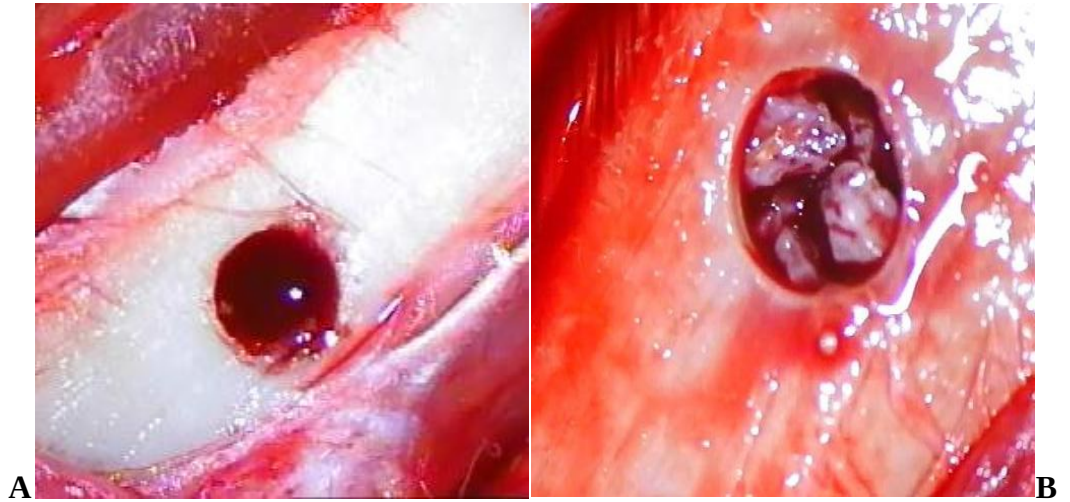
4.4. Operatif prosedür

Tavşanlarda sağ ve sol tibianın proksimal medial yüzleri operasyon yeri olarak seçildi. Bölgenin tıraşı ve %10'luk povidon iodine ile dezenfeksiyonunun ardından tibianın medial yüzü üzerinde subkutan fasia deri ile aynı hat üzerinde ensize edilerek açıldı. Bu işlem sırasında bölgedeki damar ve sinirlerin korunmasına dikkat edildi.

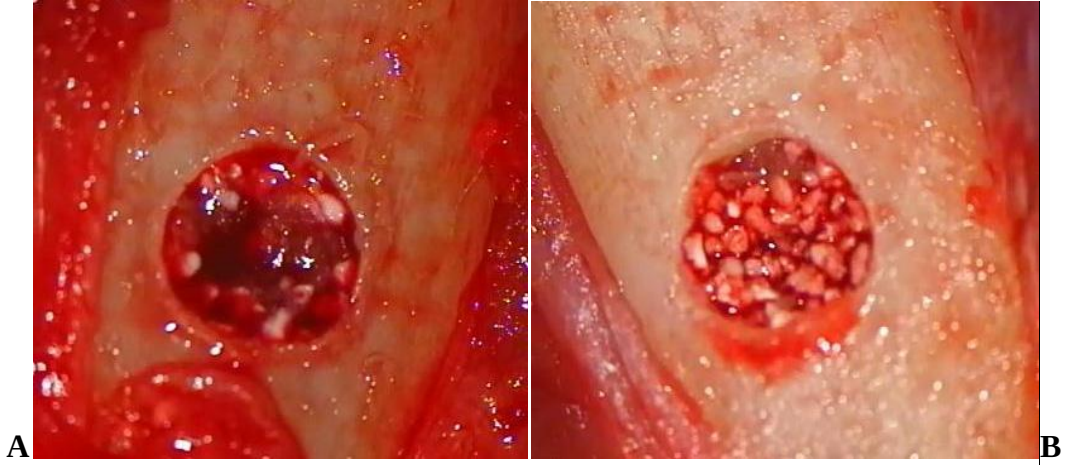
Tibia'ya ulaşıldıktan, periost ensize ve ekarte edildikten sonra, kemik korteksine aralarında 1cm boşluk olan 3,5 mm çapında bir dril yardımıyla medullar kanala ulaşacak ikisi sağ ikisi sol tibia'da olmak üzere toplam 4 adet kortikal defekt oluşturuldu. Oluşturulan toplam 96 defekte birinci grupta boş bırakıldı (kontrol grubu), diğer gruplarda sırasıyla TZF, β -TCP, HA, koral, β -TCP+TZF, HA+TZF, koral+TZF uygulandı. Yapılan greft uygulamaları Tablo 5'te verilmiştir.



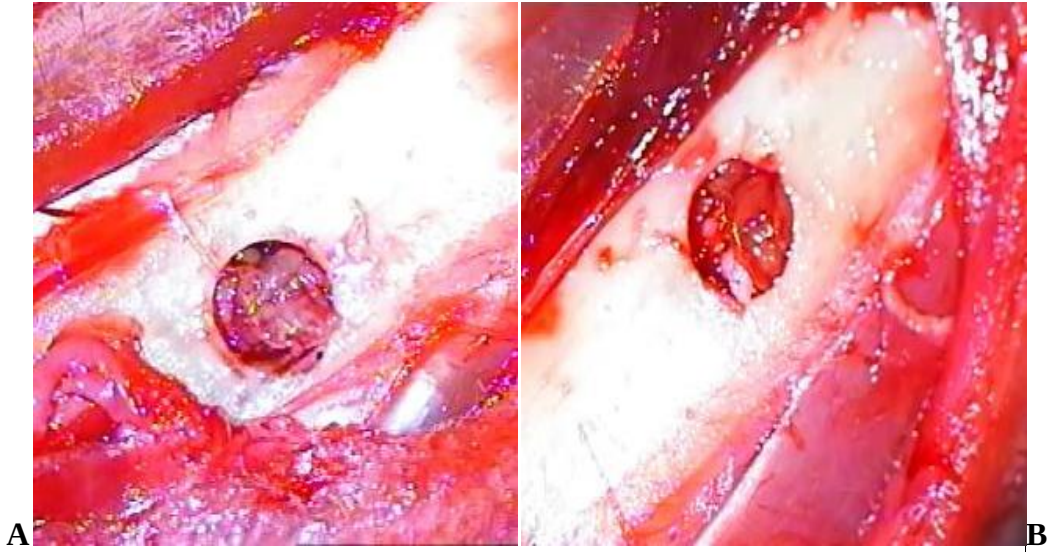
Şekil 14. (A) Tibia'nın medial yüzünde yapılan ensizyon, **(B)** tibiada oluşturulan defektler.



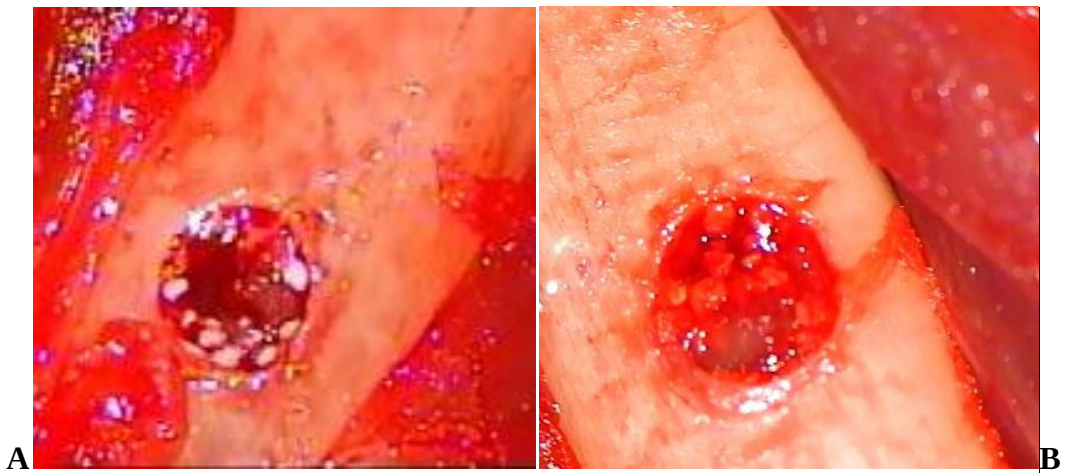
Şekil 15. (A) Graft materyali uygulanmamış kontrol defekti, **(B)** koral uygulanmış defekt.



Şekil 16. (A) HA uygulanmış defekt, (B) TCP uygulanmış defekt.



Şekil 17. (A) TZF uygulanmış defekt, (B) koral+TZF uygulanmış defekt.



Şekil 18. (A) HA+TZF uygulanmış defekt, (B) TCP+TZF uygulanmış defekt.

Tablo 5. İzleme süreleri ve uygulandıkları gruplara göre defekt sayıları.

Gruplar	Postoperatif izleme süreleri	
	30 Gün	60 Gün
1 Kontrol	6	6
2 Koral	6	6
3 HA	6	6
4 TCP	6	6
5 TZF	6	6
6 Koral+TZF	6	6
7 HA+TZF	6	6
8 TCP+TZF	6	6

Operasyon bölgesi periost ve kaslar 3/0 numara krome katgüt, deri ise 2/0 numara ipek iplik kullanılarak rutin cerrahi kurallara uygun olarak kapatıldı. Operasyon yaraları koruyucu pansuman ile kapatıldı. Deneklere postoperatif günde bir kez 400.000 IU prokain penisilin 5 gün süre uygulandı. Her gün pansumanları değiştirilerek yaralarının iyileşme durumları gözlenerek not edildi. 10. günde deri dikişleri alındı.

4.5. Radyolojik Muayeneler

Operasyondan hemen sonra ve her 15 günde bir anterio-posterior ve medio-lateral radyografiler alındı. Alınan radyografiler modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skorlama kriterlerine (124) göre değerlendirildi (Tablo 6). Bu yöntemle göre radyolojik olarak kemik formasyonunun yokluğu veya kemik defektinin %25, %50, %75 veya %100'ünün yeni kemik formasyonu ile doldurulup doldurulmadığı değerlendirildi.

Tablo 6. Modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skorlama kriterleri (124).

Kemikleşme	Skor
Kemik defektinde yeni kemik oluşumu yok	0
Kemik defektinin %25' i yeni kemik ile dolmuşsa	1
Kemik defektinin %50'si yeni kemik ile dolmuşsa	2
Kemik defektinin %75' i yeni kemik ile dolmuşsa	3
Kemik defektinin %100' ü yeni kemik ile dolmuşsa	4

4.6. Histopatolojik Muayeneler

30 ve 60 günlük izleme gruplarındaki deneklerden altı adedi 30. günde, kalan altı adedi ise 60. günde karbondioksit uygulanarak ötenazi edilip tibiaları alındı.

Toplanan materyaller makroskobik muayene sonrasında histopatolojik muayeneler için % 10'luk formalin solüsyonuna konularak 7 gün süreyle tespit edildi. Greft bölgesini içeren kemik örnekleri 15 ml nitrik asit, 10 ml % 10'luk formalin solüsyonlarının distile suyla 100 ml' ye tamamlanmasıyla hazırlanan dekalsifikasyon solüsyonunda dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon işlemi sırasında kemikler sık sık kontrol edilerek dekalsifiye olanlar çıkarılıp akan musluk suyunda yıkanarak dekalsifikasyon solüsyonundan arındırıldı. Hematoksilin-eosin ile boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirildi. Histopatolojik muayeneler Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı' laboratuvarlarında uzman patolog tarafından yapılmıştır.

5. BULGULAR

Bu çalışmada bulgular greft materyallerine ait bulgular, operasyon bulguları, klinik bulgular, radyolojik bulgular ve histolojik bulgular olmak üzere 5 bölümde incelenmiştir.

5.1. Greft Materyallerine Ait Bulgular

5.1.1. Koral'e Ait Bulgular

Greft materyali olarak kullanılan doğal koralin *Madreporaria* takımına ait *Madracis sp.* ve por çapının 400-800 µm arasında olduğu tespit edildi. Yapısında protein varlığı belirlenemezken, %2 organik ve % 98 inorganik maddeden oluştuğu tespit edilmiştir.

XRD (X-ray Diffraction) analizi yapılan koral örneklerinin aragonit (Kalsiyum karbonat - CaCO_3) yapısında olduğu tespit edilmiştir. Greft materyali hazırlamak için koral dallarının uç kısımları tercih edilmiştir. Çok kolay şekillendirilen koralin porselen havanda ezilerek elde edilen granüllerinde poröz yapısı net olarak görülmekteydi (Şekil 7).

5.1.2. HA'e Ait Bulgular

Steril paketlenmiş ticari preperat halindeki HA granüllerinin mat beyaz daha pürüzsüz olduğu görülmüştür (Şekil 8).

5.1.3. TCP'a Ait Bulgular

Steril paketlenmiş ticari preperat halindeki TCP granüllerinin hafif parlak, şeffafimsı ve girintili yapısı dikkat çekerken, koralle yapısal benzerliği dikkat çekmiştir (Şekil 9).

5.1.4. TZF'ye Ait Bulgular

Deneklerden steril şartlarda plain tüpe alınan 8 ml kanın 400 G' de 10 dk santrifüjünden sonra, tüpün en altında görülen kırmızı renkli eritrosit tabakası, ortada TZF ve üste az miktarda hücre içermeyen plazma kısmı olmak üzere tüpte üç tabaka oluştuğu gözlemlendi (Şekil 10). Operasyon sırasında tüpten petri kabına alınan TZF yarı şeffaf jel formunda olduğu, kolayca eritrosit tabakasından ayrıldığı, doğal pıhtı kıvamında olup ve şeklini koruduğu görüldü (Şekil 10).

Bistüri ile kolayca defekt büyüklüğünde parçalara ayrılan TZF, koral HA ve TCP ile karıştırılmak üzere daha küçük parçalara ayrıldı ve kalsiyum kaynaklı greftlerle kolayca karıştırıldı.

5.2. Operasyon Bulguları

Operasyonlar sırasında herhangi bir anormal bulguya rastlanmazken, tavşanların metabolik hızlarının yüksek olması nedeniyle verilen anesteziik maddelerin dozu genellikle operasyon süresi için yeterli gelmediğinden idame dozlar uygulama zorunluluğu doğmuştur. Bu sorunu aşmak için ortalama kan alınmasını takiben tek bir deney hayvanının operasyon süresinin ortalama 30 dk'yı aşmamasına dikkat edildi. Granüler yapıdaki kalsiyum kaynaklı greftlerin defekte yerleştirilmesinin, TZF ve TZF ile karıştırılarak uygulanan gruplara göre daha zor olduğu tespit edildi. Defektlerdeki sürekli kanama granüllerin defekt dışına dağılmasına neden olurken, TZF ve TZF ile karışan granüller fibrinin defekte hemostaz sağlaması ile defekt içine daha iyi tespit edildiği görülmüştür.

5.3. Klinik Bulgular

Deney hayvanlarının operasyonlardan sonra anesteziden uyanması sırasında herhangi bir komplikasyon oluşmadan çabuk şekilde uyanıp normal fonksiyonlarına kavuştuğu görülmüştür. Operasyondan sonra hayvanların yem ve su tüketimlerinde azalma, hareket ve yürüme bozukluğu görülmezken, tavşanların ilk bir haftada hayvanların zıplama ve aşırı hareketlerden kaçındığı gözlenmiştir.

Operasyon bölgeleri basit pansumanla kapatılan hayvanlarda günlük bakımları ve temizliği yapılan operasyon yaralarının 10. gün dikişleri alındı ve yaraları komplikasyonsuz iyileşti. Altıları kalın talaş ile kaplı beton yer ünitelerinde bakılan deneklerin operasyondan iki üç hafta sonra normal yürüdükleri görüldü. Ancak aşırı zıplama hareketleri nedeniyle iki hayvanın tibialarının distal kısmında kırık şekillendi. Defekt bölgesini etkilemeyen bu kırık olgularında ilgili bacak PVC destekli bandajla tespit edildi.

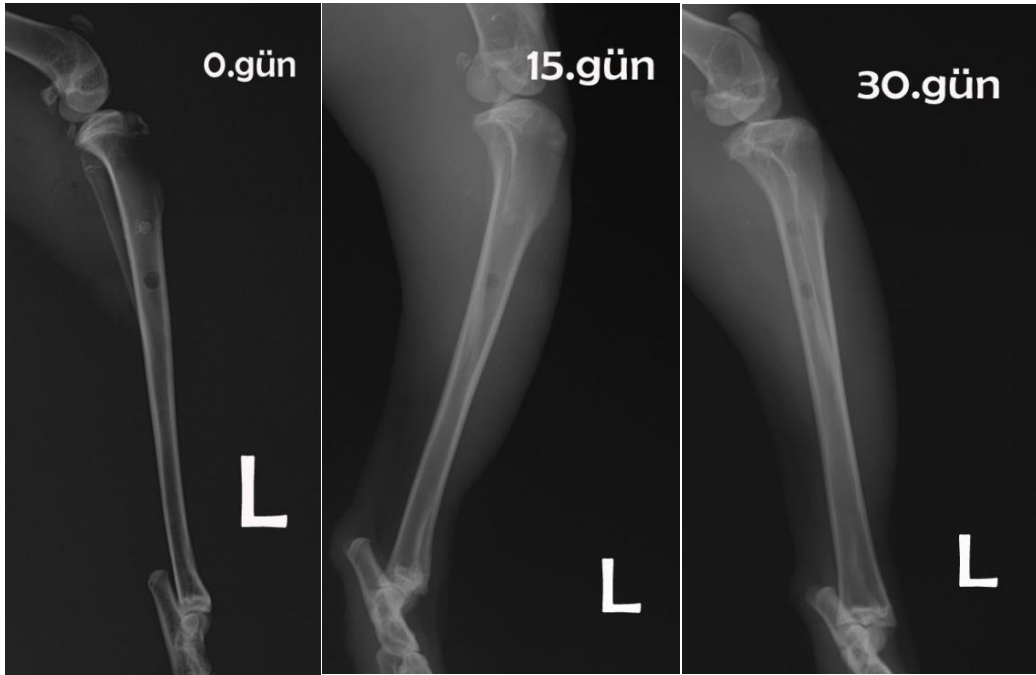
5.4. Radyolojik Bulgular

Kullanılan greft materyallerine göre bulgular 8 grup altında değerlendirildi.

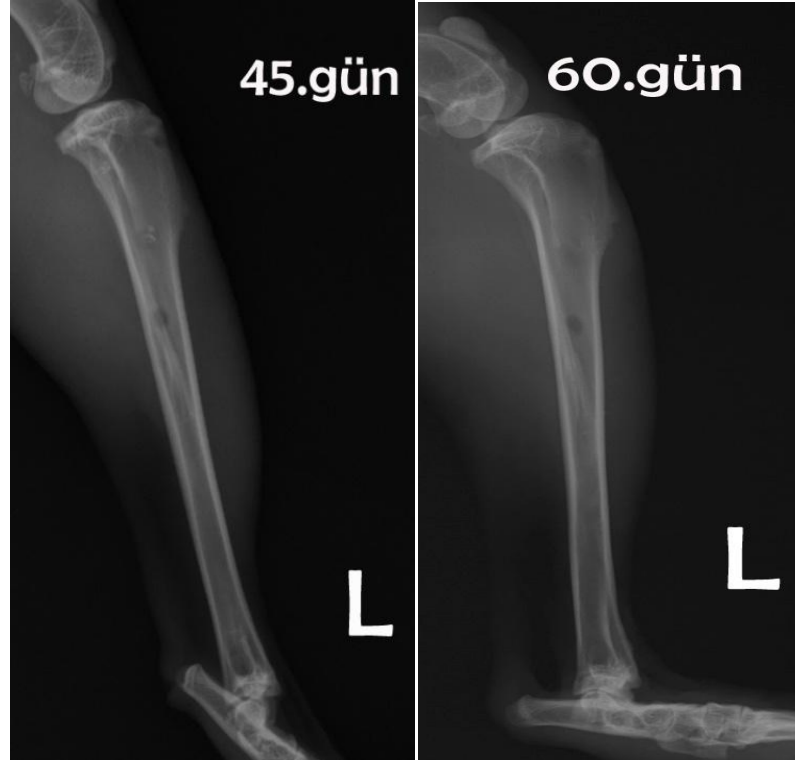
5.4.1. Postoperatif Radyolojik Bulgular

Kontrol grubunda, bütün olgularda defektler net bir şekilde gözleniyordu (Şekil 19). Koral uygulanan grupların radyografilerinde, bütün olgularda defektlere yerleştirilen koral granülleri belirgin bir şekilde gözleniyordu (Şekil 19). TZF grubunda ise defektlere yerleştirilen TZF'nin medullar kanaldaki gibi azalan radyolusent bir kontrastta olduğu belirlendi (Şekil 21). Defektlere uygulanan Koral, TCP ve HA normal kemikten daha radyopak izlenirken HA'nın

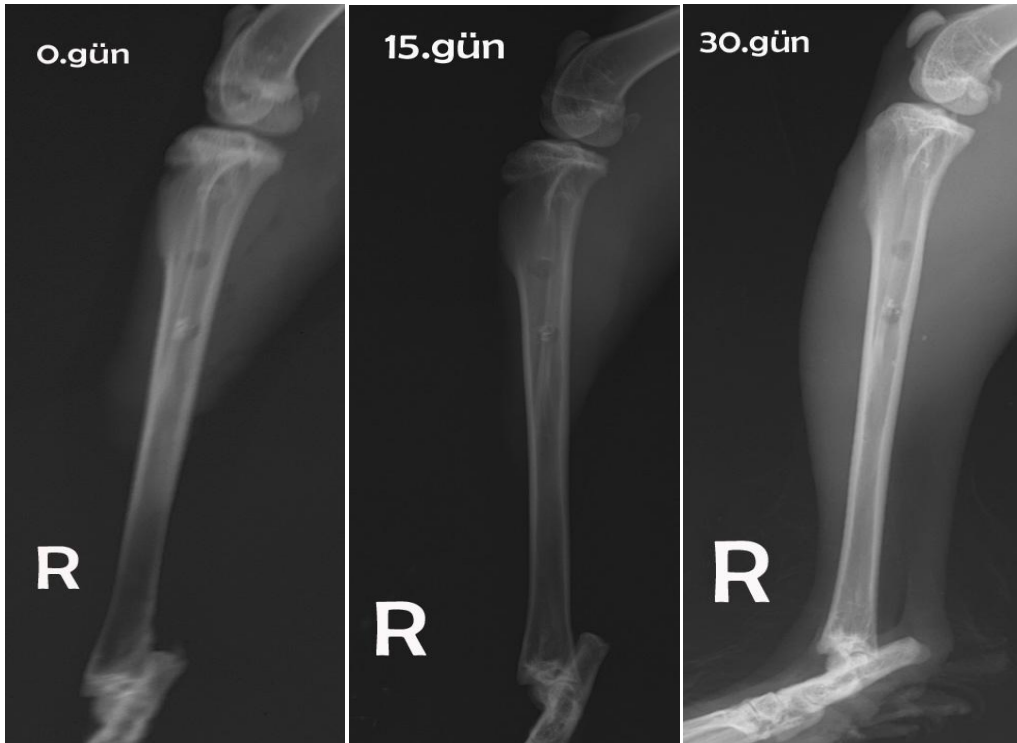
diğerlerine göre daha fazla radyoopak olduğu belirlenmiştir. TCP ve doğal koralin hemen hemen aynı kontrasta sahip olduğu görülmüştür. Koral+TZF grubunda defektlere yerleştirilen koral granüllerinin belirgin, TZF'nin ise medullar kanaldaki gibi azalan radyolusent bir kontrasta sahip olduğu belirlendi (Şekil 21). Koral+TZF, HA+TZF ve TCP+TZF gruplarında ise defekt içinde radyoopak kalsiyumlu greftler azalan radyolusent kontrasta sahip olan TZF içinde net olarak izlenmiştir.



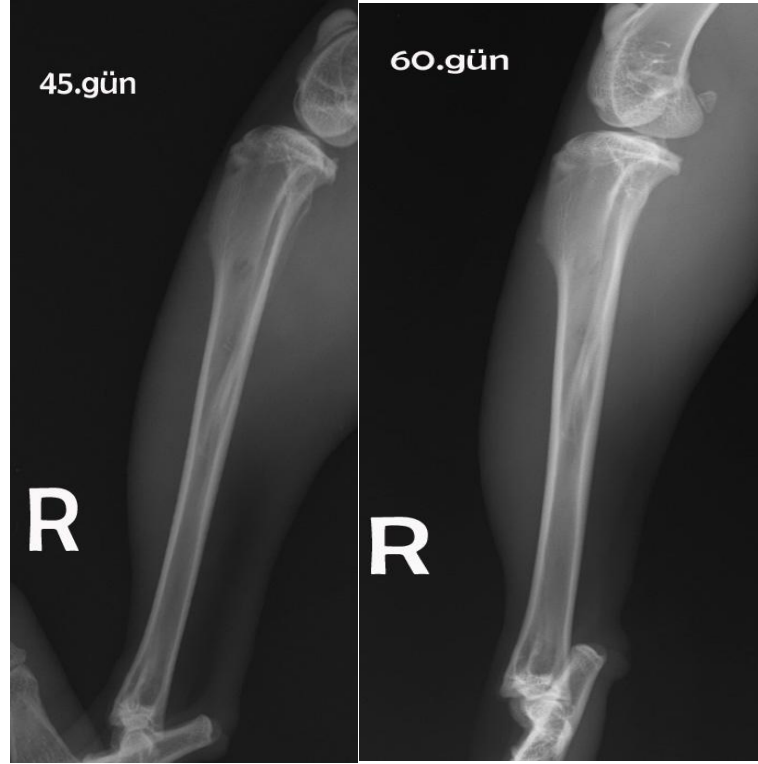
Şekil 19. Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyografilerde koral uygulanan proksimal defektin, distal kontrol defektinin görünümü.



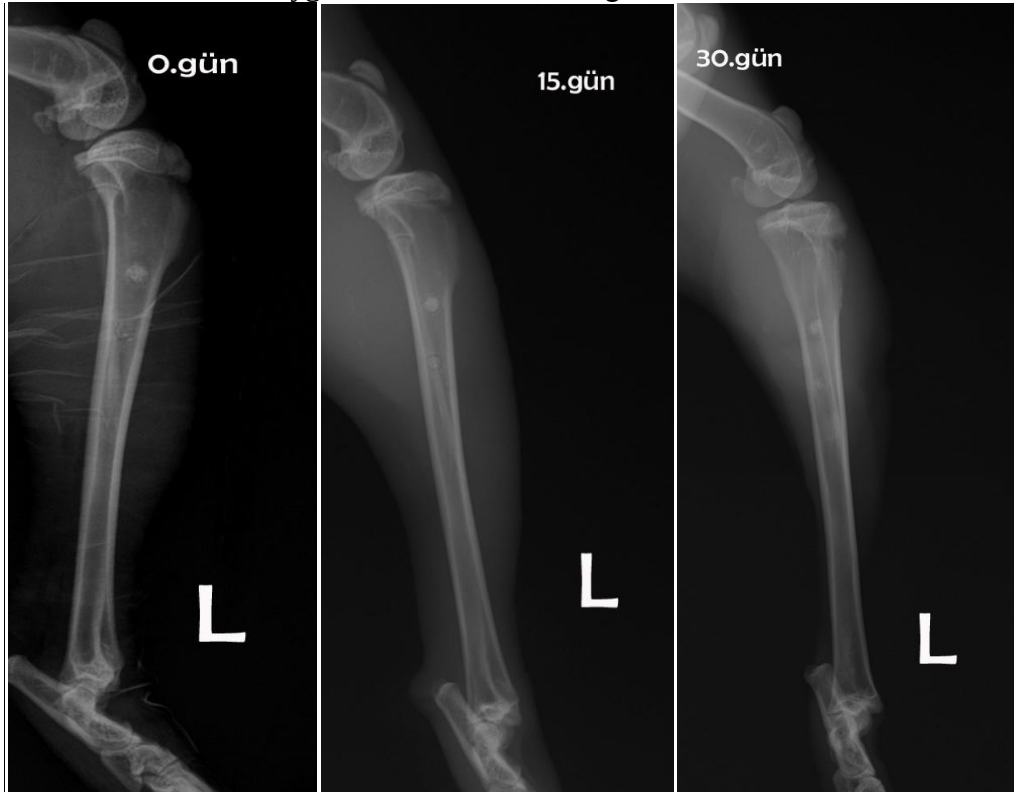
Şekil 20. 45 ve 60. günlerde alınan radyografilerde koral uygulanan proksimal defektin, distal kontrol defektinin görünümü.



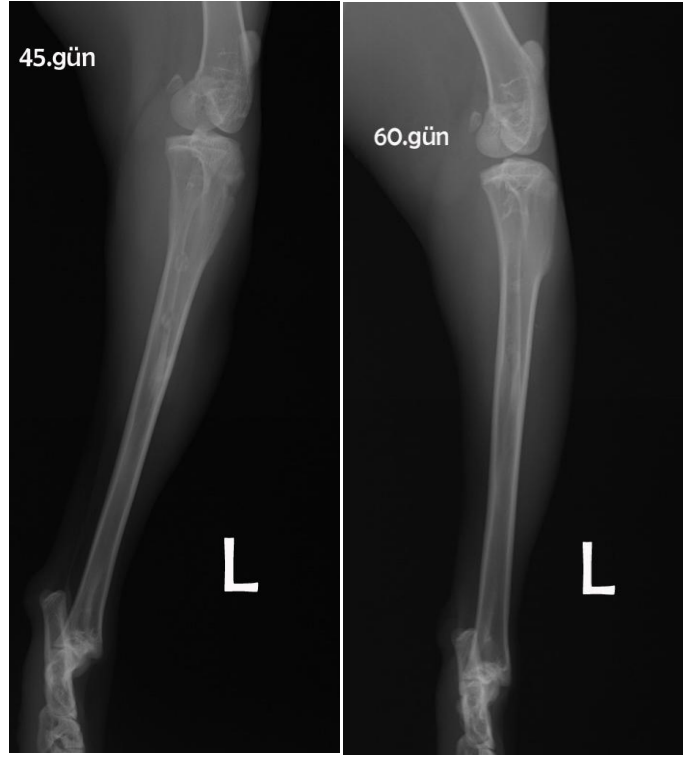
Şekil 21. Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyografilerde TZF uygulanan proksimal defektin, TZF+koral uygulanan distal defektin görünümü.



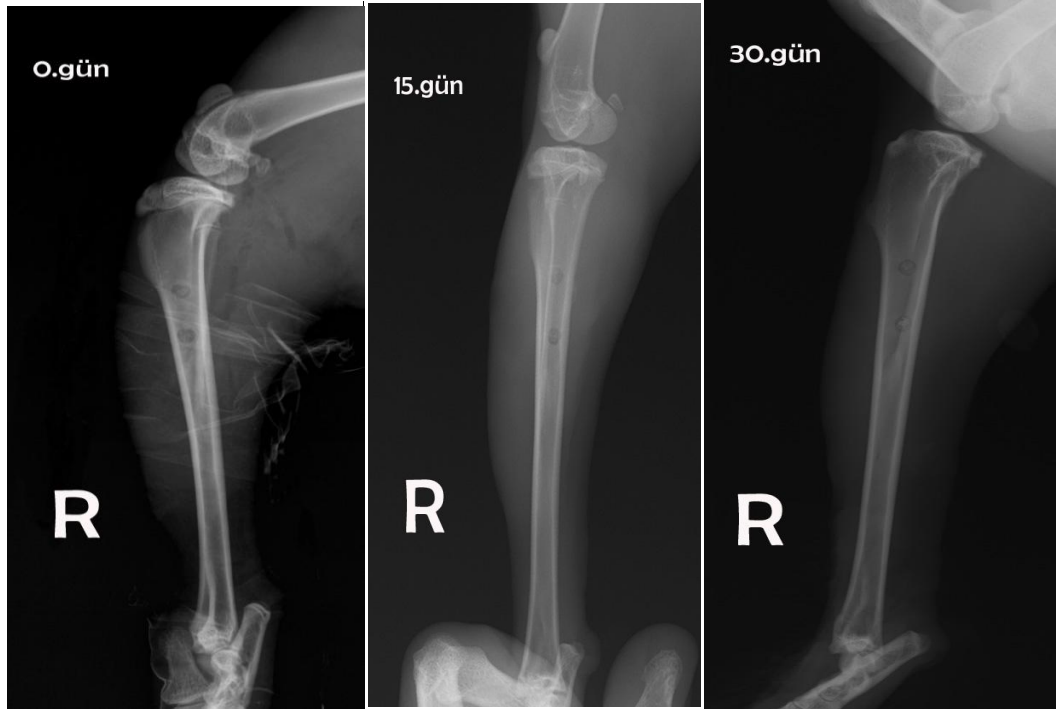
Şekil 22. 45 ve 60. günlerde alınan radyograflerde TZF uygulanan proksimal defektin, TZF+korall uygulanan distal defektin görünümü.



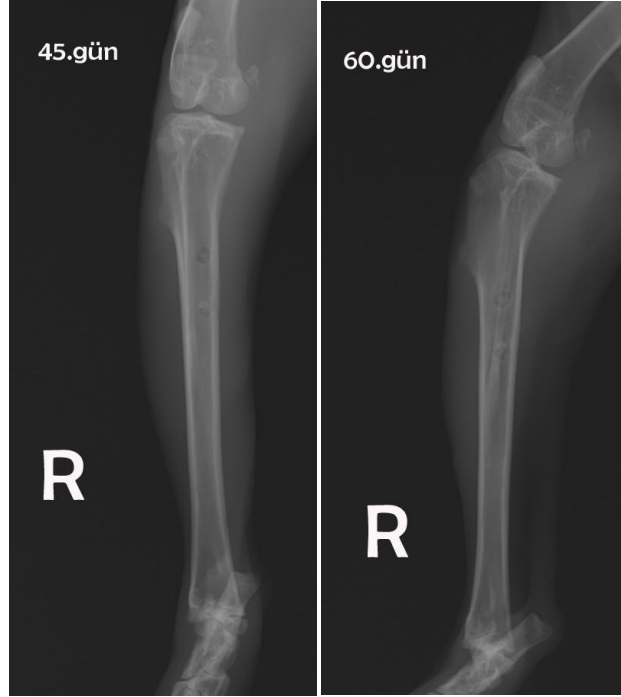
Şekil 23. Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyograflerde HA uygulanan proksimal defektin, HA+TZF uygulanan distal defektin görünümü.



Şekil 24. 45 ve 60. günlerde alınan radyograflerde HA uygulanan proksimal defektin, HA+TZF uygulanan distal defektin görünümü.



Şekil 25. Operasyondan hemen sonra, 15 ve 30. günlerde alınan radyograflerde TCP uygulanan proksimal defektin, TCP+TZF uygulanan distal defektin görünümü.



Şekil 26. 45 ve 60. günlerde alınan radyograflerde TCP uygulanan proksimal defektin, TCP+TZF uygulanan distal defektin görünümü.

5.4.2. Postoperatif 15. Gündeki Radyolojik Bulgular

15 günlük radyograflerinde tüm gruplarda defektlerde belirgin değişim görülmezken özellikle TZF ve koral+TZF gruplarında defekt kenarlarındaki keskin görüntünün azaldığı ve bu bölgelerden yeni kemik oluşumunun başladığı belirlenmiştir.

5.4.3. Postoperatif 30. Gündeki Radyolojik Bulgular

Kontrol grubunda postoperatif 30. günde altı olgudaki defektler radyolusent olarak net bir şekilde izlenmiştir. Hafif bir yeni kemik aktivitesi görülse de defektin % 25'ten daha azının dolduğu tespit edildi (Şekil 19).

Koral grubunda operasyondan 30 gün sonra defekt bölgesi yeni kemik oluşumu ile doldurulurken, olguların hepsinde koral partiküllerinin defekt bölgesinde ve az miktarda da kemik iliği kanalı içerisinde gözlendiği ve koral

granüllerinin rezorpsiyona uğradığı belirlendi. Bu dönemde oluşan kemik formasyonu defektin % 50'sini doldurmaktaydı (Şekil 19).

HA grubunda postoperatif 30. günde defekt bölgesinde kallus oluşumu izlenirken, tüm olgularda yeni oluşan defekt içerisinde HA granüllerinin diğer kalsiyum kaynaklı greftlere göre daha radyodens bir görüntüye sahip olduğu ve net olarak gözlendiği belirlenmiştir(Şekil 23).

TCP grubunda operasyondan 30 gün sonra defektlerde yeni kallus oluşumu % 25-50 olarak belirlendi. Tüm olgularda defekt bölgesinde TCP partikülleri net olarak görüldüğü belirlendi (Şekil 25).

TZF grubunda postoperatif 30. günde altı olgunun tamamında kallus oluşumu tespit edilmiştir. Defektlerde çevresel olarak remodelizasyon başladığı görülmüştür. Bu dönemde oluşan kemik formasyonu defektlerin yaklaşık % 75'sini doldurmaktaydı (Şekil 21).

Tablo 7. Lane ve Shandu'nun kriterlerine göre deney gruplarının postoperatif 30. gündeki radyografik değerlendirmeler (124).

Gruplar	Defektler					
	1	2	3	4	5	6
Kontrol	-	-	+	-	-	+
Koral	+	++	++	++	++	++
HA	++	+	++	+	+	+
TCP	+	++	+	+	++	++
TZF	+++	+++	++	+++	++	+++
Koral+TZF	++	++	++	++	++	+++
HA+TZF	++	++	++	++	++	++
TCP+TZF	++	++	++	+++	++	+

- : İyileşme yok.

+

++ : Defektin %50'si yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

+++ : Defektin %75'i yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

++++ : Defektin %100'ü yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

Koral+TZF grubunda bir aylık süre sonunda koral granüllerinin rezorbe edilmeye başladığı, kallus oluşumu gözlenmekle birlikte defektlerin belirlenebildiği saptandı (Şekil 21). Oluşan kemik formasyonu defektlerin yaklaşık % 50'sini doldurmuştu.

HA+TZF grubunda 30. günde defekt çevresinde olmak üzere iyileşme belirlenmiş ancak HA partikülleri net izlenmiştir ve defektlerin ortalama %50 dolduğu görülmüştür (Şekil 23).

TCP+TZF grubunda birinci ayda defekt çevresinden merkeze doğru olmak üzere iyileşme belirlenmiş ancak TCP partikülleri net izlenmiştir ve defektlerin ortalama %50' sinin dolduğu görülmüştür (Şekil 25).

Postoperatif 30. gündeki radyografik incelemelerde kontrol grubu hariç diğer tüm gruplar kemik iyileşmesi belirlenirken TZF ve koral+TZF gruplarında kemik iyileşmesinin diğer gruplardakinden daha iyi olduğu gözlenmiştir. Koral implantların HA ve TCP'ye göre daha hızlı rezorbe olmaya başladığı, en yavaş rezorpsiyonun ise HA uygulanan grupta olduğu belirlenmiştir. HA+TZF ve TCP+TZF gruplarındaki iyileşmenin TZF ve koral+TZF grubuna göre daha yavaş gerçekleştiği belirlenirken greft uygulanan gruplar içerisindeki en yavaş iyileşme HA ve TCP gruplarında izlenmiştir. 30. günde koral implantların kısmen kemik dokuyla yer değiştirdiği belirlenmiştir.

5.4.4. Postoperatif 45. Gündeki Radyolojik Bulgular

Postoperatif 45. günde başta TZF olmak üzere tüm gruplarda ki iyileşmenin belirli oranda artarak devam ettiği tespit edildi.

5.4.5. Postoperatif 60. Gündeki Radyolojik Bulgular

Kontrol grubunda postoperatif 60.günde defektlerin kenardan merkeze doğru iyileşme görülmeyle beraber hiçbir defektin kapanmadığı izlenmiştir. Bu dönemde oluşan kemik formasyonu defektin % 25-50'sini doldurmaktaydı (Şekil 20).

Koral grubunda operasyondan sonra 60.günde oluşan kemik formasyonu defektlerin % 75-100'ünü doldurmaktaydı. Kemik doku içinde koral izlerine rastlanmıştır (Şekil 20).

HA grubunda postoperatif 60.günde iyileşme birinci aya göre belirgin olmakla beraber partiküller diğer kalsiyum kaynaklı greftlere göre daha belirgin olarak izlenmiştir. Yeni kemik defektlerin % 75'ini doldurmuştur (Şekil 24).

TCP grubunda operasyondan sonra 60.günde defektlerin ortalama % 75'i dolu izlenirken greft izleri belirlenmiştir (Şekil 26).

TZF grubunda postoperatif 60.günde defektlerin hemen hepsinde defekt izinin neredeyse kaybolduğu oluşan kemik formasyonunun beş olguda defektin %100'ünü doldurarak defekt bölgesinin radyodens bir kontrasta ulaştığı, diğer olguda ise %75'inden fazlasını doldurduğu belirlendi (Şekil 22).

Koral +TZF grubunda operasyondan sonra 60.günde, koral granüllerinin yer yer belirgin olup yoğunluğunun implantasyonun hemen sonrası ve 1 aylık gruba göre azaldığı, oluşan kemik formasyonunun üç olguda defektlerin %75'ini, diğer olgularda ise %100'ünü doldurarak defekt bölgesinin radyodens bir kontrasta ulaştığı belirlendi (Şekil 22).

HA+TZF grubunda postoperatif 60.günde, granüllerinin belirgin olup yoğunluğunun 1 aylık gruba göre azaldığı, oluşan kemik formasyonunun dört

olguda defektlerin %50'sini, diğer olgularda ise %75'ini doldurarak defekt bölgesinin radyodens bir kontrasta ulaştığı belirlendi (Şekil 24).

TCP+TZF grubunda operasyondan sonra 60.günde, granüllerinin 1 aylık gruba göre azaldığı, oluşan kemik formasyonunun iki olguda defektlerin %50'sini, diğer olgularda ise %75'ini doldurarak defekt bölgesinin radyodens bir kontrasta ulaştığı belirlendi (Şekil 26).

Radyografik değerlendirmelerde elde edilen özet bilgiler Tablo 7 ve Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Lane ve Shandu'nun kriterlerine göre deney gruplarının postoperatif 60. gündeki radyografik değerlendirmeler (124).

Gruplar	Defektler					
	1	2	3	4	5	6
Kontrol	+	+	++	++	+	++
Koral	+++	++	++	++	+++	+++
HA	+	++	++	++	++	++
TCP	++	++	++	++	++	++
TZF	++++	++++	++++	+++	++++	++++
Koral+TZF	+++	++	+++	+++	+++	++++
TCP+TZF	++	+++	+++	+++	++	+++
HA+TZF	+++	++	++	+++	++	++

- : İyileşme yok.

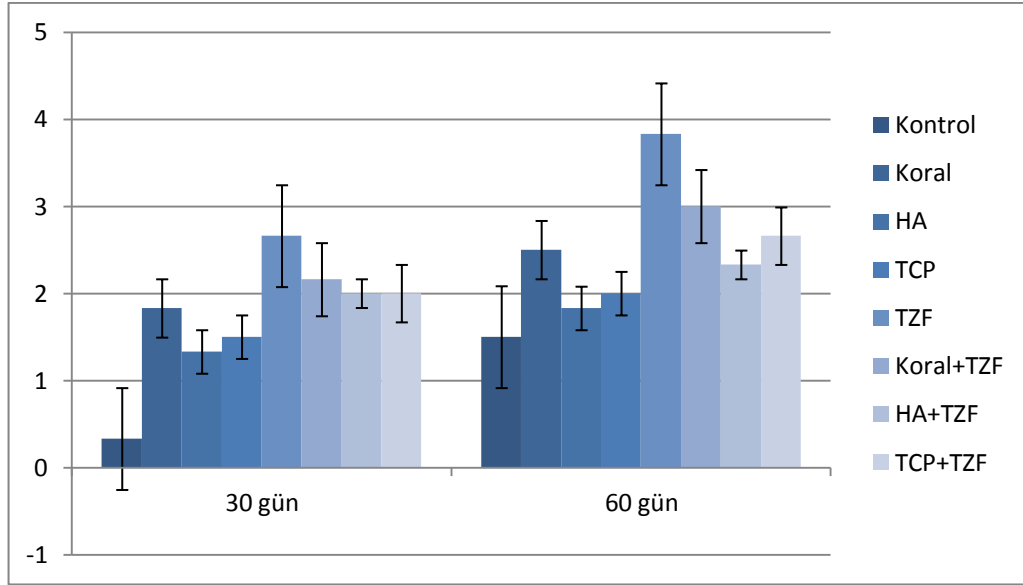
+

++ : Defektin %25'i yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

+++ : Defektin %50'si yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

++++ : Defektin %75'i yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

++++ : Defektin %100'ü yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.



Şekil 27. Radyografik skorlamanın grafik halindeki gösterimi.

- 0 : İyileşme yok.
- 1 : Defektin %25'i yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.
- 2 : Defektin %50'si yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.
- 3 : Defektin %75'i yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.
- 4 : Defektin %100'ü yeni kemik oluşumu ile doldurulmuş.

5.5. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik bulgular, makroskobik bulgular ve mikroskobik bulgular olmak üzere iki başlık altında incelendi.

5.5.1. Makroskobik Bulgular

Makroskobik bulgular 30 ve 60 günlük olmak üzere iki grupta incelendi.

5.5.1.1. Otuz Günlük Gruplardaki Makroskobik Bulgular

Kontrol grubuna ait altı adet olgudan dördünde defektlerin hiç kapanmadığı, bir olguda defekt çapında hafif bir azalma olduğu, diğer olguda ise defektin yarısından azının kapandığı görüldü.

Koral grubunda altı olgunun beşinde defekt bölgesi yeni kemik oluşumu ile doldurulurken, bir olguda defektin tam olarak kapanmadığı ve

defekt merkezinde 1 mm çapından daha az bir boşluk görüldü. Olguların birinde az miktarda koral partiküllerinin defekt bölgesinde oluşan yeni kemik içerisinde gözleendiği belirlendi.

HA grubunda üç olguda defekt bölgesi yeni kemik oluşumu ile doldurulurken, diğ er üç defekten birinde 1 mm’ den fazla ikisinde ise 1 mm’den az merkezi boşluk görüldüğü belirlendi. Üç olguda yeni oluşan kemik içerisinde HA partikülleri net olarak görülmekteydi.

TCP grubunda iki olguda defektler yeni kemik oluşumu ile doldurulmuştu. Diğ er dört olgudan ikisinde defekt merkezinde 1 mm çapından biraz daha büyük boşluklar görölürken, diğ er ikisinde ise defekt merkezinde çapları yaklaşık yarım milimetre olan üçer adet boşluk gözleendi. Dört olguda defekt bölgesinde TCP partikülleri net olarak görüldüğü belirlendi.

TZF grubundaki tüm defektler kapanmış olup, bazı olgularda defekt izi izlenmekteydi.

Koral+TZF grubunda beş olguda defektler tam olarak yeni oluşan kemik doldurulmuştu. Koral granülleri defekt bölgesinde oluşan yeni kemik içerisinde görülmekteydi.

HA+TZF grubundan beş olguda defektlerin yeni kemik oluşumu ile kapandığı, bir olguda defektin merkezinde çapı 1mm çapından daha az bir boşluk olduğı tespit edildi. Defekt bölgesinde HA granülleri net olarak gözleniyordu.

TCP+TZF grubunda tüm defektler yeni oluşan kemik doldurulmuştu. Tüm olgularda TCP granülleri defekt bölgesinde yeni oluşan kemik içerisinde saptandı.

5.5.1.2. Altmış Günlük Gruplardaki Makroskobik Bulgular

Kontrol grubuna ait altı adet üçünde defektlerin hiç kapanmadığı, diğer üç defekten ikisinde defekt çapında azalma olduğu diğerinde ise defektin yarısından azının kapandığı görülmüştür.

Koral grubunda olguların beşinde defektler tam olarak kapanırken bir olguda merkezi olarak 1mm'den daha az bir boşluk görülmüştür.

HA grubunda üç olguda defektler tam olarak yeni kemik oluşumu ile doldurulmuştu. Diğer üç olgudan birinde 1 mm çapından fazla, ikisinde ise 1 mm çapından az merkezi boşluk görüldü. Üç olguda defekt bölgesinde HA partikülleri net olarak görülmüştür.

TCP grubunda iki olguda defektler yeni kemik oluşumu ile doldurulurken, diğer dört olgunun birinde 1 mm çapından fazla, bir diğerinde defekt merkezinde çapları yaklaşık yarım milimetre olan üç adet boşluk gözlemlendi ve kalan ikisinde ise 1mm az merkezi boşluk görüldü. İki olguda defekt bölgesinde TCP partikülleri net olarak görüldü.

TZF grubundaki tüm defektler kapanmış olup, üç olguda defekt bölgesi normal kemik görünümünü kazanmıştı. Diğer üç olgudan ikisinde belli belirsiz bir defekt izi tespit edilirken kalan bir olguda çok küçük bir defekt izi tespit edilmiştir.

Koral+TZF grubunda tüm olgulardaki defektler tam olarak kapanmıştı.

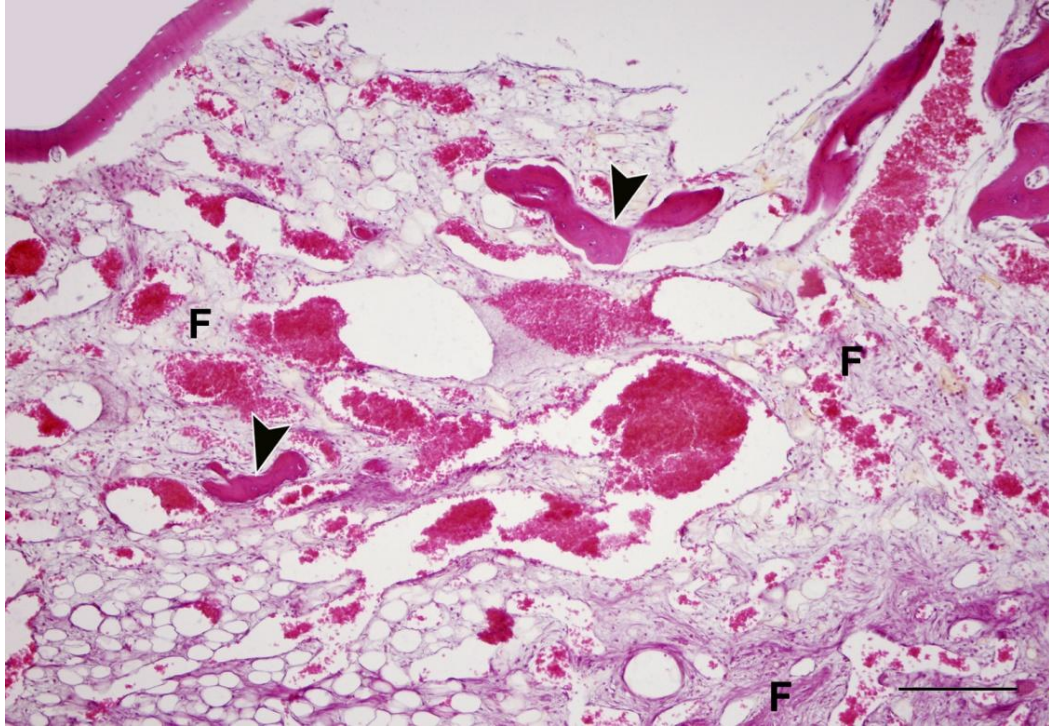
HA+TZF grubundan tüm olgularda defektlerin yeni kemik oluşumu ile kapandığı, dört olguda HA granüllerinin defekt bölgesinde oluşan yeni kemik içerisinde net olarak izlendiği belirlenmiştir.

TCP+TZF grubundan tüm defektler yeni kemik oluşumu ile doldurulmuştu. Olguların üç tanesinde TCP granül kalıntıları defekt bölgelerinde yeni oluşan kemik içerisinde izlenmiştir.

5.5.2. Mikroskopik Bulgular

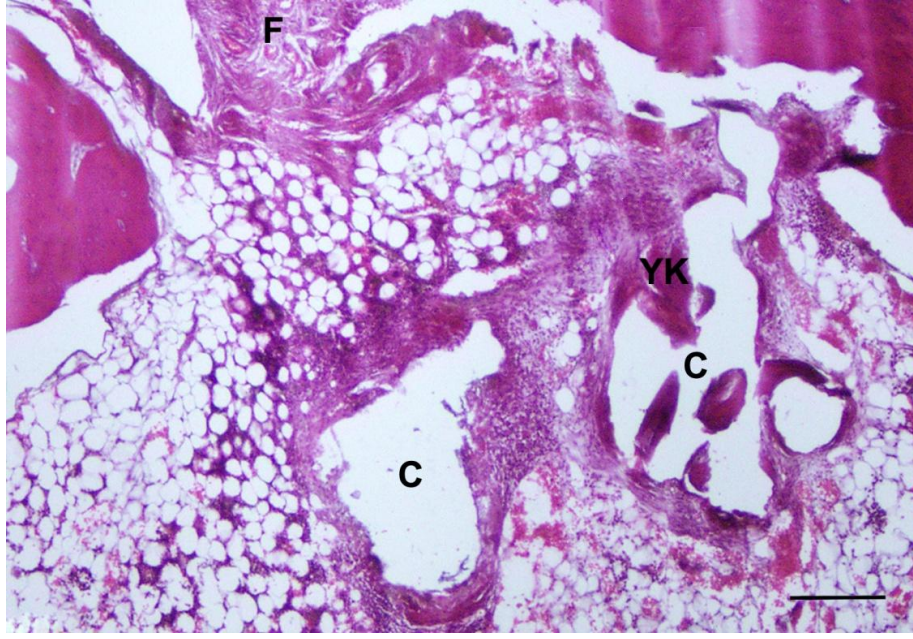
5.5.2.1. Otuz Günlük Gruplardaki Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunda defeklerde 30. günde kapillar damarlardan zengin granülasyon dokusu oluşumu ve çok az olarak kıkırdak doku gelişiminin şekillenmiş olduğu gözlemlendi (Şekil 28).



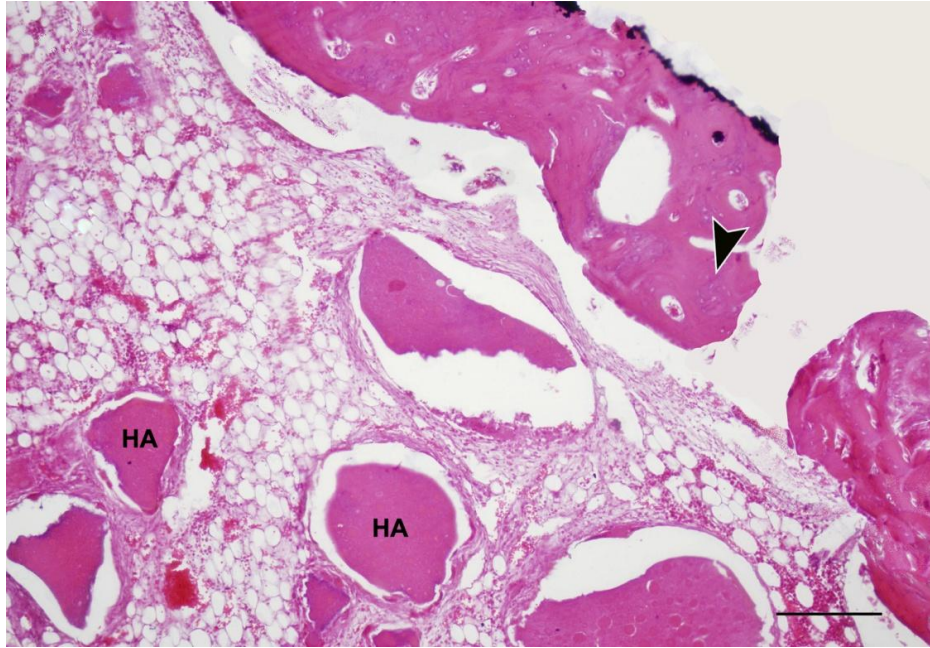
Şekil 28. Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. Ok başları: Kıkırdak doku, F: Fibröz doku, H-E Bar=200µ.

Koral grubunda 30. günde defekt bölgesinin kısmen fibröz doku ile doldurulduğu ancak bu alanlarda kıkırdak ve kemik oluşumlarının bulunmadığı dikkati çekti. Yeni kemik oluşumlarının greft materyali çevresinde başlamış olduğu gözlemlendi (Şekil 29).



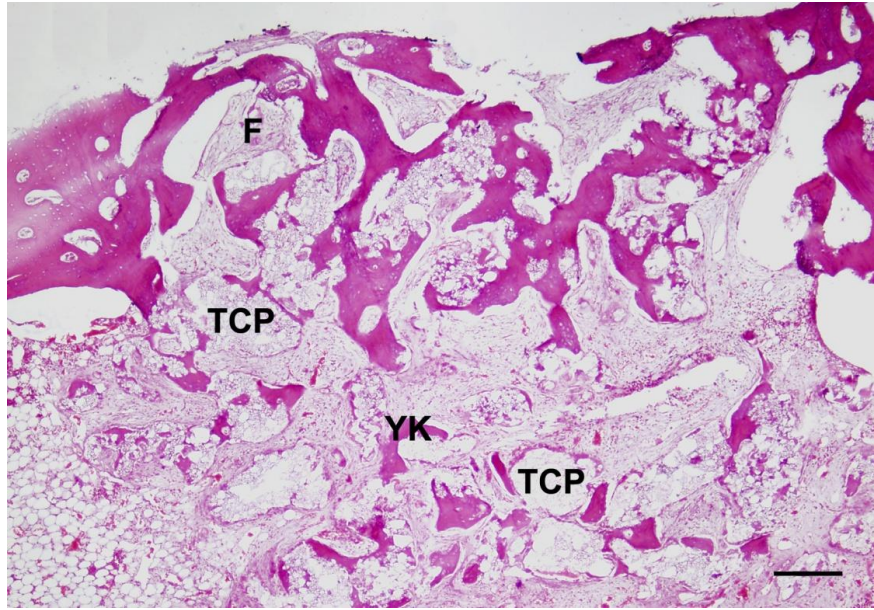
Şekil 29. Koral grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik C: Koral, H-E Bar=200µ.

HA grubunda 30. günde defektin tam olarak fibröz kallus ile doldurulmadığı saptandı. Greft materyalleri etrafında zayıf reaksiyon gösteren bağ doku oluşumları mevcuttu. Defekt bölgesinin kenar kısımlarında yeni kıkırdak doku oluşumları gözlemlendi (Şekil 30).



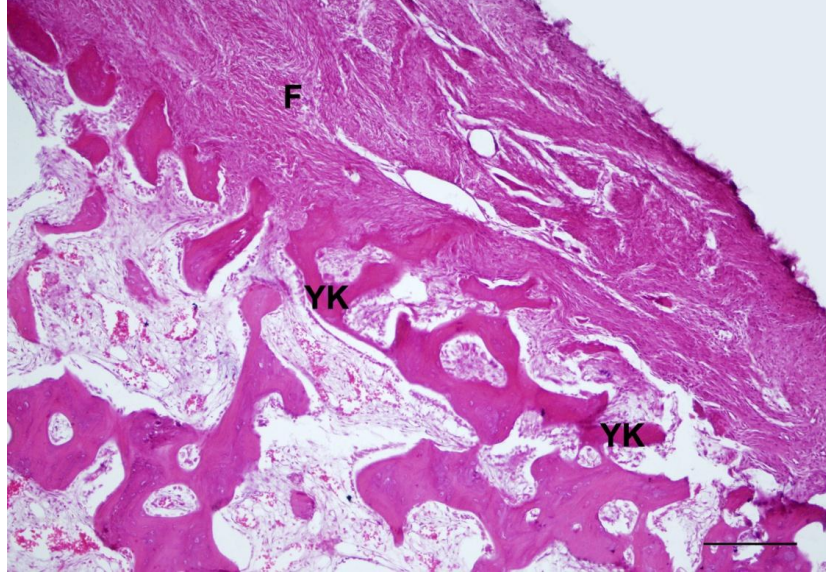
Şekil 30. HA grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. Ok başı: Kıkırdak doku, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ.

TCP uygulanan hayvanlarda 30. günde fibröz kallusun tüm defekt bölgesini doldurduğu, fibroz doku içerisinde kıkırdak doku ve spiküler tarzda primer kemik doku gelişiminin başladığı gözlemlendi. Graft materyalinin rezorbsiyona ilişkin olarak köpük benzeri bir görünüm aldığı dikkati çekti. Yangısal reaksiyonlara ilişkin her hangi bir bulguya rastlanmadı. Osteoblastik aktivitenin belirgin olduğu saptandı (Şekil 31).



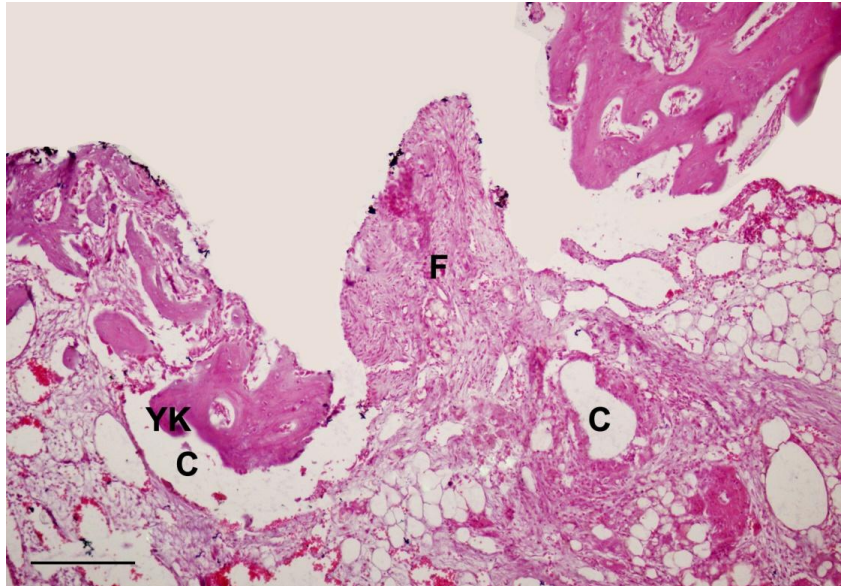
Şekil 31. TCP grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, TCP: Trikalsiyum fosfat, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ.

TZF grubunda 30. günde defektin kollajenden zengin fibröz kallus ile tamamen doldurulduğu gözlemlendi. Fibröz dokuda kıkırdak doku oluşumunun yanında osteoblastik aktivitenin de oldukça belirgin olduğu ve spiküler tarzda primer kemik alanlarının birbirleri ile birleşerek trabeküler yapılara dönüşmeye başladıkları gözlemlendi. Ek olarak kemik iliği oluşumlarının da başlamış olduğu dikkati çekti (Şekil 32).



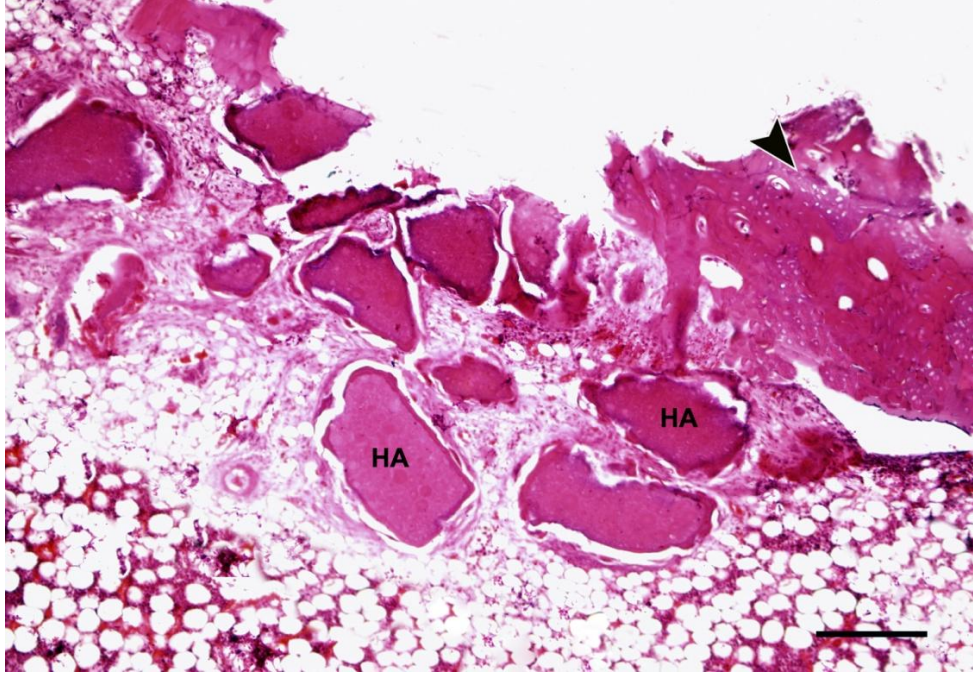
Şekil 32. TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ.

Koral + TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin kısmen fibröz kallus ile doldurulmuş olduğu ancak defekt kenarlarının birleşmediği dikkati çekti. Yine bağ dokudan kıkırdak dokuya farklılaşma alanlarının belirgin olduğu gözlemlendi. Ancak koral etrafında trabeküler yeni kemik oluşumları mevcuttu (Şekil 33).



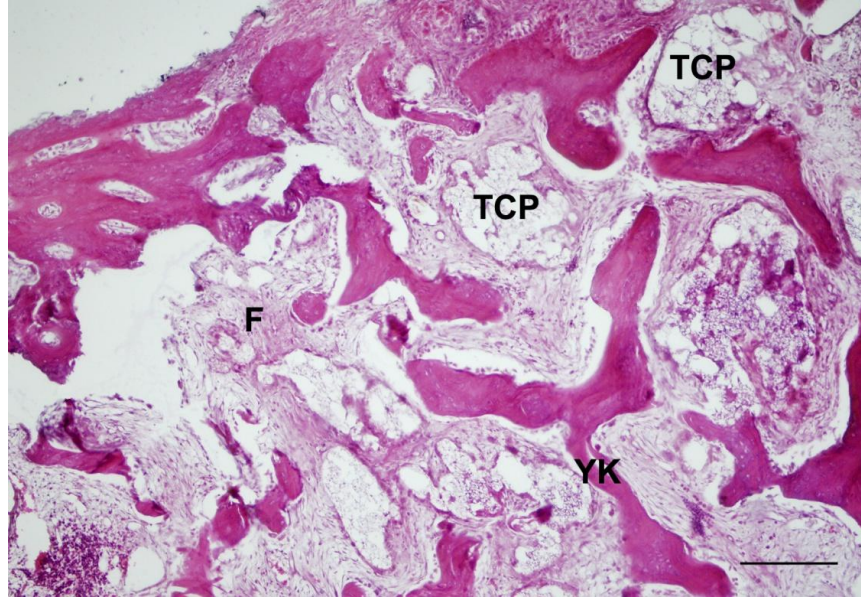
Şekil 33. Koral + TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. C: Koral, F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ.

HA+TZF grubunda 30 günlük HA grubuna benzer şekilde defekt bölgesinin tam olarak kapanmadığı dikkati çekti. Bu grupta kemik iliğinde hiperemi bulunduğu dikkati çekti. HA greftlerinin etrafındaki bağ doku oluşumlarının HA grubuna göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil 34).



Şekil 34. HA+TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. Ok başı: Kıkırdak doku, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ.

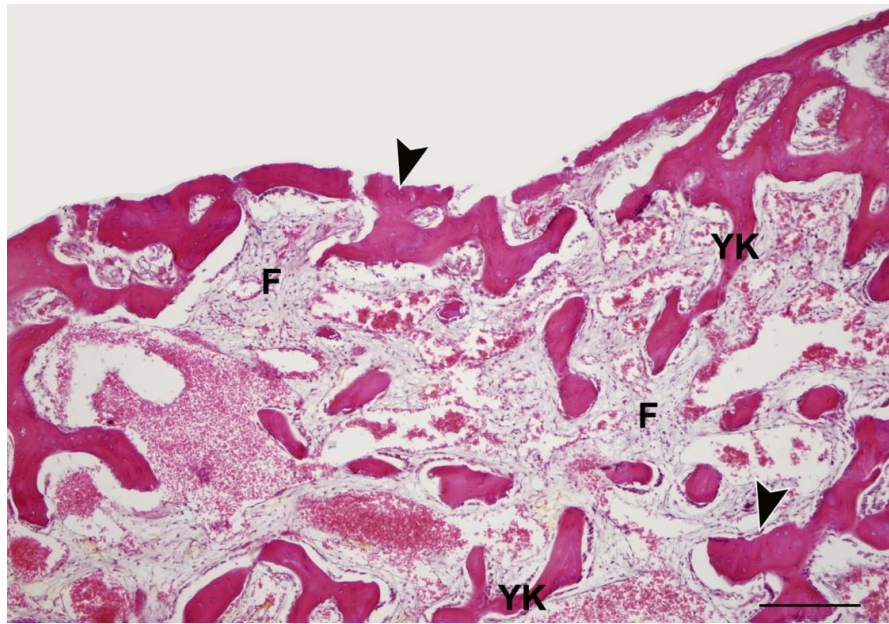
TCP ile TZF uygulanan hayvanlarda 30. günde belirgin bağ doku formasyonları ile birlikte, belirgin kıkırdak doku ve spiküler tarzda primer kemik doku gelişiminin başladığı gözlemlendi. Ostoblastik aktivitenin belirgin olduğu saptandı. Hafif şiddette lenfosit infiltrasyonları dikkati çekti. Kemik iliği gelişiminin defektin kenar kısımlarında şekillenmiş olduğu saptandı (Şekil 35).



Şekil 35. TCP + TZF grubunda 30. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, TCP: Trikalsiyum fosfat, YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ.

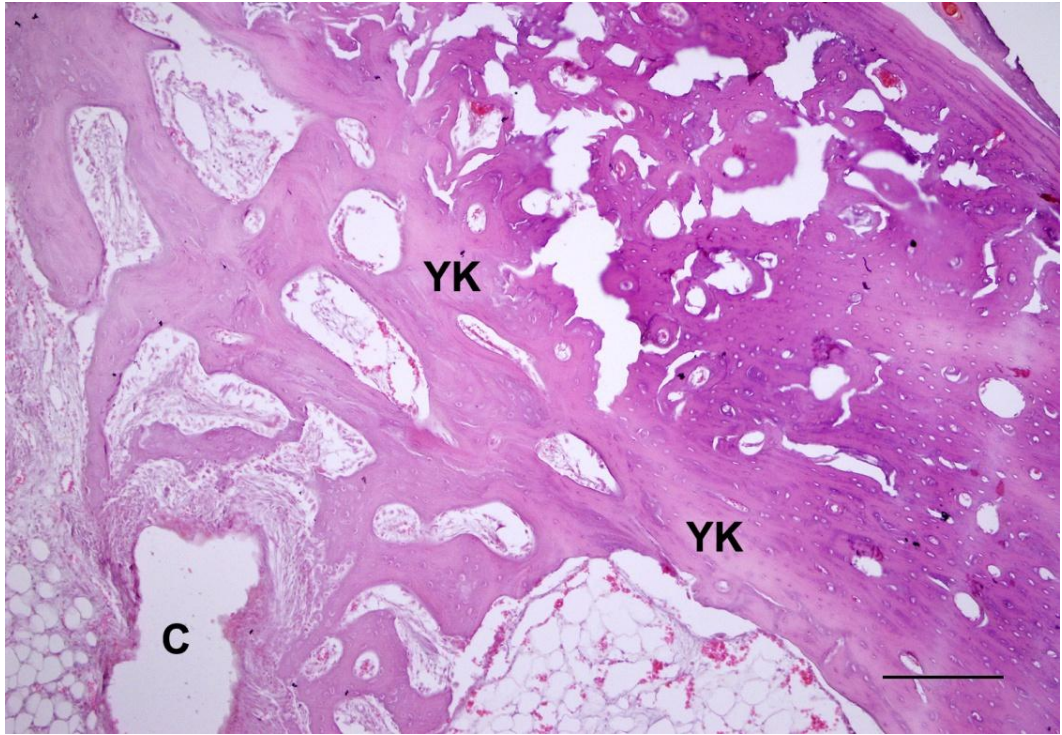
5.5.2.2. Altmış Günlük Gruplardaki Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunda 60. günde kapillar damarlardan zengin fibröz kallus içerisinde zayıf şiddette kıkırdak doku oluşumlarının yanı sıra spiküler tarzda primer kemik doku oluşumları mevcuttu (Şekil 36).



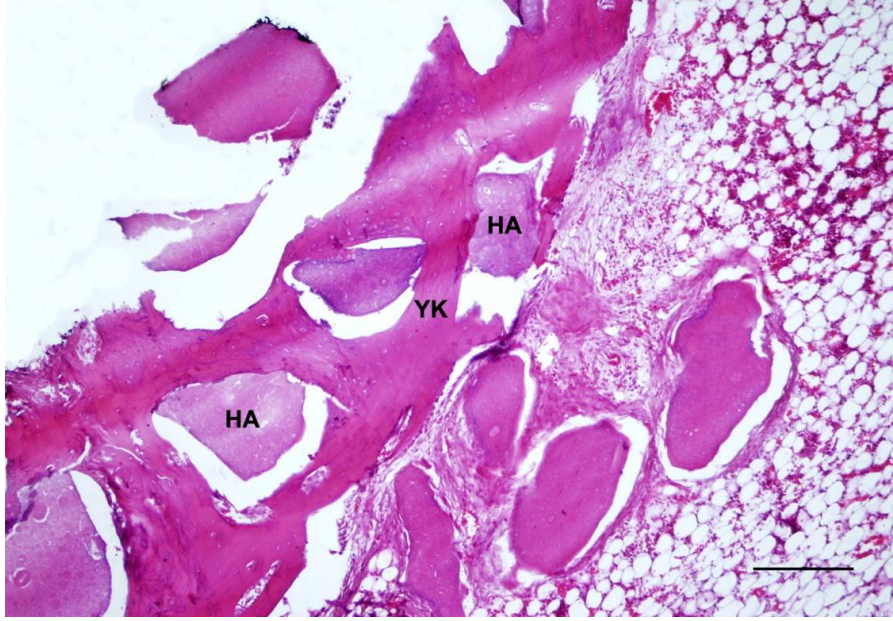
Şekil 36. Kontrol grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. F: Fibröz doku, YK: Yeni kemik, Ok başı: Kıkırdak doku, H-E Bar= 200µ.

Koral uygulanan grupta 60. günde defekt bölgesinin tam olarak kıkırdak doku ve primer kemik doku ile doldurulduğu gözlemlendi. Primer kemik oluşumlarının trabeküler tarzda olduğu saptandı. Osteoblastik aktivitenin oldukça belirgin olup bazı yeni kemik oluşumları ile temas halinde 3-4 çekirdekli osteoklastlar dikkati çekti (Şekil 37).



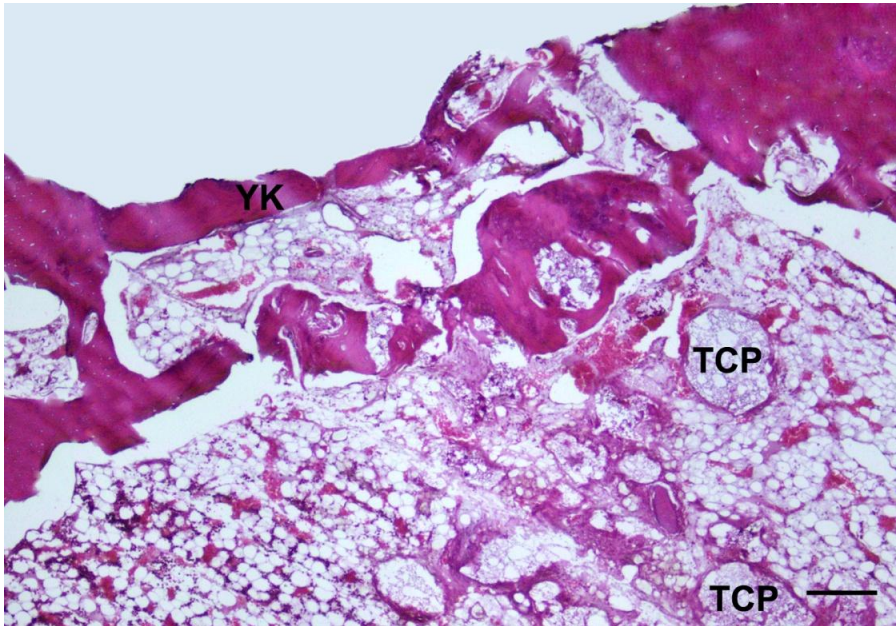
Şekil 37. Koral grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, C: Koral, H-E Bar=200µ.

HA grubunda 60 günlük defektlerde bölgenin tam olarak kapandığı, kıkırdak doku oluşumu ile birlikte yer yer primer kemik doku oluşumlarının bulunduğu gözlemlendi. İyileşme bölgesindeki greft materyallerinde yüksek osteoblastik aktivite mevcuttu. Yeni kemik iliği oluşumlarının kısmen şekillendiği dikkati çekti (Şekil 38).



Şekil 38. HA grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ.

TCP uygulanan defektlerde 60. günde baskın görünümdeki bağ dokunun yerini kıkırdak doku oluşumu ve trabeküler tarzda primer kemik oluşumlarının aldığı gözlemlendi. Kemik iliğindeki greft materyalleri çevresinden gelişen spiküler tarzda yeni kemik oluşumları da mevcuttu (Şekil 39).



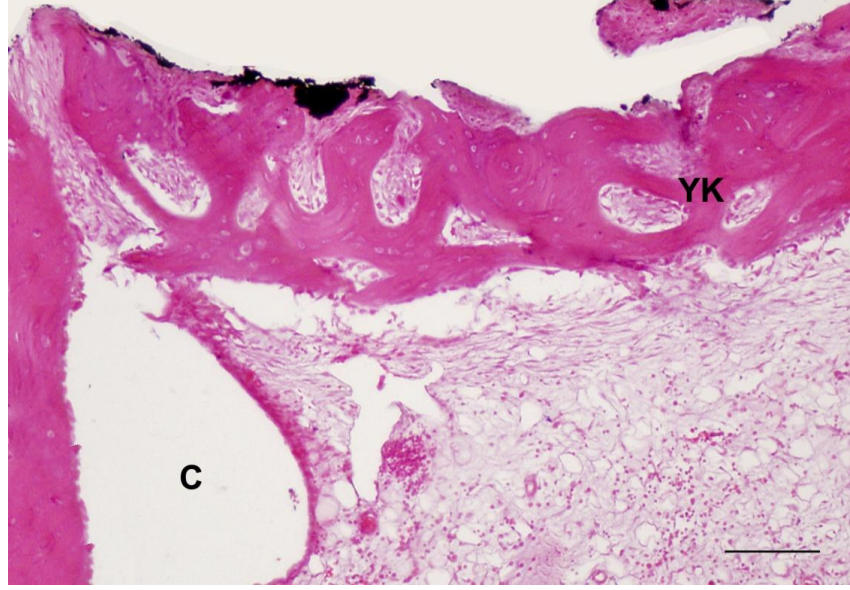
Şekil 39. TCP grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, TCP: Trikalsiyum fosfat, H-E Bar=200µ.

TZF uygulanan grubunda 60. günde defektlerin primer ve sekonder kemik oluşumları ile kompakt kemikten daha ince bir şekilde tam olarak kapanmış olduğu, havers kanallarının belirgin bir şekilde yapılandığı gözlemlendi. Kıkırdak doku ve fibröz doku oluşumlarına rastlanmadı. Defektin kemik iliğine bakan yüzünde halen osteoblastik aktivitenin devam ettiği saptandı (Şekil 40).



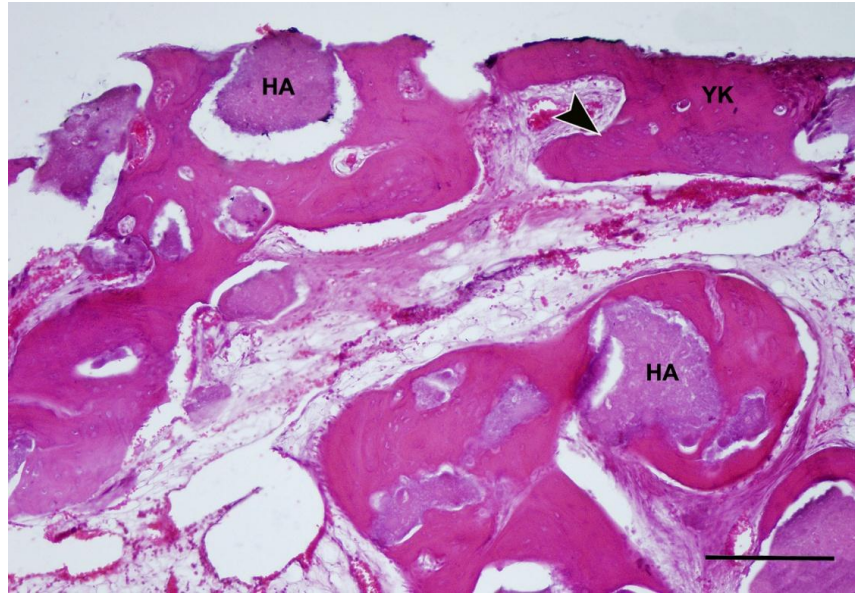
Şekil 40. TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, H-E Bar=200µ.

Koral + TZF grubunda 60. günde defektte primer kemik trabeküleri ile defektin kısmen doldurulmuş olduğu gözlemlendi. Havers kanal oluşumları ile birlikte lakuna formasyonlarının oluştuğu dikkati çekti. Belirgin kemik iliği oluşumları da mevcuttu (Şekil 41).



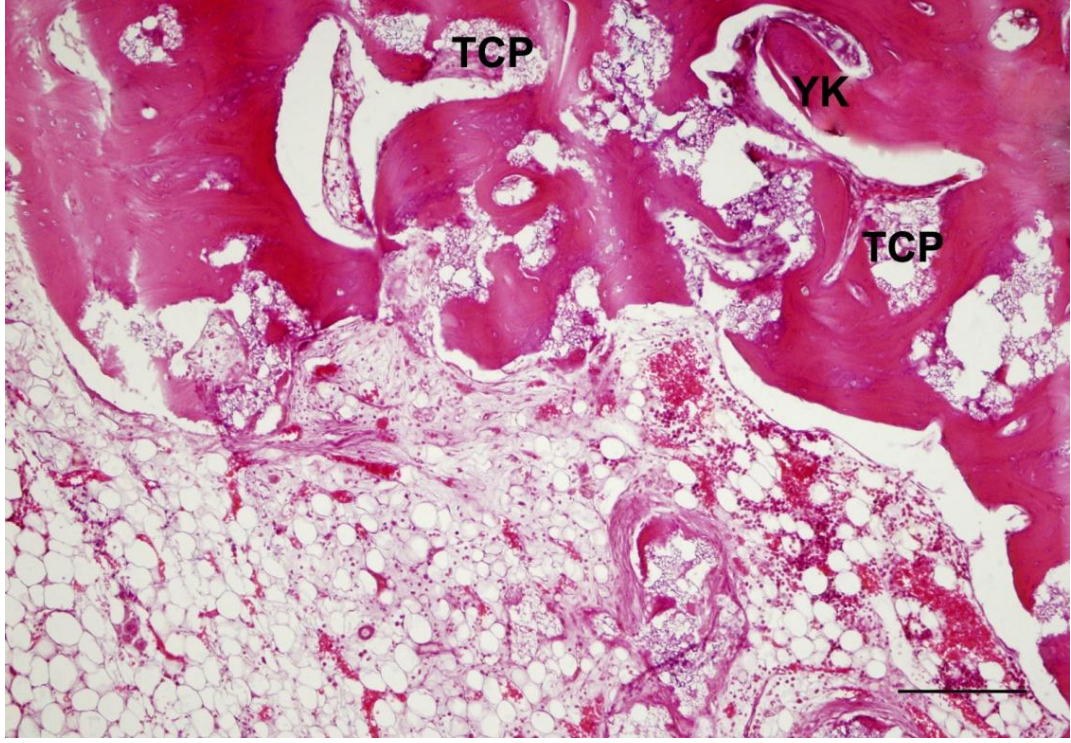
Şekil 41. Koral + TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, C: Koral, H-E Bar=200µ.

HA+TZF grubunda 60. günde büyük oranda fibröz kallusun yerini kıkırdak dokunun aldığı gözlemlendi. Kıkırdak doku oluşumu ile birlikte immatür kemik gelişimi de mevcuttu. HA greft materyali çevresinde başlamış olan kuvvetli primer kemik doku oluşumlarının yer yer birleştiği, etrafında osteoblastik aktivitenin artmış olduğu dikkati çekti (Şekil 42).



Şekil 42. HA+TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, HA: Hidroksiapatit, H-E Bar=200µ.

TCP + TZF uygulanan grupta 60. günde TCP grefti çevresinde daha belirgin olmak üzere defektin kırıda doku ile birlikte trabeküler tarzda primer kemik oluşumları ile kapanmış olduğu dikkati çekti. Havers kanallarının kısmen yapılandığı ve lakunaların şekillenmiş olduğu gözlemlendi (Şekil 43).



Şekil 43. TCP + TZF grubunda 60. günde defekt bölgesinin görünümü. YK: Yeni kemik, TCP: Trikalsiyum fosfat, H-E Bar=200µ.

6. TARTIŞMA

Kemik doku kendine özgü dinamik yapısı ve yüksek rejenerasyon kapasitesine rağmen büyük defektlerde kaynama yokluğu, defekt bölgesinde fibröz granülasyon dokusu oluşumu, non-union (yalancı eklem) veya enkapsülasyon oluşumu gibi sonuçlar veteriner ortopedide sık karşılaşılan ve istenmeyen komplikasyonlardır. Bu komplikasyonlar bulunduğu bölgeye göre estetik deformasyondan yaşam kalitesi düşmesine, işlevsel bozukluklar sonucunda ölüme kadar varabilen sonuçlar doğurabilmektedir.

Kemik dokunun iyileşme süresi fazla kemik kaybı olmayan kırıklarda bile yumuşak dokulardan uzun olduğundan, geniş defektlerde bu sürenin bazen yıllar alması bazen ise hiç olmaması veya kafatası bölgesi gibi yaşamsal organlar söz konusu ise bu defektlerin en kısa sürede kapatılması gerekliliği çok eski yıllardan günümüze kadar pek çok çalışma yapılmasına neden olmuştur.

Tarih öncesi çağlarda kemik defektlerinin onarılması amacıyla deniz kabuklarının kullanımıyla başlayan bu süreç metal plaka ve paralar, hayvan ve insan kemikleri, otojen kemik greftleri, bioseramikler, sentetik kalsiyum bileşikleri gibi pek çok alternatifin geliştirilmesiyle hala sürmektedir. 1970’li yıllardan sonra fibrin yapıştırıcıların ve sitokinlerin kimyasal yapılarının keşfi bu konuda bakış açısını biraz değiştirmiş ve amaç sadece defekti doldurmak değil aynı zamanda osteogenezi başlatmak ve hızlandırmak olmuştur. Otojen greftler yüksek osteojenik özellikleri, kısa sürede en mükemmel damarlanma ve primer kallus oluşumu sağlaması gibi konularda çok başarılı kabul edilseler de dezavantajları nedeniyle alternatifler aranmasına devam edilmiştir. Yapılan çalışmalarda sitokinlerin osteogenezi indüklemeye özelliği olduğunu belirlenmiştir,

ancak bu konuda yeteri kadar çalışma olmadığı yaptığımız kaynak araştırmalarında görülmüştür. Kemik dokuda etkili olan sitokinlerin en önemlilerinin BMP, TGP ve TZF olduğu literatür araştırmalarında görülmüştür. Bu çalışma ile kalsiyum kaynaklı ve osteokondüktif özelliğe sahip olan HA, TCP ve koral'in kemik iyileşmesi üzerine etkilerini incelenirken, osteoindüktif özellikteki TZF'in tek başına ve diğer greft materyalleri ile birlikte kullanılmak suretiyle osteogenezi uyarma yeteneğinin de karşılaştırılabileceği ve bir araştırmalara kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

Kemik doku rejenerasyonunun stimülasyonunda farklı greft materyallerin etkilerinin incelendiği deneysel uygulamalarda çeşitli türler kullanılmaktadır, ancak en uygun hayvan modelinin belirlenmesinde araştırmacılar arasında fikir birliği olamadığı görülmüştür (31,126).

Evrin süreci ile ters orantılı olan kemik doku rejenerasyonunda (125,126) kemik greft materyallerinin incelenmesi için seçilen hayvan modelleri çoğunlukla yüksek osteogenezis özelliğinde immatür, evrimsel gelişimi yetersiz türlerden oluştuğu bildirilmiştir. Bu türlerdeki hayvanlarda osteogenez potansiyeli matür hayvanlardakinden daha aktif ve yoğun olacağından iyi bir değerlendirmenin matür hayvanlarda yapılmasının gerekli olduğunu belirtmişlerdir (127,128). Kemik doku çalışmalarında kullanılan çok çeşitli hayvan türü olmasına rağmen yaptığımız araştırmalarda en uygun modelin tavşan modeli olduğu belirlenmiştir ve bir örneklik açısından kemik gelişimini hemen hemen tamamlamış 6 aylık erkek deney hayvanlarının kullanılması uygun görülmüştür (31). Fare, rat ve kobay gibi küçük deney hayvanlarından antikoagölansız kan alınmasının zorluğu, yeterli hızda ve yeterli miktarda alınamaması halinde gereğinden fazla sayıda hayvanın kullanılması

gerekebileceği ayrıca intrakardiyak kan alımı sırasında ve sonrasında bu tür hayvanlarda ölüm riskinin bulunması ve uygun şartlarda alınmayan kandan hazırlanan greft materyalinin kalitesini etkilemesi çalışmada tavşan modeli üzerinde çalışılmasında etkili olmuştur.

Bazı çalışmalarda, granüler formdaki HA'nın yüksek derecede osteokondüktif ve iyi biyouyumlu olduğu bildirilmiştir (5,129,130). HA poröz formda (129,131,132) ve osteoblast aktivasyonunu arttıran maddeler ile uygulandığında (5,133), osteointegrasyon ve kemik formasyonu özelliklerinin arttığı belirtilmiştir(130,133-138). Orsini (5,139) ve arkadaşları bu greft materyalinin doğal kemik rejenerasyon fazlarını etkilemeyen, yüksek biyouyumlu bir materyal olduğunu bildirmişlerdir.

Hayvanlarda yapılan çalışmalar poröz olan β -TCP'in rezorbe oldukça yerini yeni kemik dokuya bıraktığını ve yeni kemik oluşumunu stimüle ettiği gösterilmiştir (140). TCP büyüme faktörleri içermez ve osteokondüktif bir greft materyalidir. Orsini ve arkadaşları β -TCP'in kemik içinde kolay rezorbe olup, yeni kemik oluşumunu uyardığını belirtirken, büyüme faktörlerine kimyasal olarak bağlanabilen HA'nın doku stabilizasyonunun yüksek olduğunu bildirmiştir (141).

Bu çalışmada sentetik greft materyallerinin ek maliyete sebep olmaları hazırlama sürecinin ileri teknoloji gerektirmesi gibi zorlukları olduğu bilindiğinden doğal koralin neredeyse hiç organik madde içermeyen kalsiyum karbonat yapısıyla en az diğer materyaller kadar etkili olacağı düşünülmüştür.

Mercanların, porlu yapıdaki iskeletleri kalsiyum karbonat yapıları "aragonit" adı verilen bir maddeden oluşmaktadır. Birbirleriyle bağlantılı olan por çapları çok değişkendir. Araştırmalar 90-200 μ m arasındaki por çapını kemik

gelişimine uygun bulurken bazı araştırmalar osteblast ve vasküler yapıların invazyonu ve osteoit gelişimi için por çapının en az 150µm olması gerektiğini por çapı 200-400µm olanların por çapı 50-100µm'den küçük olanlara göre kemik invazyonu ve implant rezopsiyonunun daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada spongiyöz kemik defektleri için Goniopora genusuna ait ortalama 500µm por çapındaki türlerin kullanılmasını önerirken, kompakt kemik defektlerinde Porites türlerinin ortalama 200µm çapında olanlarının kullanılmasını tavsiye etmişlerdir (7,142,143).

Bu çalışmada kullanılan doğal koralin Madreporaria takımından Madracis sp 400-800 µm por çapında olduğu XRD (X-Ray Diffraction) analizinde kristal yapısının aragonitten oluştuğu tespit edilmiştir. Porlu yapısı yüzey alanını genişletirken bu yapı hem damarlanma hem de hücre migrasyonuna yardımcı olmaktadır. Protein içermeyen koral'in %98'i kalsiyum karbonat, kalan %2'si flor, çinko, bakır, demir, stronsiyum ve magnezyum gibi elementlerden oluşup diğer metaller %0.005 den azdır(7,143). Karbonatın, kalsiyum ve fosfor gibi kemiğin yapısında ki doğal bileşenlerden biri olması nedeniyle koralin tümüyle rezorbe olup mükemmel bir doku uyumuna sahiptir olduğunu belirtmişlerdir (115).

Kemik iliğinden gelen hücrelerin koralin porlarına doğru göç ettiği ve daha sonra damarlanmanın başladığı, bir yandan osteoklastlar koralin rezorpsiyonunu sağlarken, diğer yandan osteoblastların yeni kemik oluşumunu başlattığı ve koralin yeni kemik oluşumunda osteokondüktif etki gösterdiği bildirilmektedir (64).

Yapılan bu çalışmada; osteokondüktif özelliğe sahip olması ve yerleştirildiği dokular ile iyi uyum sağlaması nedeniyle, HA, TCP ve koral'in kemik greft materyalleri olarak kullanılmasının uygun olduğu kanısına varılmıştır.

Greft materyalinin ve klinik kullanım alanlarını ve rezorpsiyon oranını partikül büyüklüğü ve yüzey pörözitesi gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlemektedir. Greftin büyük partiküllerden oluşması, rezorpsiyonu geciktirirken, pörözitesi arttıkça, yeni kemik stimülasyonuna bağlı olarak ve greftin rezorpsiyonun arttığı bildirilmiştir (107,110). Araştırmacılar (135,143), ideal bir greft materyalinde partikül büyüklüğünün optimum 300-400 µm olması gerektiğini bildirirlerken, Miller (73), kemik defektlerinde kullanılan, HA/TCP greft materyalinin partikül büyüklüğünün en az 300 µm olması gerektiğini bildirmiştir.

Chauhan ve arkadaşları (144), alloplastik greft materyalinin yüzey pörözitesinin en az 200 µm olmasının yeni kemik oluşumu için gereklili vurgulamışlardır. Kemik rejenerasyonunu direk olarak etkilemeyen alloplastik greft materyallerinin yeni kemik rejenerasyonu için sadece bir çatı görevi gördüğü, yüksek biyokompatibilite sahip olduğu belirtilmiştir.

İskelet sisteminin gelişiminde hormonlar ve büyüme faktörleri de önemli bir rol oynamaktadır (145). Gerçekleştirilen pek çok çalışmada, sistemik hormonlar ve büyüme faktörlerinin sert ve yumuşak doku metabolizması üzerine olan etkileri araştırılmıştır (27,42,39,72). Büyüme faktörleri özellikle yara iyileşmesi sürecindeki proliferasyon, diferansiyasyon, kemotaksis ve morfogenez gibi hücrel olayların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (42,43).

Hormonların iyileşmedeki rolünün daha iyi anlaşılması ve otojen platelet konsantrasyonlarının keşfiyle birlikte, yumuşak ve sert doku rekonstrüksiyonunda

yeni bir çağa girilmiştir. Fibrin yapıştırıcıların keşfiyle başlayan bu süreç TZP ve ardından TZF'nin uygulamaya girmesiyle devam etmektedir. TZF daha çok çene kemiği defektlerinde kullanılmıştır. Araştırmalar kemik ve yara iyileşmesinde TZF'deki sitokinlerin etkisiyle olumlu sonuçlar alındığını gösterse de karşıt sonuçlar gösteren çalışmalar olduğu görülmüştür. TZP'nin ardından TZF'nin keşfinden sonra yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda yapay yolla elde edilen TZP'de trombositlerin in vivo olarak kalsiyum klorür (CaCl_2) ile aktive edildiği ve sığır trombin eklenmesi sonucunda oluşan pıhtı kullanılırken, TZF'de cam tüp yüzeyine temas eden trombositlerin aktive olarak fibrin matriks içinde doğal bir pıhtı oluşmasının yara iyileşmesinde daha etkili olduğu belirtilmiştir (18, 27, 32, 38, 39, 43, 44, 121,125). Yaralanma ya da cerrahi sonucunda damarsal yapının bozulması, fibrin oluşumu ve plateletlerin agregasyonunu tetikler. Bugün plateletlerin basit hemostaz sağlamanın dışında da pek çok önemli görevleri olduğu bilinmektedir. Choukroun ve arkadaşları (146) TZF'nin, yumuşak ve sert dokularda hemostaz ve yara iyileşmesinde önemli görevleri olduğunu belirtmişlerdir. Hazırlanmasında 10 cc'lik otojen kan alınıp antikoagülan madde içermeyen steril cam tüpte rölatif santrifüjleme gücü ($g=28.38 \times R \text{ (rpm/1000)}^2$) (R:santrifüj rotorunun inch cinsinden yarıçapıdır) formülü kullanılarak hesaplanarak 10 dk 400 g'de santrifüje edilmesinin gerçek pıhtıya çok yakın bir oluşum şekillendiğini bildirilmiştir (11). TZF, fibrin yapıştırıcılar, TZP gibi maddelerden farklı olarak herhangi bir antikoagülan, sığır kaynaklı trombin veya başka jelleştirici ajan kullanılmadan hazırlanmakta, diğer fibrin uygulamalarından farklı olarak TZF'de kan cam tüp yüzeyine değdiği anda pıhtılaşma olayı başlamaktadır (11). Dohan ve arkadaşları (11,16-19,125) TZP derivelerinde antikoagülan kullanılmasından dolayı jelleştirici ajanların trombositlerin yeteri

kadar aktive olmasını sağlayamadığını ve bu nedenle oluşan fibrillerin daha ince, gevşek ve yoğun olmayan bir bağ oluşturduğunu bu nedenle fibrin yapıştırıcılar gibi çabuk çözünerek istenilen etkiyi göstermediğini öne sürmüşlerdir. TZF'deki trombositlerin ise doğal pıhtılaşma mekanizmasını aktive ederek doğal pıhtıdaki gibi kalın organize daha kompleks bir fibrin ağı oluşturarak daha uzun etkili ve güçlü bir yapı oluşturduğu belirtilmiştir (11,16-19,125). TZF'nin yara bölgesinde uygulandıktan sonra yavaş yavaş yerini yeni dokuya bırakırken fibrin ağı içindeki trombositlerin ortama aktardığı sitokinler yara bölgesinde sürekli olarak doku uyarımı sağlarlar. Trombositlerin tam olarak aktive olamaması granüllerdeki sitokinlerin yeteri miktarda salınımını engellediğinden ve TZP'nin yumuşak yapısından dolayı çabuk ortamdan uzaklaşması nedeniyle kullanım avantajını kaybettiği ve yerini TZF' ye bıraktığı düşünülmektedir (11,16-19,125).

Trombositlerin oluşturduğu fibrin içinde yoğun bir şekilde bulunduğu düşük hızda santrifüj işlemiyle meydana gelen fibrin ağın doğal fibrin ağına çok benzemesi nedeniyle bu ağ içine trombosit ve bunların salgıladığı sitokinlerin daha rahat migrasyonuna yardımcı olduğu, TZF'nin biyolojik bir fibrin yapıştırıcıdan çok, yara iyileşmesini hızlandıran bir ajan olduğu belirtilmiştir. (11,16-19,125).

Yeni teknoloji tartışmalarına katkıda bulunmak ve sitokinlerin etkilerini kabul gören kalsiyum kaynaklı greftlerle karşılaştırabilmek için plazma ve fibrin yapıştırıcılara göre daha doğal ve efektif olduğu belirtilen TZF ve diğer kalsiyum kaynaklı greftler ile bu çalışmanın yapılması uygun bulunmuştur.

TZF içinde ki bulunan trombositlerin α granüllerinin Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β), Epithelial Growth Factor (EGF), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Platelet

Derived Epidermal Growth Factor (PDEGF), Platelet Derived Angiogenesis Factor (PDAF) ve Platelet Factor 4 (PF-4) gibi birçok büyüme faktörü içerdiği belirlenmiştir (32-42). Yapılan bir çalışmada, trombosit aktivasyonundan 10 dakika sonra, α granüllerindeki büyüme faktörleri salgılandığı ve 1 saat içinde de, bu büyüme faktörlerinin %95' inin yara bölgesine ulaştığı bildirilmiştir (101). Trombositler salınan büyüme faktörleriyle yaralanma sonrasında çevre dokularda iyileşmeyi başlatmaktadır(32,44-46). İn vitro çalışmalarda, PDGF' nün fibroblastların üzerinde proliferatif ve kemotaktik etki yaptığı, kollajen ve protein sentezini artırarak kemik iyileşmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir (49-52).

Fareler üzerinde gerçekleştirilen bir in vivo çalışmada, rezorbe olabilen bir membran ile birlikte kullanıldığında PDGF' nin kalvariyal defektlerdeki kemik rejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bir diğer in vivo çalışmada, köpeklerdeki ağız içi defektlerde, bariyer membran ile birlikte PDGF kullanılmasının kemik doku ve periodontal ligament gelişiminde artışa neden olduğu bildirilmiştir (49,56). Maymunlardaki periodontal defektler üzerinde yapılan bir çalışmada, tek doz olarak yapılan PDGF uygulamasının, alveolar kemik yüksekliğinde artışa neden olduğu bildirilmektedir (52).

PDGF etkilerini IGF, TGF-b, VEGF ve EGF gibi diğer bazı büyüme faktörleriyle etkileşime geçerek göstermektedir (39,49, 58,63).

IGF' nin IGF-I ve IGF-II olmak üzere, her biri iki tek zincirli peptitten oluşan iki farklı formuda insülinle aynı reseptörlere bağlanarak ve arasında kemikler ve dişler gibi pek çok dokunun gelişiminde etkili olduğu belirlenmiştir (64,67). Her iki IGF formu da, hematopoietik hücreler, fibroblastlar ve sinir sisteminin canlılığının korunmasında görev almaktadır (49-52). IGF-II miktarı daha fazla olmakla beraber osteoblastlar üzerinde de doza bağlı kemotaktik

etkileri olduğu düşünölmektedir(52,71). PDGF, IGF-I, TGF-b ve EGF birlikte kullanıldığında insan osteoblastlarının proliferasyonunda artış olduğu bildirilmiştir (58).

PDGF yara bölgesindeki IGF ve diğör faktörleri uyararak lokal bir somatotropin etkisi oluşturduğu böylece defekte hücre proliferasyonu, vaskülarizasyon ve yeniden yapılanmayı hızlandırdığı düşünölmektedir. TZF yapısındaki interlökinlerin defekt ve çevresinde yangıyı baskılamasının yanı sıra interlökin-6 ile osteoklastları uyararak remodeling ile yara iyileşmesine yardımcı olduğu düşünölmektedir. PCR ve gen tedavi metodlarının geliştirilmesiyle bu sitokinler ve BMP gibi özel proteinlerin rekombinant formlarının sentezlenmesiyle ilk önceleri gözde olan bu maddelerin kısa ömürlü olduğu ve istenilen kadar efektif göstermediğı anlaşılmıştır (49-52).

Trombositler ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin ömürleri ve etki süreleri literatürlerde tartışılmıştır (16,18,49-52). Trombositlerin degranölasyonu ve büyüme faktörü salınımlarının ilk 3-5 günde, büyüme faktörü aktivitesinin 7-10 gün devam ettiğı bildirilmiştir. Trombositlerin büyüme faktörlerinin direkt etkilerinin ortalama olarak ilk 5-6 günden sonra yavaş yavaş azalarak kaybolacağı, ancak aktif osteoblastların ömrü yaklaşık 3 ay olduğu için kemik rejenerasyonunun hızlanmış bir şekilde devam ettiğı düşünölmektedir (70,99,101,118).

Osteoblastlar organik matriks proteinlerini ortama sentezlerken, TGF- β (Transforming Growth Factor), IGF-I (Insulinlike Growth Factor), IGF-II, FGF (Fibroblast Growth Factor), PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ve BMP'ler (Bone Morphogenic Protein) gibi osteoblastlar tarafından üretilen büyüme

faktörleri yapısal matriks proteinlerine katılarak büyüme faktörü etkisini devam etmesini sağladığı bildirilmiştir (34).

Sanchez ve arkadaşları (147) tek bir rejenerasyon mekanizmasını aktive edebilen rekombinant büyüme faktörlerinin tek başına uygulanmasındansa trombositlerin kaynaklı farklı büyüme faktörlerinin aynı anda yüksek miktarlarda ortama uygulanmasının daha etkili bir yaklaşım olduğunu belirtmişlerdir. Bu her sitokinin doku üzerinde farklı etki göstermesi ve farklı doku yanıtlarına sitokinlerin birbirleriyle etkileşime geçerek neden olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, HA, TCP ve koral gibi osteokondüktif greftler ile birlikte TZF'nin tek başına ve kombinasyonları halinde kullanımı sonucunda kemik defeklerinin iyileşmesi üzerinde sitokinlerin etkilerinin incelenmesi ve sonuçlarının karşılaştırılmasının yapılmasının uygun olduğu kanısına varılmıştır.

Daha önce yapılan bu tip deneysel çalışmalar (6,11,29,73,86) gözden geçirildiğinde histopatolojik değerlendirme dönemlerinin farklı olduğu görülmektedir. Kemikleşmenin 1.-2. haftalarda başladığı, 6.-8. haftalarda defektlerin reorganize olarak dolduğu bildirilmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda olguların izleme süresi 8 hafta olarak seçilmiştir. Çalışmada kullanılan greft materyallerinin etkinliklerinin, kemik iyileşmesinin erken ve daha ileri dönemlerinde karşılaştırılması amacı ile ara dönemler ise 15, 30, 45 ve 60. günler olarak belirlenmiştir.

Deney hayvanı olarak kullanılan tavşanlarda genellikle kan almak için v. auricularis kullanılmasına rağmen (16) çalışmada alınan kan miktarının fazlalığı, hızlı bir şekilde antikoagülansız kan almanın pıhtılaşma kalitesi için öneminden dolayı v. jugularis kullanıldı. Bu çalışmada v. jugularis istenilen hızda ve miktarda kan alımına imkan sağlamıştır. TZF hazırlanırken tavşanlardan operasyon öncesi

steril şartlarda vena jugularis'ten 8 ml kan alınıp 400 g'de 10 dk santrifüj işlemi yapılarak trombositen zengin fibrin hazırlandı. Düşük hızda gerçekleştirilen santrifüj işlemi ile elde edilen TZF'nin doğal fibrin ağına benzemesi amaçlandı.

TZF'nin hızla uygulanabilmesi için anestezi altındaki tavşanlardan operasyondan hemen önce kan alınarak greft hazırlanmış ve bekletilmeden uygulanmıştır. Ancak bu ek uygulama operasyon süresini uzattığından dolayı tavşanlara idame dozda anestezik madde uygulaması yapılmak durumunda kalınmıştır. Tavşanlara kas içi 5 mg/kg dozunda Xylazine hydrochloride (Rompun, Bayer, 23.32mg/ml) enjekte edildikten 10 dakika sonra, 35 mg/kg kas içi Ketamin hydroclorur (Ketalar, Parke-Davis, 50 mg/ml) uygulamasının yaklaşık olarak 20 dk süre ile operasyona izin verecek düzeyde anestezi sağladığı saptanmış olup anestezi ile ilgili herhangi bir olumsuzlukla karşılaşılmamıştır.

Operasyon bölgesi olarak ana arter, vena ve sinirlerin bulunmaması, mümkün olan en az yumuşak doku hasarı ile kemiğe ulaşılacak bölge olduğu için (38) tibianın medial yüzünün proksimal diyafizer bölgesinin seçilmesi uygun görülmüştür. Operasyon sırasında deri ensizyonunu takiben künt diseksiyon ile kasların arasından rahatça kemik yüzeyine ulaşılmıştır.

Kemik defektlerindeki iyileşme miktarı, defektin büyüklüğüne bağlı olduğundan iyileşmenin değerlendirilmesi için oluşturulan deneysel kemik defektinin, spontan iyileşmeyecek kadar büyük olmasının greftin osteojenik potansiyelinin tam olarak değerlendirilmesi için gerekli olduğu belirtilmiştir (127,128).

Hollinger ve Kleinschmidt (127,128) tarafından Kritik Boyut Defekti (KBD) olarak adlandırılan bu özelliklere sahip deneysel kemik defekti osteojenik özellikteki materyallerin değerlendirilmesinde standart bir model olarak kabul

edilmiştir. Bireyin yaşamı boyunca spontan olarak iyileşemeyecek en küçük intraosseöz yara olarak tanımlanm KBD, oluştuğu türlere ve bölgeye göre farklılık göstermektedir. Deneysel çalışmalar da sürenin sınırlı olması ve deney hayvanının tüm hayatı boyunca izlenmesinin mümkün olmamasından dolayı hayvan araştırmalarında KBD, çalışma süresi boyunca iyileşemeyen defektlerini ifade ettiği kabul edilmiştir (81,84,104,117,119,127,128).

Tavşanlarda yapılan çalışmalarda 0,5-8 mm gibi çok çeşitli defekt büyüklükleri uygulandığı bildirilmekle beraber diyafiz genişliğini aşan defektlerde özellikle 4 mm ve daha geniş olanlarda kırık oluştuğu bildirilmiştir. Tibia diyafiz genişliği dikkate alınarak 3,5 mm'lik defektin uygun olacağı aynı zamanda 2 aylık erken dönem kemik iyileşmesi için KBD olduğu düşünülmüştür. Tavşan tibiasının şekli, büyüklüğü ve tavşanların daha uzun olan arka ayaklarından güç alarak yürüdükleri göz önüne alınarak oluşabilecek kırıkları önlemek ve hayvan sayısının optimum olabilmesi için her deney hayvanında her iki tibia'da proksimal ve distal olarak ikişer defekt oluşturulmuştur. Operasyonlarda 3,5 mm'lik cerrahi dril ile tibianın medial yüzünde kompakt kemik kalınlığında meduller boşluğa ulaşan defekler kolaylıkla oluşturulmuştur. Kalsiyum kaynaklı greftlerin granüler yapılarından dolayı tek olarak yerleştirildikten sonra defekt içerisinde tesbitinin güç olduğu görülmüştür. Çalışmalarda (11,31,68,112) otojen kanla veya serum fizyolojikle karıştırılarak daha kolay uygulandığı bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışmada, kalsiyum kaynaklı greftlerin otojen kan ile karıştırılarak kullanılması halinde, kalsiyum kaynaklı greftlerin TZF ile karıştırılarak uygulandığı gruptakine benzer sonuçlar ortaya koyabileceği için uygulama serum fizyolojik ile karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Bu greft

materyallerinin TZF ile karıştırılarak uygulanması literatürlerde bildirildiği gibi hem greft yerleştirilmesi hem de stabilizasyonunu kolaylaştırdığı görülmüştür (16-19,125). Kaslar, fasia, deri altı bağ doku ve deri greftlerin üzerini kapatacak ve dağılmasını engelleyecek uygun şekilde ayrı ayrı dikiş ile kapatılarak operasyon sonlandırılmış, postoperatif herhangi bir komplikasyonla karşılaşmamıştır.

Araştırmacılar (6,11,31,114), koral, TCP ve HA greftlerinin yerleştirildiği kemik defektlerinde implantasyondan hemen sonra alınan radyografilerde, greft yapılarının belirlenebildiğini, zamanla rezorbe olduklarını öne sürmüşlerdir.

Bu çalışmada, koral, TCP ve HA greftleri uygulanan olguların implantasyondan hemen sonra alınan radyografilerinde, greftler açıkça gözlendi. Literatürlerle (6,11,31,114) uyumlu olarak, radyografilerde greftlerin sahip olduğu yoğunluğun zaman geçtikçe azaldığı, ancak normal kemik kontrastının oluşmadığı saptandı. Yapılan bu çalışmada 4. haftanın sonunda koral greftlerinin TCP ve HA greftlerine göre daha hızlı bir şekilde rezorbe olmasıyla birlikte yeni kemik oluşumunun artması literatür bilgileriyle (6,11,31,114) uyumlu görünmektedir.

Bu çalışmada, otojen TZF uygulanan olgularda kemik defektindeki kallus oluşumunun zamanla arttığı, 30. (Tablo 7) ve 60. (Tablo 8) günlerdeki radyografik muayenelerde kemik defektlerinin büyük oranda yeni oluşan kemik dokusu ile doldurulduğu ve koral, TCP ve HA implant uygulanan olgulara göre daha iyi bir kemik oluşumunun bulunduğu gözlendi.

Marx ve arkadaşları (148), osteokondüktif greft materyalleriyle birlikte uygulanan TZP'nın kemik iyileşmesine anlamlı katkı sağlayamayacağı düşündüklerini belirtmişlerdir. Kim ve arkadaşları (149) ise HA'ı tek başına ve TZP ile beraber tavşan kraniyal defektlerinde uygulamışlar, postoperatif 1. ve 2.

aylarda ki radyolojik muayenelerde, TZP eklenen grupta daha yoğun kemik iyileşmesi olduğunu bildirmişlerdir.

Yılmaz (11) domuzlarda yaptığı çalışmada tibial defektlere TCP, TZF ve TCP-TZF kombinasyonunu uygulamış TCP-TZF kombinasyonu uygulanan gruptaki iyileşmenin, sadece TCP uygulanan gruptaki iyileşmeden daha iyi olduğunu bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada literatürlerle uyumlu olarak koral, HA ve TCP'ın uygulandığı gruplara göre koral+TZF, HA+TZF ve TCP+TZF (tablo7-8) gruplarındaki iyileşmenin daha iyi olduğu görülmüştür.

Doğal kemikten farklı mekanik özellikleri olan ve uygulandıkları bölgede çok uzun süre kalması tehlike oluşturacak materyallerde, greft materyalinin rezorbe olarak yerini kemik dokuya bırakması istenilen bir özellikken, kemik ile greft materyali birleşmesinden önce rezorpsiyonun olması istenmemektedir. Kemik matürasyonu için gerekli süreyi sağlayarak kemik greft materyallerinin, belirli sürede yavaş rezorbe olması istenilen bir özellik olarak bildirilmektedir. Osteoindüktif materyallerin yavaş rezorbe olması istenilen bir özellik olmayıp, kısa sürede yerini yeni kemiğe bırakarak yeni kemik oluşumunu etkili bir şekilde artırması beklenmektedir. greft materyalinin bölgenin basınç, hareket ve taşıma kapasitesine göre belirli süre kemik dayanımını sağlayarak ve iyileşme ölçüsünde yerini kemik dokuya bırakması beklenmektedir(31). Bu çalışmada koral defekt bölgesinde yeni kemik oluşumu için yeterli ve gerekli süre kalarak rezorbe oldukça yerini yeni kemik dokusuna bırakmıştır. Daha geç rezorbe olan materyallerin iyileşmenin yavaşlamasına neden olabileceği, bu açıdan HA'ten daha erken rezorbe olan koral ve kısmen TCP'ın kemik iyileşmesine ikincil olarak yardımcı olduğu düşünülmüştür.

Daculsi ve arkadaşları (150), deneysel çalışmalarında farklı TCP/HA oranlarını (15/85, 35/65, 85/15) karşılaştırmış ve farklı oranların greft materyalinin sadece rezorbsiyon süresi üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. HA oranı arttıkça ise rezorbsiyon zamanının uzadığını göstermektedirler. Yapılan bu çalışmada 60. günde gerçekleştirilen radyografik ve makroskobik muayenelerde HA partiküllerinin defekt bölgesinde gözlenmesi Daculsi ve arkadaşlarının (150) bulguları ile uyum göstermektedir. HA'nın kimyasal yapısının aragonit yapıdaki koral veya basit kalsiyum fosfat bağı içeren TCP'tan daha kompleks olan kemik dokudaki gibi kararlı HA kristallerinden oluşmasının HA'nın daha geç rezorbe olmasında rol oynadığı düşünülmektedir.

Frassynet ve arkadaşları (151) koyun femuruna yerleştirdikleri hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyum fosfat (TCP) greft materyalinin kemiğe osteointegrasyonunu kıyaslamışlar ve yaptıkları histopatolojik inceleme sonucunda TCP'nin, HA'e oranla kemiğe çok daha iyi tutunduğunu göstermişlerdir.

Szucs ve arkadaşları (152) 52 hastaya kist enükleasyonu, sinüs augmentasyonu ve periodontal operasyonlarında beta TCP uygulamışlar, 12 ay sonra TCP'nin tek başına rahatlıkla greft materyali olarak kullanılabileceğini hatta otojen kemik greftlerine bile alternatif olarak kullanılabileceğini bildirirken, Atalay (36) çalışmasında; 3. ve 6. haftalarda beta trikalsiyum fosfat greft materyalinin kemik iyileşmesine olumlu bir etkisinin olmadığını fakat 8. haftada kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilediğini bildirmiştir (36).

Wada ve arkadaşları (78), köpeklerdeki mandibuler defektlere otojen kemik, dondurulmuş kurutulmuş kemik ve beta trikalsiyum fosfat greft materyali uygulamışlardır. Dört aylık bir deney süresi sonunda yaptıkları histopatolojik

inceleme sonucunda tüm materyallerin herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu meydana getirmeden kemik dokusu tarafından iyi tolere edildiğini ve otojen kemik uygulanan grupta beklendiği gibi diğer gruplara oranla osteogenezin belirgin olarak arttığını saptamışlardır.

Yapılan bu çalışmada koral HA ve TCP greft materyallerini uygulanan gruplarda herhangi bir yabancı cisim reaksiyonunun meydana gelmediği, inflamatuvar bir yanıt olmadığı gözlemlendi. Her üç greft materyalinin de doku uyumunun literatürlerle (6,11,31) benzer bir şekilde iyi olduğunu belirlendi. 60. gündeki makroskopik muayenede koral ve TCP partiküllerinin defekt bölgesindeki kemikleşmeyle beraber rezorbe olduğu ve kemik doku içinde gözle görülemezken, HA partikülleri tüm defektlerde yeni kemik doku içinde penetre olmuş şekilde izlenmiştir.

Dupoirieux ve arkadaşları (153), ratlarda standart nazal kemik defektlerine, demineralize kemik greftlerini ve koralı iki farklı sterilizasyon yöntemiyle (otoklav ve etilen oksit) sterilize edip implante ettikleri çalışmada, 8 hafta sonunda etilen oksit ile steril edilmiş demineralize kemik uygulanan 10 adet rattan dördünde materyalde parsiyel vertikal rezorpsiyon izlediklerini bildirmişlerdir.

Kalsiyum içeren materyallerin, vücuda yerleştirilmelerini takiben greft yüzeyinde biyolojik apatit yığılması in vitro çalışmalarda ve hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Biyolojik apatit tabakasının kemik hücrelerinin ve protein yapışması için bir substrat görevi gördüğü bildirilmektedir. Doğal kemik minerali içeren greft materyallerinin; kemik dokusu ile daha hızlı birleşme gösterdiği, yapısındaki porlar nedeniyle kemik dokusunun bu porların içine doğru büyümesine yardımcı olarak yeni kemik yapımını stimüle ettiği bildirilmektedir.

Bu nedenle koralin yapısını oluşturan ve kemiğin doğal bileşeni olan HA kristallerinin ön formu olan aragonitin kemik hücreleri tarafında şekillendirilip düzenli HA kristali şeklinde işlenmesi için olanak verdiği, HA'ın geç rezorbsiyonunun nedeni olarak ise düzensiz HA kristallerinin işlenmesinin daha zor olduğu düşünülmektedir.

TZF ve kemik greftlerinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelenmesinde değişik yöntemler olmasına karşın hücresel düzeydeki olayların izlenebilmesi nedeniyle histolojik incelemenin bu tür çalışmalardaki en uygun yöntem olduğu belirtilmiştir (111,118). Histopatolojik incelemede kontrol grubunda 30. günde sadece granülasyon dokusu izlenmesi ve 60. günde genel fibröz kallus içinde çok az kemik izine rastlanması ve defektlerin hiç birinin tam olarak dolmaması literatürlerdeki Hollinger ve Kleinschmidt kriterlerine (127,128) uyduğunu ayrıca kemik iyileşmesinde kemik grefti uygulamasının gerekliliğini göstermiştir. TZF grubundaki 30. ve 60. günlerde yeni kemik oluşumunun belirgin olarak kontrol ve diğer gruplara göre daha iyi olduğu izlendiğinden sitokinlerin kemik doku etkisinin diğer greft materyallerinden çok önde olduğu görülmüştür. Koral+TZF, HA+TZF ve TCP+TZF grupları Koral, HA ve TCP'ın gruplarına daha iyi kemik oluşumu gösterirken Koral+TZF grubunun diğer gruplara göre oldukça fazla yeni kemik ile dolduğu izlenmiştir. Koral+TZF, HA+TZF ve TCP+TZF gruplarında iyileşmenin Koral, HA ve TCP'ın uygulandığı gruplara göre daha iyi olması TZF'nin etkisinin göstergesidir. Bu bulgular kalsiyum kaynaklı greftlerin trombosit sitokinleri ile kullanılmasının daha verimli olacağı yönündeki görüşleri desteklemektedir. Koral, HA ve TCP grupları TZF grubu ile karşılaştırılınca yeni kemik oluşumunun oldukça az olduğu gözlenmiştir. Koral, HA ve TCP grupları kendi aralarında incelendiğinde koral grubunda

diğerlerine göre daha fazla yeni kemik izlenmiş, ayrıca HA ve TCP'tan daha iyi rezorbe olduğu belirlenmiştir. Defekt bölgelerinde HA ve TCP'ın daha az rezorbe olduğu ve yeni kemik oluşumunun belirgin şekilde az olduğu dikkat çekmiştir.

Sonuç olarak, TZF içerdiği sitokinler nedeni ile yüksek osteogenetik özelliklere sahip iyi bir greft materyali olarak kemik defektlerinin onarımında rahatlıkla kullanılabilir. TZF ilk tercih olmak üzere sırasıyla Koral+TZF, TCP+TZF, HA+TZF, Koral, TCP ve HA'in kullanılabileceği kanısına varılmıştır. TZF'nin kemik iyileşmesindeki önemi yapılacak ilave araştırmaların sonuçlarının yayınlanması ile daha iyi anlaşılabacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Kahnberg KE, Rasmusson L, Zellin G. Bone Grafting Techniques for Maxillary Implants. Blackwell Pub. Co., Danimarka, 2005.
2. 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 AD, 2007.
3. Alexander JW. Bone Grafting. Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Prac.) 1987, 17,(4).811-819.
4. Babbush CA. Dental Implants-The Art and Science: W.B. Saunders Co; 2001.
5. Çakır M. Maksillofasial Bölgedeki Kemik İçi Defektlerin Tedavisinde Plateletten Zengin Plazma'nın Hidroksiapatit Kemik Greftleri İle Birlikte kullanımının Etkinliğinin Klinik ve Radyolojik Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara; Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2009.
6. Durmuş AS. Köpeklerde Deneysel Maddi Kayıplı Femur Kırıklarında Koral ve Spongiyöz Otogref Uygulamalarının Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Elazığ; Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Veteriner Cerrahi Programı) 2000.
7. Guillemin G. Patat L, Fournie Y, Chetail M. The Use of Coral as a Bone Graft Substitute. J. Biomed. Mater. Res. 1987, 21: 557-567.
8. Peterson LJ. Principles Of Oral And Maxillofacial Surgery: Lippincott-Raven Publishers; 1997.
9. Manson PN. Facial Bone Healing and Bone Grafts, Clin. Plast. Surg., 1994,21(3), 331-348.
10. Urist MR. O'conner, B. T., Burwell, R. G.: Bone Grafts, Derivatives and Substitutes, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, 1994.
11. Yılmaz D. Domuzlarda Oluşturulan Kemik Defektlerinde Trombositten Zengin Fibrin İle Trikalسيوم Fosfatın Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara; GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2009.
12. Friedlander GE. Current Concepts Review Bone Grafts, The Basic Science Rationale For Clinical Applications. J. Bone-Joint Surg., 1987,69-A, (5) 786-790
13. Erkmen E. Spongioza Blok Kemik Greftinin, Dura Mater ve Fascia Lata Graft Materyalleri ile Birlikte Uygulandığı Segmental Osteotomiler Sonrasında İyileşmenin Histopatolojik Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara; Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2000.
14. Fox SM. Cancellous Bone Grafting In The Dog: An Overview. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 1984, 20, 840-848.
15. Gamberdalla PG. Bone Grafts In Small Animal Orthopaedics: A Review. Comp. Contin. Educ. Pract. Vet. 1984, 1,(8),596-602.
16. Dohan, DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2006; 101: 37-44.
17. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B.: 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.
18. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B.: Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2006; 101: 51-55.

19. Dohan SL, Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan AJJ, Mouhyi J, Dohan DM.: Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2006; 101: 56-60.
20. Akay MT. Genel Histoloji. Palme Yayıncılık, Ankara, 1975.
21. Erkoçak A. Genel Histoloji, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1975.
22. Soydan N. Genel Histoloji, İstanbul, 1992.
23. Tekelioğlu M. Genel Tıp Histolojisi. I. Baskı, Beta Basım Yayın A.Ş., Ankara, 1989.
24. Demirel B. Angiostatinin Deneyisel Diş Hareketlerinde Kemik Dokusu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara; GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti AD, 2005.
25. Boden SD. Bioactive factors for bone tissue engineering. Clin. Orthop. 1999, 367, 84-95
26. Ayhan E. Mine Matris Proteininin (Emdogain), Punch Greft Tekniği İle Kapatılan Çekim Soketinde Yeni Kemik Oluşumuna Olan Etkisinin Bio-Oss Collagen İle Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Ankara; Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji AD, 2007.
27. Atılğan SS. Kalsiyum Sülfat Partikülleri İle B-Trikalsiyum Fosfat/ Hidroksiapatit Granüllerinin Kemik İçi Kavitealarında Osteogenezis Üzerine Olan Etkilerinin Deneyisel Olarak Karşılaştırılması Doktora Tezi, Diyarbakır, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız-Diş-Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi AD, 2006.
28. Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO. Basic histology. Çev: Aytekin Y. İstanbul. Barış Kitapevi; 1998:132-146.
29. Özkaynak CK. Deneyisel 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 AD, 2007.
30. Fawcett, DW. Bloom and Fawcett: A Textbook of Histology, Twelfth Edition, Chapman & Hall, New York, 1994.
31. Bozkaya S. Deproteinize ve Demineralize Kemik Greftlerinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneyisel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2005.
32. Thibodeau GA, Patton KT. Anatomy and Physiology, 5th ed., Mosby Inc., China, 2003, 190-202.
33. Kaya Yıldız M. Kemik iyileşmesinde trombosit zengin plazmanın (platelet rich plasma-prp) etkisinin deneyisel olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2006.
34. Mundy GR. Bone remodeling and Its Disorders: Martin Dunits, 1999; 1- 11.
35. Sodek J, MC Kee. Molecular and cellular biology of alveolar bone. Periodontology 2000, 24: 99- 126.
36. Atalay B. Deneyisel Olarak Demir Eksikliği Anemisi Yapılan Sıçanlarda Kemik Defektlerine Yerleştirilen Greft Materyallerinin Kemik İyileşmesine Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2006.
37. Mc Lean FC, Urist MR. Bone: Fundamentals of the Physiology of Skeletal Tissue. 3rd ed. Chicago, University of Chicago Press, 1968.
38. Nordin M, Frankel VH. Biomechanics of Whole Bone and Bone Tissue. Philadelphia, Lea and Febiger, 1980, 15-60.
39. Simmons DJ. Fracture healing. In Urist MR (ed): Fundamental and Clinical Bone Physiology. Philadelphia, JB Lippincott, 1980: 283-330.

40. Ham AW, Harris WR. Repair and transplantation. In: Bourne GH (ed): Biochemistry and Physiology of Bone. Vol I. New York, Academic Press, 1971: 338-399.
41. Park JB, Bronzino JD. Biomaterials: Principles and Applications, CRC Press, USA, 5-9, 2002.
42. Arun K, Garg, DMD; Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants, Rationale and Clinical Applications, Quintessence Publishing.
43. Meyer U, Wiesmann HP. Bone and Cartilage Engineering: Springer; 2006.
44. Fonseca RJ, Walker RV, Betts NJ, et al: Oral and Maxillofacial Trauma, 3rd edition, Elsevier Saunders, China, 2005,(1),42-55.
45. Glimcher MJ. Handbook of Physiology: Endocrinology, Williams and Wilkins, USA, 1976.
46. Bayar GR. Ooferektomi Uygulanmış Tavşanlarda Periosteal Distraksiyon ile Elde Edilen Yeni Kemik Dokuların Değerlendirilmesi, Dişhekimliği Bilimleri Doktora Tezi, Ankara; GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Programı, 2004.
47. Shalaby SW, Salz U. Polymers for Dental and Orthopedic Applications. CRC Press, USA, 2007.
48. Young RW. Nucleic Acids, Protein Synthesis and Bone, Clin Orthop Rel Res, 1963;26: 147-160.
49. Owen M. Histogenesis of Bone Cells, Calcif Tissue Res, 1978; 25: 205-207.
50. Aslan M. Kemik defektlerinin iyileşmesinde heterojen kemik greftinin ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu yönteminin etkilerinin incelenmesi ve karşılaştırılması. Doktora Tezi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız-Diş-Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi AD, 2002.
51. Addison WC. Enzyme Histochemical Properties of Kitten Osteoclasts in Bone Imprint Preparations, Histochem J, 1978;10: 645-656.
52. Kahn AM. Simmons, D.J., Krukowsky, M.: Osteoclast Precursor Cells are Present in the Blood of Preossification Chick Embryos, Dev Biol, 1981;84:230-234.
53. Kaye M. When is It and Osteoclast? J Clin Pathol, 1984; 37: 3 98-400.
54. Marks SC. Jr. The Origin of Osteoclasts: Evidence, Clinical Implications and Investigative Challenges of an Extrasketal Source, J Oral Pathol,1983;12: 226-256.
55. Marks SC, Walker DG. The Hematogenous Origin of Osteoclasts: Experimental Evidence from Osteopetrotic (Microphthalmic) Mice Treated with Spleen Cells from Beige Mouse Donors, Am J Anat, 1981;161:1-10.
56. Osdoby P, Martini MC. Caplan AI. Isolated Osteoclasts and Their Presumed Progenitor Cells, the Monocyte, in Culture, J Exp Zool, 1982;224:331.
57. Mundy GR. Peptides and Growth Regulatory Factors in Bone, Rheum Dis Clin North Am, 1994;20: 577-588.
58. Irie K, Irie FH, Ozawa H, Yajima T. Calsitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Containing Nerve Fibers in Bone Tissue and Their Involvement in Bone Remodeling; Microscopy Research and Technique. 2002, 58,85-90.
59. Kayalı H. Genel Histoloji. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1989.
60. Kostopoulos L, Karring T. Role of periosteum in the formation of jaw bone. an experiment in the rat, J. Clin. Periodontol., 1995; 22, 247-254.
61. Popowics TE, Zhu Z, Herring SW. Mechanical properties of the periosteum in the pig, Arch. Oral. Biol., 47, 2002,733-741.
62. Puckett CL, James S, Metzler MM, Silver D. Bone formation by revascularized periosteal and bone grafts, compared with traditional bone grafts, J. Plas. Reconstr. Surg., 1979;64, 361-365.
63. Raisz LG. Physiology of Bone, Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. J.B. Lippincott Company, 1990.

64. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Blackwell Pub, 4th edition, USA, 2003,867-877.
65. De Palma. The Management of Fractures and Dislocations. 2nd ed. London: W. B. Saunders, 1970;1:10-12.
66. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniv. Tıp Fakül. Mec.2002,(55)2, 143-150.
67. Aslanbey D. Veteriner Ortopedi Ve Travmatoloji, Medipres, Ankara, 2002.
68. Atabek A. Ototreftler aracılığı ile elde edilen otojen kemik partiküllerinin ve iki farklı greft materyalinin yalın ve kombine uygulamalarının histopatolojik incelenmesi sonuçları. Doktora Tezi, Ankara; Hacettepe Üniversitesi, 2003.
69. Cruess RL. Healing of bone,tendon and ligament: Fractures. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Co, 1984;1:147-167
70. Kenneth JK.Orthopaedic Knowledge Update 7, American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2002 ;(2)19-29.
71. Gartner LP, Hiatt James L. Color Textbook of Histology, 1997;114-130.
72. 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(1):64-70.
73. Miller MD. Review of Orthopaedics. 2nd edition. 1996: 1-22.
74. Khan SN. Bone growth factors:Orthop. Clin. North Am. 2000: 31(3):375-388.
75. Guyton AC. Textbook of medical physiology. Philadelphia, london, Toronto, WB Saunders Co. 1058-1060, 1976.
76. Brond AR, Rubin TC. Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone,;1: 93-114,1990.
77. Macintyre DR, Speculand B. Autogenous bone grafting for persistent maxillary cyst cavities. Br. Dent. J. 1983; 155: 273-277.
78. Wada T, Wu CH, Sugita H, Sugita N, Katagiri S, Shimizu M, Hara K. Autogeneous, allogenic and β -tcp grafts: comparative effectiveness in experimental bone furcation defects in dogs. J. Oral Implantol. 1989; 15: 231 –236.
79. Sandallı P. Oral İmplantoloji. Erler Matbaacılık, İstanbul, 2000.
80. Şentürk M. Diş hekimliğinde kemik ogmantasyonu uygulamaları. Diş Hekimliği Bilimleri Ağzı, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Semineri, GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1999.
81. Güven O. Keskin A. Çağdaş Preprotetik Cerrahi. Irmak Matbaacılık, Ankara, 1996
82. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics. Quintessence Pub., USA, 1999.
83. Murugan R, Ramakrishna S. Development of nanocomposites for bone grafting. Composites Science and Technology, 2005; 65, 2385-2406.
84. Grant DA, Stern JB, Listgarten MA. Periodontics. 6. Baskı, The C.V. Mosby Company, St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto, 1990.
85. Ünlü F, Gürses N. Ana Hatlarıyla Periodontoloji (Peter F. Fedi, Jr.'dan çeviri). E. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Yayınları, İzmir, 1997.
86. Saat E, Durmuş AS. Köpeklerde otojen kortikal ve spongiyöz kemik greftlerinin uygulanması ile oluşan kallusun çekme ve basma dayanımlarının incelenmesi. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2009; 15(6): 863-868.

87. 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. *Clin. Oral Impl. Res.*, 2004; 15, 308-314.
88. Bauer TW, Muschler GF. Bone Graft Material. An Overview of the Basic Science, *Clin Orthop Relat Res*, 2003;371, 10-27.
89. Çakılcı B. Kemikçidefektlerin Tedavisinde Trombositten Zengin Plazma Uygulama Sonuçlarının Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Ankara; Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji AD, 2007.
90. Caranza FA, Newman MG. Clinical Periodontology. 8. Baskı, W.B. Saunders Company, USA, 1996.
91. Genco RJ, Goldman HM, Cohen DM. Contemporary Periodontics. 6th Edition. The C.V. Mosby Company; Missouri, USA, 1990.
92. Peter FF JR, Ana Hatlarıyla Periodontoloji. (çeviren: Fisun Ünlü, Nurcan Gürses) Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 1997.
93. Rosen SPL, Reynolds AM, Bowers MG. The treatment of intrabony defects with bone grafts. *Periodontol* 2000, 22, 88-103.
94. Rosenberg E, Rose, LF. Biologic and Clinical Considerations for Autografts and Allografts in Periodontal Regeneration Therapy. *Advances in Periodontics, Part II. Dental Clinics of North America*, 42(3), 467-490, 1998.
95. Archer WH, Oral and Maxillofacial Surgery. II. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1975.
96. Cranin NA. Atlas of Oral Implantology. Thieme Medical Publishers, Inc., New York, 1993.
97. Palacci P. Esthetic implant dentistry soft and hard tissue management. Quintessence Publishing Co, Inc. Illinois. 2001.
98. Kneser U, Schaefer DJ, Polykandriotis E, Horch RE. Tissue engineering of bone: The reconstructive surgeon's point of view. *J. Cell Mol. Med.*, 2006; 10(1), 7-19.
99. Yoshikawa T, Ohgush H, Akahane M, Tamai S, Ichijima K. Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites: A comparison with the osteogenic ability of cancellous bone. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998; 41(4), 568-573.
100. 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.
101. Green SA. Skelatal defects: A comparison of bone grafting and bone transport for segmental skelatal defects. *Clin. Orthop.*, 1994; 301, 111-119.
102. Durmuş AS, Akpolat N, Ünsaldı E. Effect of dl-alpha-tocopherol acetate on the fracture healing of experimental radial diaphysis fracture in dogs. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2008; 22(3): 141-145.
103. Costantino PD, Friedman CD. Distraction osteogenesis: application for mandibular regrowth. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 1991; 24, 1433-1443.
104. Durmuş AS, Bulut S, Köm M, Çobanoğlu B. Köpeklerde femur ve tibia diyafizinin deneysel maddi kayıplı kırıklarında ulna distalinin segmental kortikal otogref olarak kullanımı. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2001; 7(1): 77-85.
105. Durmuş AS, Eröksüz H. Subkondral defektlerde otojen spongiyöz kemik grefti ve koral implant uygulamalarının karşılaştırılması: köpek diz eklemine deneysel çalışma. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 2008; 6(3): 72-77.
106. Ataoğlu T, Gürsel M. Periodontoloji. III. Baskı, Damla Ofset AŞ, Konya, 1999.
107. Tunalı B. Multi-Disipliner bir Yaklaşımla Oral İmplantolojiye Giriş. Nobel Kitabevi, İstanbul, 1996.

- 108.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 deprotienized bovine bone (Bio-Oss) and implant surface. *Acta Medica. (Hradec Kralove).*, 2002; 45(4), 167-71.
- 109.Tadjoedin ES, De Lange GL, Bronckers AL, Lyaruu DM, Burger EH. Deproteinized cancellous bovine bone (bio-oss) as bone substitute for sinus floor elevation. a retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J. Clin. Periodontol.*, 2003; 30(3), 261-270.
- 110.Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnel HT, Cochran DL. Clinical evaluation of Bio-Oss: A bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J. Clin. Periodontol.*, 1999; 26(7), 421-428.
- 111.Schwartz Z, Weesner T, Van Dijk S, et all. Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation. *J. Periodontol.*, 2000; 71(8), 1258-1269.
- 112.Özyiğit HA. Deneysel olarak oluşturulan defektlerde titanyum partikülleri ve değişik greft materyallerinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması. GATA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, Doktora Tezi, Ankara, 2007.
- 113.Begley, C.T.,Doherty, M.J., Mohan, R.A. and Wilson, D.J.(1995). Comparative Study of the Osteoinductive Properties of Bioceramic, Coral and Processed Bone Graft Substitutes.*Biomaterials.*, 16,(15),1181-1185.
- 114.Durmuş AS, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel maddi kayıplı femur kırıklarında koral ve spongiyöz otogref uygulamalarının karşılaştırması. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2001; 15(1): 101-112.
- 115.Durmuş AS, Ünsaldı E. Treatment of distal radioulnar synostosis and growth deformity in a dog. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2008; 22(5): 299-301.
- 116.Wilson EMK, Barbieri CH, Mazzer N. Bone healing stimulation by platelet-rich autogenous plasma. *Acta Ortop. Bras.*, 2006; 14(4), 208-212.
- 117.Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55: 1294.
- 118.Lozada JL, Caplanis N. Platelet-Rich Plasma Application In Sinus Graft Surgery: Part 1- Background And Processing Techniques. *J Oral Imp* 2001;1: 38-42.
- 119.Kim SG, Chung CH, Kim YK. Use of particulate dentinplaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17: 86-94.
- 120.Okuda K, Tai H, Tanabe K. Platelet-rich plasma combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of intrabony periodontal defects in humans: A comparative controlled clinical study. *J Periodontol* 2005;76: 890.
- 121.http://www.dermaneturk.com/yara_online /buyume_faktor.doc. Cığer S.Yara İyileşmesi ve BüyümeFaktörleri, 05.16.2013.
- 122.<http://www.sciencephoto.com/media /activtedplateletSEM.doc>. 06.16.2013.
- 123.Kobayashi M, Kawase T, Horimizu M, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use. *Biologicals*, 2012;40: 5, 323-329.
- 124.Lane JM, Sandhu HS. Current apporaches to experimental bone grafting. *Orthop. Clin. North Am.* 1987;18:213,225.
- 125.Dohan DM, Rasmusson L , Albrektsson. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) Trends in Biotechnology, Volume 27, Issue 3, March 2009, 158–167.
- 126.Schmitz JP, Hollinger JO. The Critical Size Defect as an Experimental Model for Craniomandibulofacial Nonunions, *Clin. Orthop.*, (205), 1986:299-308.

- 127.Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The Critical Size Defect as an Experimental Model to Test Bone Repair Materials, *J. Craniofac. Surg.*, 1990;1(1), 60-68.
- 128.Kleinschmidt JC, Hollinger JO. Animal Models in Bone Research in “ Bone Grafts & Bone Substitutes ”, (Mutaz HB, Reddi AH. ed.) Vol: 13, 133-146, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, Philadelphia, 1992.
- 129.White E, Shors EC. Biomaterial Aspects of Interpore-200 Porous Hydroxyapatite *Dent Clin N Amer* 1986;30: 49-67.
- 130.Ono I, Gunji H, Kaneko F, Saito T, Kuboki Y. Efficacy of Hydroxyapatite Ceramic As a Carrier For Recombinant Human Bone Morphogenic Protein. *J Craniofac Surg* 1995;6: 238-440.
- 131.Grenga TE, Zins JE, Bauer TW. The Rate of Vascularization of Coralline Hydroxyapatite. *Plast Reconst Surg* 1989;84: 245-490.
- 132.Bernard SL, Picha GJ. The Use of Coralline Hydroxyapatite in a Biocomposite Free Flap. *Plast Reconst Surg* 1991;87:96-105.
- 133.Marshall SG. The Combined Use of Endosseous Dental Implants and Collagen/Hydroxyapatite Augmentation Procedures for Reconstruction/Augmentation of the Edentulous and Atrophic Mandible: A Preliminary Report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;68: 517-543.
- 134.Mehlisch DR. Collagen/Hydroxyapatite Implant for Augmenting Deficient Alveolar Ridges: A 24-Month Clinical and Histologic Summary. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;68:505-516.
- 135.Miller TA, Ishida K, Kobayashi M, Wollman JS, Turk AE, Holmes RE. The Induction of Bone by an Osteogenic Protein and the Conduction of Bone by Porous Hydroxyapatite: A Laboratory Study in the Rabbit. *Plast Reconst Surg* 1991;87: 87-95.
- 136.Najjar TA, Lerdrit W, Parsons JR. Enhanced Osseointegration of Hydroxyapatite Implant Material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;71: 9-15.
- 137.Ono I, Ohura T, Murata M, Yamaguchi H, Ohnuma Y. A Study on Bone Induction in Hydroxyapatite Combined With Bone Morphogenic Protein. *Plast Reconst Surg* 1992;90: 870-879.
- 138.Ono I, Gunji H, Suda K, Kaneko F, Saito T, Kuboki Y. Bone Induction of Hydroxyapatite Combined With Bone Morphogenic Protein and Covered With Periosteum. *Plast Reconst Surg* 1995;95: 1265-1272.
- 139.Orsini G, Scarano A, Piattelli M, Piccirilli M, Caputi S, Piattelli A. Histologic and Ultrastructural Analysis of Regenerated Bone in Maxillary Sinus Augmentation Using a Porcine Bone-Derived Biomaterial. *J Periodontol* 2006;77: 1984-1990.
- 140.Barone A, Crespi R, Aldini NN, Giardino R, Covani U. Maxillary Sinus Augmentation: Histologic and Histomorphometric Analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20: 519-525.
- 141.Orsini G, Scarano A, Piattelli M, Piccirilli M, Caputi S, Piattelli A. Histologic and Ultrastructural Analysis of Regenerated Bone in Maxillary Sinus Augmentation Using a Porcine Bone-Derived Biomaterial. *J Periodontol* 2006;77(12):1984-1990.
- 142.Karadayı K. Maksillofasiyal Bölgedeki Kemik İçi Defektlerin Tedavisinde Plateletten Zengin Plazmanın Hidroksilapatit / Trikalsiyumfosfat Kemik Greft Materyali İle Birlikte Kullanılmasının Etkinliğinin Klinik Ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2010.
- 143.Carranza FA. Glickman’s Clinical Periodontology 7th edn W B Saunders Philadelphia 1990.
- 144.Chauhan V, Bansal S. Evaluation of Hydroxyapatite and Beta-Tricalcium Phosphate Mixed with Marrow Aspirate as a Bone Graft Substitute for Posterolateral Spinal Fusion. *IJO* 43: 3, 234-239

145. Anala T. Hydroxyapatite / Tricalciumphosphate Composites Tissue Engineering Applications: Scaffdex CO, 2008.
146. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A. 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.
147. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is Platelet-rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A Current Review. Int J Oral Maxillofac Implants 2003;18:93-103.
148. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod; 1998, 85: 638-646.
149. Kim SG, Chung CH, Kim YK. Use of particulate dentinplaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. Int J Oral Maxillofac Implants 2002;17:86-94.
150. Daculsi G, Legreos RZ, Nery E. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. J Biomed Mater Res. 1989;23:883-94.
151. Frassynet P, Trouillet JL, Rouquet N, Azimus E, Autefage A. Osseointegration of macroporous calcium phosphate ceramic having a different chemical composition. *Biomaterials* 1993; 14: 423-9.
152. Szucs A, Suba Z, Martonffy K, Hrabak K, Gyulai Coal S, Dori F. The value of beta tricalcium phosphate (Cerasorb) in preprosthetic surgery. *Fogoru Sz* 2000; 9: 45-52.
153. Dupoirieux L, Costes V, Jammet P, Souyris F. Experimental Study on Demineralized Bone Matrix (DBM) and Coral as Bone Graft Substitutes in Maxillofacial Surgery, Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 1994,23, 395-398.

8. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında K.Maraş / Göksun’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi K.Maraş’ta tamamladım. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinde başladığım lisans eğitimi 2004’te tamamladım. 2005 bahar döneminde Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı’nda başladığım doktora eğitimime devam etmekteyim, evliyim.