

90250

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

PERİOST ADA FLEBİNDE
ALLOPLASTİK MATERYALLER İLE OSTEOGENEZ

(Tavşan Modelinde Deneysel Bir Çalışma)

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Ufuk BİLKAY

İZMİR-1999

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

GİRİŞ.....1

MATERYAL VE METOD.....11

SONUÇLAR.....17

TARTIŞMA.....27

KAYNAKLAR.....32

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emekleri olan Anabilim dalı başkanımız Sayın hocam Prof. Dr. Arman Çağdaş'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Yalçın Akın'a ve Prof. Dr. Ecmel Songür'e, Ağabeylerim Doç. Dr. Tahir Gürler ve Yard. Doç. Dr. Mehmet Alper'e içtenlikle teşekkür eder ve şükranlarımı sunarım.

Beraber eğitim gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma, bu deneysel çalışmanın tamamlanmasında bana yardımcı olan Dr. Naci Çelik ve Dr. Özgür Erdem'e, bir dönem beraber çalıştığımız Op. Dr. Ruhi Çankayalı ve Op. Dr. Reha Gençosmanoğlu'na, Anabilimdalımız çalışanlarına ve ayrıca tüm eğitimim boyunca süre gelen desteklerinden ötürü aileme ve yine tezimin hazırlanışında bana vermiş olduğu destek, yardım ve göstermiş olduğu sabır için eşim Uzm. Dr. Ülkem Bilkay'a teşekkür ederim.

Dr. Ufuk Bilkay

GİRİŞ

Kemik oluşumunda özellikle epifizyel plakta bulunan hücreler rol oynamaktadır (1,2,3). 1901 yılında Marchand Osteoblastların pluripotent mezenkimal hücrelerden oluştuğunu bulmuş, fakat bu mekanizmanın tam olarak anlaşılması uzun zaman almıştır (4).

Kemik, fizyolojik bir mekanizma olan intramembranöz veya endokondral yol ile oluşmaktadır (4). Buna bağlı olarak kemikler membranöz ve endokondral olmak üzere ikiye ayrılırlar. Endokondral kemikleşme; kıkırdak bir model oluşumu ile başlar ve daha sonra kemik doku ile yer değiştirir. Kıkırdak matriks vasküler invazyonu takiben kalsifiye olur (5,6). Vasküler invazyon bölgeye diferansiye olmamış mezenkimal hücreleri taşır. Bu hücreler sonradan osteoblastlara dönüşerek osteoidleri meydana getirir, mineralize olan osteoidler kemik trabeküllerini, trabeküllerde organize olarak kompakt kemiği oluşturur. Membranöz kemikler ise kıkırdak prekürsörlere gerek duymaz, mezenkimal hücreler doğrudan osteoidi oluşturan osteoblastlara diferansiye olur, takiben osteoidler de mineralize kemiğe dönüşür. Tamir mekanizması da oluşumdaki ontolojik sırayı takip eder. Membranöz kemikte tamir direkt osteoblastlarla olurken, endokondral kemikte önce kartilaj model oluşur. İnsan iskeletinin uzun kemikleri, kaburga, vertebra ve kafa tabanı kemikleri endokondral yol, kafa tavanı, yüz iskeletinin çoğu ve klavikula membranöz yol ile oluşurken, mandibula, sfenoid, temporal ve oksipital kemiklerde ise heriki mekanizma da yer alır (3,7,8).

Kemik dokusu kortikal ve kansellöz olmak üzere iki yapısal tabakadan meydana gelir (9). Kortikal kemik yoğun, kompakt bir yapıdır, düz ve uzun kemiklerin yüzeyini oluşturur. Kansellöz yapı ise trabeküllerden, boşluklardan, spiküllerden meydana gelir ve damardan zengindir. Trabeküllerin yüzeyinde osteositler bulunur. Geniş trabeküllerde osteositler kortikal kemiğe benzer şekilde kemik lakünleri içinde yerleşmiştir. Kortikal kemiğin yapısal birimleri osteondur. Osteositler lakünlerin merkezinde lokalizedir, vasküler yapılar ise Haversian kanallarının içindedir (8,10)

Kemik dokusu organik ve inorganik komponentler içermektedir (11,12). Ağırlığının 2/3' ünü inorganik materyaller çoğunlukla da kalsiyum tuzları oluştururken, geri kalanı ise fibröz protein matrikten ibarettir (13). Kemik rezorpsiyonu multinükleer dev hücreler olan osteoklastlar tarafından

gerçekleştirilir, bu hücreler hemopoetik sistemdeki makrofaj benzeri hücrelerdir (8,14).

Tümör rezeksiyonları, travma, infeksiyon ve konjenital bozukluklar sonucunda ortaya çıkan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda karşılaşılan zor problemlerin çözümü için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (15). 1881' de Macewen çocuklarda humerus rekonstrüksiyonu için kemik grefti kullanmış ve bu konuda öncü olmuştur (1,2,16). Hayvan kemiklerinin insana transfer edilmesi ise yaklaşık 200 yıl önce Van Meekren tarafından gerçekleştirilmiş ve köpek radiusu insan kafatasına transfer edilmiştir (1,2,16).

Kemik transplantasyonundan sonra meydana gelen histolojik olaylar serisi, greftin kortikal veya kansellöz oluşuna, vaskülarite derecesine (nonvasküler greft, vasküler greft) ve alıcı sahanın özelliklerine göre değişir (1,2,3,7,14,17). Başlangıçta greft etrafında hematoma meydana gelir, nonvaskülarize greftler nekroza gider ve inflamatuvar reaksiyon başlar, greftteki osteositlerin büyük bir bölümü ölür. Sadece yüzeydekiler veya damarsal bağlantılarını yeniden oluşturma şansına sahip olan osteositler yaşayabilir (8). Daha sonra hematoma fibrovasküler stromaya organize olur ve alıcı sahadaki bağ dokusu kan damarlarını greft içine gönderir, bu damarlar potansiyel osteositlerin rezervuarıdır (18). Kortikal kemikte damarların greft içine ulaşması, önceden varolan Haversian ve Volkman kanalları aracılığı ile gerçekleşir. Bu faz boyunca greft osteoklastlar tarafından penetre edilir. Bunun sonucunda poröz yapı ve kemik rezorpsiyonu artar, böylece greftin kitle özelliği, ağırlığa dayanıklılığı azalmış olur (3,9,19,20,21). Osteositler grefti penetre etme yeteneğine sahip hücreler olduğundan bu aşamadan sonra yeni kemik oluşmaya, dayanıklılığı ve dansitesi artmaya başlar (19,22). Kortikal greftlerin inkorporasyonu kısmen yeni kemik oluşumu kısmen de inkomplet rezorbe olmuş nekrotik kemiğin katılımı ile olmaktadır.

Kortikal ve kansellöz kemik inkorporasyonu arasında belirgin farklar vardır (16,20,23). Kansellöz greftlerin açık yapılarından dolayı, hem alıcı yataktan uç-uca anastomozlar, hemde inflamatuvar dokudan kaynaklanan vasküler tomurcuklar yoluyla daha hızlı ve tamamen revaskülarize olduklarına inanılır (9,16,20). Greft içine invaze olan vasküler dokuda osteojenik prekürsör hücrelerden gelişen osteositler yeni kemik üretmeye başlar ve greftin dansitesi giderek artar. Daha sonra osteoklastlar ortaya çıkar ve nekrotik

kemik bölümlerini rezorbe ederek kemik dansitesini azaltıp normale getirirler (16,20).

Burchard'a göre kortikal ve kansellöz greft tamirindeki en belirgin fark greftin neovaskülarizasyonundadır (16,20). Damarlar kortikal greftlere ilk defa 6. günde girer, tamamlanması 2. aya kadar uzayabilir. Haversian ve Volkman kanalları boyunca osteoklastik rezorpsiyona bağlı olarak değişiklik gösterir. Kansellöz greftlerde ise vaskülarizasyon 2-3. günde tamamlanabilmektedir. Kortikal greftlerde tamirin appositional fazı greftlemeden 2-3 ay sonra başlarken, kansellöz greftlerde çok daha erken görülmektedir.

Axhausen; vasküler dokunun grefti invaze ederek yeni kemik oluşturacak osteoblastları bölgeye getirmesi olayına " creeping substitution " demiştir (20). Kaybolan kemiğin yeniden oluşması üç değişik biyolojik olayın biri veya kombinasyonu ile gerçekleşmektedir (24). Bunlar osteogenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyondur. Greftteki yaşayan osteokompetant hücrelerin (osteosit) yeni kemik oluşturması osteogenez, önceden varolan osteokompetant hücrelerden orijin alan kemik yapıcı hücrelerin biyolojik veya alloplastik bir iskeletin üç boyutlu yapısı boyunca yeni kemik oluşturmaya ise osteokondüksiyon denir (25). Osteoindüksiyon ise rezorbsiyon sonrasında demineralize olmuş veya invitro olarak önceden demineralize edilmiş kalsifiye doku matriksinde indüktif proteinlerin etkisi ile stimüle ve diferansiye olan fibroblast benzeri mezenkimal hücrelerin rehberliğinde yeni kemik oluşumudur. Osteoindüksiyonda Bone morfojenetik protein (BMP) gibi aktif faktörler greft komponentlerinden, büyük olasılıkla da matriksten salgılanır ve alıcı yatakta sensitif hücreleri stimüle ederler. Stimüle olmuş hücreler grefti invaze ederek osteojenik aktivitenin başlamasını sağlarlar (2,8,22,26-34). Oudet, Stutzman ve Petroviç'e göre osteoindüksiyon skeletoblast ve skeletoblastlardan türeyen hücreleri etkiler, gerçek fibroblastları etkilemez (35). Osteojenik indüksiyon ilk olarak 1938 de Levander tarafından formüle edilmiş ve daha sonra Urist tarafından geniş olarak incelenmiştir (36). Bu morfojenik olayın mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber önemli komponentleri; çözünmeyen non-kollajen bir yapı olan Bone morfojenetik protein, BMP-ase isimli proteolitik bir enzim ve hidrofobik bir glikopeptidtir. Wolff kanunlarına göre; kortikal ve kansellöz greftlerin dayanıklılığı zamanla değişmektedir. Kansellöz greftlerde erken dönemde kemik oluşumu başlar ve

greftin dayanıklılığı rölatif olarak sabit kalır veya hafifçe artar (3,7,8,16). Kortikal greftler ise başlangıçta osteoklastik rezorpsiyona uğradıkları için başlangıçtaki dayanıklılığın yarısına düşer (3,7,8,16), ve nekrotik kemiğin resorpsiyonu inkomplet olduğu için greft sonuçta canlı ve ölü kemik karışımlarından oluşur.

Smith ve Abramson yaptıkları tavşan deneylerinde, endokondral kemik greftlerinin hacim olarak sadece %25 oranında korunduğunu, membranöz kemiklerin ise hacimlerini koruduğunu veya arttırdığını saptamışlardır (37). Böylece donör kaynağının greft yaşamında önemli bir faktör olduğunu ve kafatasının yük taşımayan kemiklerinin, yük taşınmayan bölgelerde yaşama oranının daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır. Daha sonra Zins ve Whiteaker tavşan ve maymun deneylerinde membranöz greftlerin %20 oranında, endokondral greftlerin ise %50-80 oranında kaybolduğunu bulmuşlardır (38,39).

Vaskülerize kemik greftlerinin nonvaskülerize kemik greftlerinden farkı başlangıçta nekroza gitmemeleri ve revaskülarizasyona ihtiyaç duymamalarıdır, böylece greft elementlerinin çoğu canlı kalır (23). İlk deneysel vaskülerize kemik grefti çalışması 1974 te Östrup ve Frederickson tarafından yapılmış ve insanda ilk vaskülerize fibula transferi Taylor tarafından 1975 yılında gerçekleştirilmiştir (40,41). Vaskülerize kemiğin nonvaskülerize grefte göre osteojenik kapasitesi daha fazladır.

Rekonstrüksiyonda kullanılabilecek en ideal materyaller, vaskülerize veya nonvaskülerize otojen kemik greftleridir. Fakat kullanılabilecek donör sahaların azlığı (mandibula rekonstrüksiyonunda klinik olarak sadece; fibula, iliak kemik, skapula ve kostalar kullanılabilmektedir), donör saha morbiditesi (fibula greftinde fleksör hallucis longus adezyonuna bağlı ayak 1. parmağında çekiç parmak, çocukta fibula şaft rezeksiyonundan sonra ise pes valgus deformiteleri görülebilir), resorpsiyona bağlı kemik instabilitesi ve kemiğin şekillendirilmesindeki güçlükler gibi dezavantajları vardır. Ayrıca büyük defektlerin rekonstrüksiyonu için büyük greft alınması zorunluluğu ve aşamalı rekonstrüksiyonlar donör saha morbiditesini de arttırmaktadır. Bu nedenlerden dolayı otogreft alternatif materyaller olarak bilinen xenogreftler, allogreftler ve inorganik nonbiyolojik maddeler yaygın olarak kullanılmaktadır (25). Bu

materyaller, sınırsız greft kaynağı sağlar, donör saha morbiditesi yaratmaz ve operasyon zamanını kısaltırlar.

Xenogreftler; türler arasında transfer edilir, greftin yaşaması ve kemik üretimi zordur, büyük olasılıkla sekestrasyona uğrarlar, kullanımı terkedilmiştir (3,7,8,16,25). Allogreftler; aynı tür içinde genetik olarak farklı bireyler arasında yapılan transferdir, uzun zamandan beri hazır kemik materyali olarak kullanılmaktadırlar. Dondurulmuş kemik, liyofilize kemik, deproteinize kemik, demineralize kemik, antijeni azaltılmış otolize allojenik kemik (AAA) örnek olarak verilebilir. Allogreftlerde greft inkorporasyonunu zorlaştıran faktör, donör ile alıcı arasındaki genetik uyumsuzluktur. Teorik olarak uyumsuzluk ne kadar fazla ise alıcı doku cevabı o kadar fazla olur ve greft yaşamı o derece zorlaşır (4). Xenogreftler ve allogreftler osteoindüksiyon mekanizması ile yeni kemik oluştururlar.

Periosteum kemiklerin üzerini örten özelleşmiş konnektif dokudur. İki tabakadan meydana gelir; yüzeyde fibrovasküler yapı bunun altında da osteojenik olarak aktif olan Kambyum tabakası vardır (42). Periost greftlerinden kemik üretilmesi fikri çok eskilere dayanmaktadır. Vaskülerize kemik greftleri ile karşılaştırıldığında donör morbiditesi minimaldir, ayrıca periostun şekli alıcı sahaya göre daha iyi ayarlanabilir (43).

Periostun osteojenik özelliği ile ilgili çalışmalar 1742 de Duhamel tarafından başlatılmıştır (42,44). Bu araştırmacı uzun kemiklerde periost altına gümüş tel yerleştirmiş ve telin yeni kemik oluşumu ile kaplandığını gözlemiştir. 1860 yılında Ollier hayvan ve insanlarda yaptığı çalışmalarda periosteumun kemik oluşturma kapasitesi olduğunu bildirmiştir (42,45). Bu öncü çalışmaların ardından yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar çok çelişkilidir. 1908 de Axhausen otogreftlerde transplante kemiğin periostunun yüksek osteojenik kapasiteye sahip olduğunu ileri sürdü (42,46,47). 1912 de Macewan'ın "The Growth of Bone" adlı yayını bu konuda bazı şüpheler uyandırdı (47). Ardından 1913 de Brown-Brown köpeklerde derialtına ve kas içine implante ettikleri serbest periosteum greftlerinde kemik üretmeyi başaramadılar (48,49). 1914 te Cohn ve Mann'ın sonuçları da olumsuz idi (47,50). Aynı sene içinde Mc Williams ve Mayer-Wehner isimli araştırmacılar transplante edilen periost greftlerinin yaşayan kemik geliştirebileceğini söylemişlerdi (49). Fakat 1915 te Davis ve Hannicut'ın köpek ve tavşan deneylerinde oluşturdukları serbest ve

pediküllü periost transplantlarının çoğunda başarı sağlanamamıştı (47,51). 1917 yılında Groves, Macewen ile Ollier'in sonuçlarını karşılaştırmış ve periostun genç hayvanlarda, ancak keskin disseksiyon ile eleve edildiğinde ve kambiyum tabakası korunduğu zaman osteojenik özelliğe sahip olabileceği sonucuna varmıştır (47,52). 1920 lerde Klinkerfuss ve Rhode ise kallus periostunun solid kemik transplantından daha fazla osteojenik olduğunu iddia etmişlerdi (49,53,54). Oysa 1928 de Leriche ve Policard pediküllü periost striplerini kas etrafına sararak yaptıkları deneyde Ollier'in teorisinin yanlış olduğu sonucuna vardılar (47). Fell 1932 de embriyodan ilk periost kültürlerini oluşturarak bu kültürlerde invitro kemikleşmenin mümkün olduğunu gösterdi, fakat osteojenik kapasitenin yaş ile azaldığı sonucuna vardı (42,49,55). Bu sonuç 1938 de Lavender tarafından doğrulandı. Lavender 3 aylık ve daha genç tavşanlarda osteogenezin oluştuğunu erişkin hayvanlarda ise kambiyum tabakasında meydana gelen değişikliklere bağlı olarak azaldığını belirtti (42,56).

Ollier, Macewen, Davis-Hunnicut veya Leriche-Policard adındaki yazarlardan hiçbiri periost fleplerinde yeterli vasküler pedikülün korunmasına dikkat etmemişlerdi (47). 20. Yüzyılın ilk yarısında bildirilen bu uyumsuz sonuçlardan sonra, 1955 yılında ilk defa Trueta ve Cavadias periostun osteojenik kapasitesi ile periost dolaşımı arasındaki ilişkiye dikkat çekmişler ve yeni periosteal damarların proliferasyonunu, subperiosteal bölgede yeni kemik oluşumunun takip ettiğini gözlemişlerdir (57). Aynı yıl içinde Cohen ve Lacroix periostun kemik oluşturma yeteneğinin yaşa ve alıcı sahanın özelliklerine bağlı olarak değiştiğine dikkat çekmişlerdir (58).

1965 te periost flepleri ilk defa klinik kullanıma girmiştir. Skoog maksillanın palatal yüzünden kaldırdığı periostu yarık damakta kemik defektini kapatmak için kullanmıştır (49,59). Daha sonra Owen yaşla beraber osteojenik kambium tabakasının azaldığını tespit etmiş ve yaş ile beraber kemik oluşturma yeteneğinin azalmasını buna bağlamıştır (42,60).

Ritsila (1972) periost greftinde osteoid formasyonunun 2. haftada başladığını, 3. haftadan sonra da hızla kemik dokuya dönüştüğünü gösterdi. Bu deneyden çıkan diğer önemli sonuçlar ise; tibia periostunun kalvarium periostundan daha osteojenik olduğu ve periost greftinin kas içine implante edildiğinde subkutan ve subfasial lokalizasyondan daha fazla kemik oluşturduğu şeklinde

idi (49). King (1976) Köpek tibiasında oluşturduğu iyi vaskülarize tüp şeklindeki periost flebi modelinde, periostun canlı kalabildiği sürece osteojenik özelliğini koruduğunu görmüştür (47). Finley ve arkadaşlarının (1978) çalışması ilk revaskülarize periost grefti olması nedeniyle tarihsel bir önem taşımaktadır (61). Bu deneyde; köpeklerde vaskülarize kosta periostu mikrocerrahi yöntem ile tibiada oluşturulan kemik defektine taşınmış ve yeni kemik oluşumu ile defekt tamamen kapatılmıştır. Serbest periost grefti ile rekonstrükte edilen grupta ise kemik oluşumu gözlenmemiştir. Pucket (1979) çalışmasında fibula defektini revaskülarize kostal periost ile tamir etmek istemiş, kemik oluşumu gözlenmesine rağmen sonuçlar tatmin edici olmamıştır. Bunun üzerine osteojenik kapasitenin korunabilmesi için periostun tibia gibi ağırlık taşıyan bir bölgeye transfer edilmesi gerektiği sonucuna varmıştır, ağırlık taşıyan alıcı sahanın önemi Finley, Acland ve Wood'un çalışmalarında da vurgulanmıştır (62). Satoh (1983) geniş yumuşak doku kaybı ile beraber olan tibia fraktürünün tedavisinde vaskülarize iliak muskuloperiosteal flebini kullanmış ve flep transferinden 6 hafta sonra lineer kallus oluşumu gözlemiştir (63). Wildenberg (1984) kostal ve tibial periost donör sahalarını karşılaştırmış, tibia periostunun kosta periostuna göre daha aktif olduğunu bulmuştur (64). Periostun kemik üretebilmesi için canlı kemik dokusu ile direkt temasta olmasının önemi de Canalis tarafından belirtilmiştir (42). Daha önce vaskülarize kosta periostu ile yapılan çalışmalarda iyi sonuçlar bildirilmemesine rağmen, 1988 de Takato ve Harii iyi vasküler pediküle sahip muskuloperiosteal kosta grefti ile ideal koşullarda, 2 hafta gibi erken bir dönemde mükemmel kemik oluşumu saptamıştır (65). Bu erken dönemdeki kemik rejenerasyonundan kondral kemikleşme sorumludur ve histolojik bulgular uzun kemiklerde aktif osteogenezin olduğu epifiz hattındaki bulgulara benzemektedir. Bu sonuçlardan sonra Takato periost osteogenezinde mekanik stresin şart olmadığını, bunun osteogenezden çok remodelasyon fazına etki yaptığını söylemiştir (65).

Romana ve arkadaşları ise, ilk defa vaskülarize periostu kansellöz kemik greftine sararak kompozit bir flep oluşturmuşlar ve tek başına vaskülarize periosttan daha iyi kemik oluşumu sağlamışlardır (15). 1996 yılında Ishida periostun osteojenik kapasitesini biyokimyasal yöntem ile kantitatif olarak göstermiştir (43).

Kemik greftlerinin bilinen dezavantajlarını ortadan kaldırmak için kemik dokusu yerine geçebilecek; resin akrilik, silikon, proplast, hidroksiapatit, yüksek dansiteli polietilen (Medpor), proplast ve kemik kollojeni gibi yapay materyaller, tek başlarına veya periostla beraber, onlay veya interpozisyonel greft olarak kullanılmaktadır. Resin, akrilik, silikon otojen kemiklerle eşit dayanıklılık ve güvenilirliğe sahip değildir (66). Kemik dokusunun yerine kullanılacak materyaller şu özelliklere sahip olmalıdır (66,67,68,69).

A) Kimyasal olarak stabil olmalı, mümkün olduğunca resorpsiyona ve transformasyona uğramamalıdır.

B) Yeterli dayanıklılığa ve hafifliğe sahip olmalıdır.

C) Kolay şekil verilebilmeli ve operasyon sırasında şekli rahatlıkla değiştirilebilmelidir.

D) Çevre dokuya karşı yüksek afiniteye sahip olmalı, yabancı cisim reaksiyonu göstermemeli ve doku ile uyum içinde olmalıdır (Biyokompatibilite).

E) İdeal por büyüklüğüne, uniform por dağılımına sahip olmalı ve porlar birbiri ile tam olarak bağlantılı olmalıdır.

F) Osteokondüksiyon veya osteoindüksiyona katkıda bulunmalıdır

G) Sterilize edilebilmelidirler.

H) Düşük komplikasyon riskine sahip olmalıdır.

Hidroksiapatit; en çok kullanılan kalsiyum fosfat biyomateryalidir (67,68,70,71,72,73,74,75,76). Doku uyumu yüksek (Biokompatible), kemiğin mineral içeriği ile benzer kompozisyonda olan bir maddedir (77). Belirgin resorpsiyona gitmeden, ciddi yabancı cisim reaksiyonu ve infeksiyon yapmadan alıcı kemik ile kolayca bütünleşebilir (78). İki ana hammaddeden üretilmektedir. Mercandan (coralline) üretilen koralline, kireç taşından (limestone) üretilen seramik formlarıdır (67,68,72,73,76). Poröz ve dens yapıda olan tipleri vardır. Çalışmalar por yapısının, lamellar kemikte olduğu gibi birbirleri ile bağlantılı, fibrovasküler doku invazyonuna izin verecek şekilde olduğunu göstermiştir (74,79). Silikon gibi nonporöz materyallerde oluşan kapsül formasyonu görülmez (80). Aslında implant kolayca kırılabilir bir yapıda olmasına rağmen önce fibrovasküler konnektif dokunun, daha sonra da kemik dokunun invazyonu ile hızla dayanıklılık kazanır, stabilitesi artar, mikroharekete ve infeksiyona karşı direnç sağlanmış olur (67,72,74). Yapılan

alışmalar fibrovasküler invazyonun 2. hafta, kemik invazyonunun ise 6. haftaya doğru olduğunu göstermiştir (81). Korallin hidroksiapatiti hayvanlarda ilk defa deneyen araştırmacı Chiroff ' tur (69). Hidroksiapatitin köpek femur ve tibiası ile bütünleştiğini (inkorporasyon) göstermiştir. Yine köpeklerde radius, femur, tibia ve mandibula defektlerinin tamirinde (82,83), alveoler atrofide (84) ve maksilofasiyal cerrahide (72) kullanılmıştır. Klinikte ise; periodontal defektlerin greftlenmesinde (85), posttravmatik uzun kemik defekterinin rekonstrüksiyonunda (67), alveoler hipoplazide (86) ve son zamanlarda orthognatik cerrahide kullanılmaktadır (87).

Medpor medikal grade yüksek dansiteli polietilenden yapılan poröz yapıya sahip inert bir materyaldir (88,89,90) ve 1940 lı yıllardan beri implant materyali olarak kullanılmaktadır. Por yapısının deformasyona karşı yeterince dirençli olması implant içine damar ve doku invazyonuna izin veren önemli bir özelliktir (89). Bu yüksek dansiteli poröz polietilen madde ile yapılan çok sayıda hayvan deneyinde implant ile memeli dokuları arasındaki etkileşim iyi bir şekilde gösterilmiştir (91,92,93). şekillendirilmesi hidroksiapatit gibi tamamen rijid materyallere göre rölatif olarak kolaydır. Kaynama noktasındaki serum fizyolojik solüsyonu içinde istenilen yumuşaklığa gelir, böylece istenilen şekil pore bütünlüğü bozulmadan kolayca verilebilir, tekrar soğutulunca daha az elastik bir yapıya döner ve bistüri yardımıyla son şekli verilebilir, istenirse içine antibiyotikli solüsyon emdirilebilir. Seramik yapıdaki materyallerden daha elastik, kimyasal olarak poröz metallerden daha dirençlidir. Otoklavda sterilizasyonu mümkün olmakla beraber termoplastik deformasyonu 110 C de başladığından Gama ışını veya gaz sterilizasyonu önerilmektedir (94).

Medpor içine hızlı vaskülarizasyon ve doku invazyonu önceki çalışmalarla gösterilmiştir (88,91,93,95). 14 mm çapındaki küresel bir implant 6 hf lık bir sürede tamamen vaskülarize olabilir (88), implant içine kemik doku invazyonu, başlangıçta osteoprogenitör mezankimin infiltrasyonu şeklinde olmakta, daha sonra dereceli olarak kemik dokuya yer değiştirmektedir. Kemik invazyonu 2. hf da başlamakta 5-6. hf larda tamamlanmaktadır (92,96)

Medpor kırıktağ yapılar için artifiyel materyal olarak kullanılabilir (97). Kulak deformitelerinin rekonstrüksiyonunda ve yanığa bağlı yüzde şekil bozukluklarının tedavisinde başarılı sonuçlar bildirilmiştir (90,95). Ayrıca maksillofasiyal travmalı hastalarda, orbital rekonstrüksiyonda ve onlay greft

olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (88). Maksiller sinüse ekspozite bir şekilde yerleştirilirse total mukozalizasyonu 2-3 hafta da tamamlanır (88).

Fraktürlerdeki ve kemik defektlerindeki osteogenez çeşitli osteokondüktif matriksler gibi kollajen tarafından da stimüle edilmektedir (98). Kollajen protezlerinin hazırlanmasında glutaraldehit ile çapraz bağlanma yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir, böylece implantın biyouyumluluk özelliği artmakta ve klinik olarak immünojenik özellikleri kaybolmaktadır (99). Bu şekilde hazırlanmış kollajen greftlerin kafatası defektlerinin iyileşmesini aktive ettiği bilinmektedir (100). Tip -1 kollajen matriks, kemik iliği stroma hücrelerinin osteoblastlara diferansiye olmasını sağlar ve bu dönüşüm TGF- β nın varlığında daha hızlı olmaktadır, bununla birlikte Tip 2,3,5 kollajen matrikslerde ise osteojenik özellik saptanmamıştır (101).

Daha önce yapılan çalışmalarda hidroksiapatit, yüksek dansiteli poröz polietilen (Medpor) ve kollajen matriks implantların yeni kemik oluşumuna katkıları çeşitli araştırmacılar tarafından değişik modellerde araştırılmıştır. Literatürde şimdiye kadar bu implantların osteokondüktif özelliklerini birbirleri ile aynı model üzerinde kantitatif veya kalitatif olarak karşılaştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sunulan çalışmanın amaçları; tavşanlarda tibia periostu kullanarak safen arter pedikülü üzerinde periost ada flebi oluşturmak. Hidroksiapatit, medpor ve kemik kollajen matriks (Osteovit) implantlarını oluşturulan periost ada flebine sararak otojen kemik greftlerinin yerine geçebilecek kompozit modeller oluşturmak ve bu modellerin yeni kemik oluşturma yeteneklerini birbirleriyle karşılaştırmaktır.

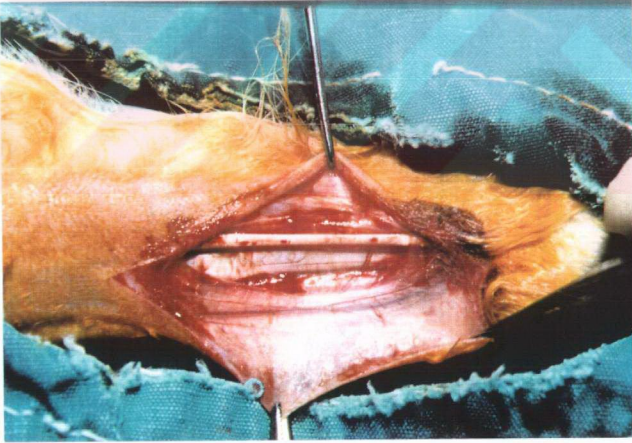
MATERYAL ve METOD

Bu deneysel çalışmada ağırlıkları 2100 gram ile 2300 gram arasında değişen (ortalama 2200 gram) 88 adet genç-erişkin, beyaz, erkek tavşan kullanıldı. Uygulanan yöntemle göre denekler 4 gruba ayrıldı. Cerrahi müdahaleden önce deneklere profilaktik olarak IM 250 mg/kg sulperazon ve postoperatif dönemde analjezi sağlanması için IM analjezik enjeksiyonu yapıldı.

Cerrahi yöntem:

Tavşanlara 50 mg/kg ketamine ile anestezi uygulandıktan sonra, tüm gruplarda cruris medial bölgesi patelladan ayak bileğine kadar traşlanarak tüyden arındırıldı. Operasyon sahası batticon solüsyonu ile temizlenerek tüm disseksiyonlar steril sahada ve 4X büyütme cerrahi loop ile gerçekleştirildi.

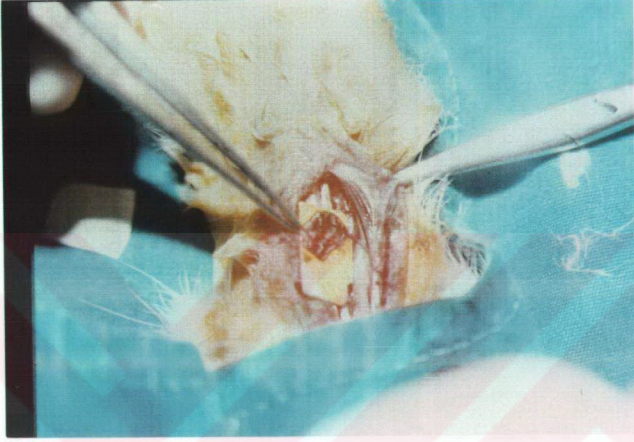
Tibial periost ada flebinin hazırlanışı: Tavşanlarda tibia ve tibiayı örten periost anterior tibial arter, descendan genicular arter ve safen arterler tarafından beslenmektedir (65). Bu çalışmada disseksiyonu diğer ikisine göre daha kolay olan ve tibianın daha fazla alt 1/3 ünü besleyen safen arter-ven tibial periost ada flebinin pedikülü olarak seçildi.



Resim 1. Safen arterden ayrılan periosteal pedikül

Tibianın medialinde yaklaşık 4 cm lik vertikal insizyonla girişime başlandı. Keskin ve künt disseksiyon ile katlar geçilerek saphenous arter-ven pedikülüne ulaşıldı ve inferiora doğru takip edilerek saphenous arterden tibia periostuna giden dal bulunarak fazla iskeletize etmeden, çevre yumuşak

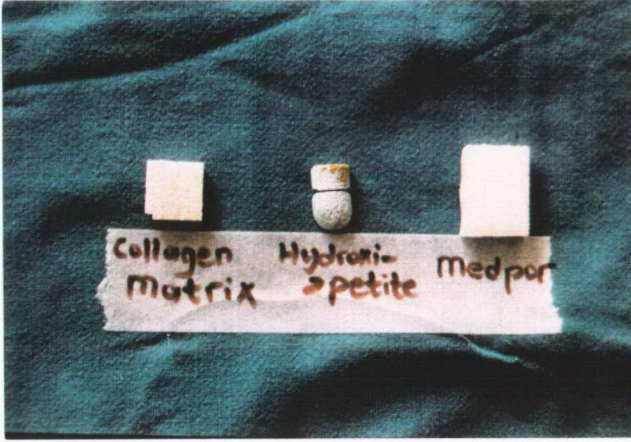
dokularından serbestleştirildi. Cruris medialindeki tendonlar ekarte edilerek periosta ulaşıldı. Periosteal elevator (Howarth) yardımı ile 25x15 mm boyutlarında periost eleve edilerek damarsal pedikülü üzerinde tibial periosteal ada flebi hazırlandı. Flebin disseksiyonu sırasında flebe kemik doku dahil edilmemesine dikkat edildi.



Resim 2. Vasküler pedikülü üzerinde flebin hazırlanmış hali

Grup 1: 20 adet tavşanın her iki arka ekstremitesinde 40 adet tibial periosteal ada flebi tarif edildiği gibi hazırlandıktan sonra 9/0 nylon suture ile kambiyum tabakası içine gelecek şekilde suture edilerek torba haline getirildi. Daha sonra, curiris medialinde subfasial planda oluşturulan cebe 8/0 nylon suture ile sabitlenerek cerrahi yara 4/0 kromik katgut ve 5/0 ipek ile iki tabaka halinde suture edilip kapatıldı.

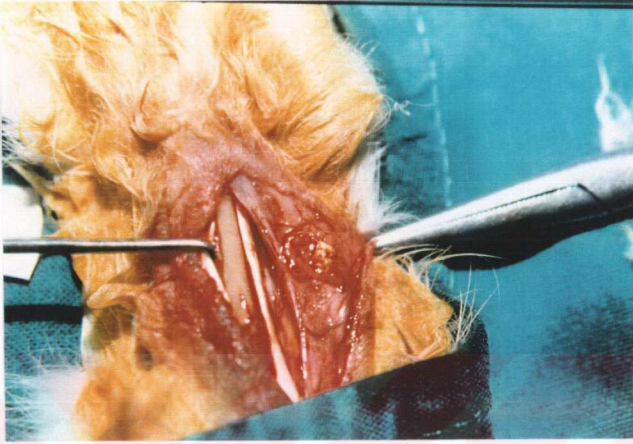
Grup 2: 20 adet tavşanda 40 adet tibial periosteal ada flebi grup 1 de olduğu gibi hazırlandı. Kenar uzunluğu 4mm olan küp şeklindeki Coralline hydroxyapatite seramik (por çapı 190-230 µm, ortalama por volümü %50-60; Interpore International Irvine, California USA) periost flebinin içine sarılarak 9/0 nylon ile torba haline getirildi ve curiris medialinde subfasial planda oluşturulan cebe 8/0 nylon suture ile tesbit edilerek prefabrike edildi. Cerrahi yara iki tabaka halinde kapatıldı.



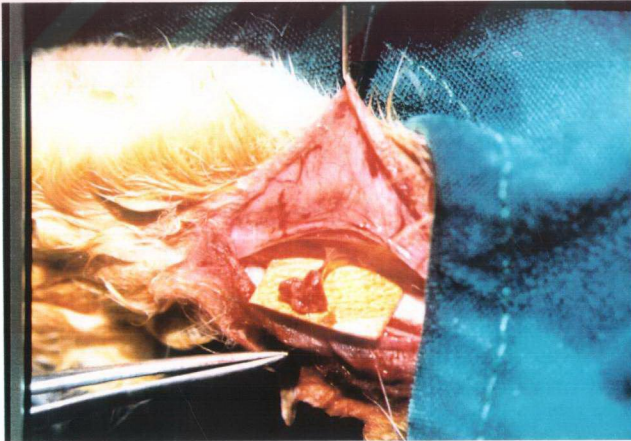
Resim 3. Kullanılan alloplastik materyaller

Grup 3: 20 adet tavşanda oluşturulan 40 adet tibial periosteal ada flebinin içine 4 mm kenar uzunluğuna sahip küp şeklinde yüksek dansiteli Poröz polyethylene (Medpor) (Por çapı 160-368µm, Porex Surgical, Ga USA) sarılarak 9/0 nylon ile suture edildikten sonra, yine curiris medialinde subfasial planda oluşturulan cebe, 8/0 nylon suture ile tesbit edilerek prefabrike edildi. Cerrahi yara iki tabaka halinde kapatıldı.

Grup 4: 20 adet tavşanda oluşturulan 40 adet tibial periosteal ada flebinin içine diğer gruplarda kullanılan maddelerle aynı büyüklükte küp şeklinde kemik kollajeni (Osteovit) sarılarak 9/0 nylon ile suture edildikten sonra, yine curiris medialinde subfasial planda oluşturulan cebe, 8/0 nylon suture ile tesbit edilerek prefabrike edildi. Cerrahi yara iki tabaka halinde kapatıldı.



Resim 4. Alloplastik madde ile birlikte prefabrike edilmeye hazır flep



Resim 5. Torba şeklinde prefabrike edilmiş pericard ada flebi

Makroskopik değerlendirme:

Biyopsi aşamasında deneklere tekrar, IM 50 mg/kg ketamine anestezisi uygulandı. 4X büyütmeli cerrahi loop ile yapılan disseksiyon ile safen arterden tibia periostuna giden vasküler pedikül bulundu. Pedikül distalde flebe girdiği yere yakın bir bölümünden insize edilip ayrıldı ve kanamanın loop altında direkt olarak görülmesi ile patens kontrolu yapıldı. Dört farklı grupta oluşturulan periosteal ada flepleri (sadece periost, periost+hydroxyapatite, periost+medpor, periost+osteovit), aynı seansta denekler sakrife edilmeden biopsi şeklinde alındı.

Biyokimyasal yöntem:

Bu kompozit flep örneklerinde osteogenez; Radioimmunoassay yöntemi ile osteokalsin (bone gla protein) ve ELISA yöntemi ile alkalen fosfataz bakılarak kantitatif olarak araştırıldı.

Osteokalsin (bone gla protein) kemikteki düşük molekül ağırlıklı 49 aminoasitten oluşmuş, nonkollajen bir protein olup (43,102), γ -Carboxylglutamic acid ve K vitaminine bağlı aminoasit içermektedir. 1975 yılında Hauschka tarafından tavuk kemik dokusundan (43,103), 1976 yılında ise Price tarafından inek ve dana kemik dokusundan izole edilmiştir (43,104). Fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber yapılan çalışmalar başlıca osteoblastlardan sentezlendiğini göstermiştir ve kemiğe spesifik marker olarak kullanılmaktadır (43). Price ve arkadaşları metabolik kemik hastalıklarının tetkikinde kullanılmak üzere serum osteokalsin düzeyini ölçen radioimmunoassay (RIA) yöntemini geliştirmişlerdir (104).

Bu yöntem ile osteokalsin bakabilmek için elde edilen tüm dokular E. Mettler marka hassas terazide tartıldı. Her grupta 20 adet flepte osteokalsin düzeyi araştırıldı. Dokular, 50 kat 1 mM $MgCl_2$ tampon ilave edilip buz içinde 3 dk süre ile "Crushing dispersing" T-25 Ultraturnax homojenizatör kullanılarak 13000 devirde homojenize edildi. Homojenatlar 13000 devirde, +4  C de, 15 dk süre ile santrifüj edildikten sonra üstte kalan sıvı dökülerek alttaki c keltiden RIA yöntemi ile osteokalsin (bone gla protein)  alışıldı. Sonuçlar ng/gr-doku olarak hesaplandı.

Alkalen fosfataz hücre membranına sıkıca bağlanan bir enzimdir ve Osteoblastik aktivite indikatörü olarak kullanılır (43)

Yine her grupta 20 adet flepte alkalen fosfataz seviyesine bakıldı. Dokular 50 kat 1 mM $MgCl_2$ tampon ilave edilerek, buz içerisinde " POTTER-S B. Braun Biotech international " homojenizatör ile 1500 devirde 10 dakika homojenize edildi. Homojenatlar 13000 devirde, +4 °C de, 15 dk süre ile santrifüj edilerek süpernatantı ayrıldı. Bu süpernatanttan ELISA yöntemi ile kemik alkalen fosfatazı çalışıldı. Ayrıca homojenattan Lowry yöntemi ile protein tayini de yapılarak sonuçlar gram dokudaki protein başına ünite (Ü/protein/gr-doku) olarak hesaplandı.

Sonuçlar istatistik olarak tek yönlü Varyans analizi ve Duncan testleri kullanılarak değerlendirildi ve $p<0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

Histolojik değerlendirme:

Her gruptan 2 denekte 4 adet flep histolojik inceleme için kullanıldı. Biyopsiler 2. ve 8. haftalarda alınarak %10 formalin ile muamele edildikten sonra %7 nitrik asit ile dekalsifiye edilerek hematosilen-eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Örneklerin değerlendirilmesi şu kriterlere göre yapıldı.

0: kemik formasyonu yok

1: hafif derecede yeni kemik oluşumu

2: orta derecede yeni kemik oluşumu

3: mükemmel kemik oluşumu

Radyolojik değerlendirme:

Her gruptan 3 denekte 6 adet flepte, biyopsiler alınmadan önce 2 ve 8. haftalarda Senographe 600T (92137 ISSY, Les Moulineaux- France) cihazı kullanılarak mammografik inceleme yapıldı. Ve yeni kemik formasyonunun oluşup oluşmadığı araştırıldı. Sonuçlar şu şekilde değerlendirildi.

0: Radyopak materyal görülmedi.

1: Az miktarda radyopak madde görüldü

2: Yeteri kadar homojen radyopak madde görüldü.

SONUÇLAR

Çalışmanın değişik aşamalarında 3 adet tavşanda görülen yara yeri infeksiyonu topikal olarak kullanılan antibakteriyel pomad (Bactroban) ile tedavi edildi. Çalışma sırasında ölen denek olmadı. Biyopsiler alınmadan önce anestezi altında yapılan makroskopik değerlendirmede, X4 cerrahi loop altında, pedikülün flebe giriş yerinden yapılan izsiziyondan sonra tüm deneklerde proksimalden aktif, pulsatil kanama görüldü. Böylece vasküler pediküllerin patensinin devam ettiği tespit edildi.

Histolojik incelemede; 2. haftada tüm gruplarda değişik derecelerde yeni kemik oluşumu gözlemlendi. Sadece vaskülarize tibia periostundan oluşan grup 1 de ve vaskülarize periost + kollajen matriksten oluşan grup 4. te bu erken dönemde ancak az miktarda yeni kemik oluşumu görülmekle beraber, grup 4. te görülen osteogenez grup 1. e oranla daha fazla idi. Yine 2. haftada vaskülarize periost + hidroksiapatit (Grup 2.) ve vaskülarize periost +medpor (Grup 3.) gruplarında yeni kemik oluşumu diğer iki gruba oranla belirgin olarak fazlaydı ve orta derece olarak değerlendirildi. Medpor içeren fleplerde aynı zamanda kıkırdak doku gelişimi gözlemlendi. 8. haftada alınan biyopsi örneklerinde; oluşan kemik dokusu grup 1. ve grup 4. te bir örnekte orta derecede bir örnekte ise mükemmeldi. Hidroksiapatit ve medpor içeren grup 2 ve grup 3. te ise tüm örneklerde mükemmel derecede yeni kemik oluşumu ve kemik remodelasyonu tespit edildi. Medpor grubunda yine diğer gruplardan farklı olarak porların içerisinde kemik dokunun yanında kıkırdak dokusu da belirgin derecede mevcuttu. Tablo 1. de ikinci hafta sonuçları görülmektedir.

Gruplar	Örnek 1	Örnek 2
Periost	1	1
Periost+Hidroksiapatit	2	2
Periost+Medpor	2	2
Periost+Kemik kollajeni	1	1

Tablo 1. 2.haftadaki histolojik derecelendirme

Tablo 2. de 8. hafta sonuçları görülmektedir.

Gruplar	Örnek 1	Örnek 2
Periost	2	3
Periost+Hidroksiapatit	3	3
Periost+Medpor	3	3
Periost+Kemik kollajeni	2	3

Tablo 2. 8. haftadaki histolojik derecelendirme

1, 2, 4 ve 8. haftalarda ortalama alkale fosfataz (AF) aktivitesi değerleri sadece vaskülarize periosteumdan oluşan grup 1. de sırasıyla 3.38, 45.42, 25.78, 19.81 Ü/protein/gr-doku şeklindeydi. 2, 4 ve 8. haftalardaki AF aktivitesi 1. haftada bulunan değerden belirgin olarak yüksekti, yine 2. haftadaki değer 4 ve 8. hafta değerlerinden yüksekti.

Vaskülarize periosteum+Hidroksiapatit kompozit grubunda (Grup 2.) elde edilen ortalama AF aktivitesi değerleri ise 1, 2, 4, 8. haftalara göre 6.11, 74.34, 45.78, 36.28 Ü/protein/gr-doku olarak, yine vaskülarize periosteum+medpor grubunda (Grup 3.) 8.65, 97.09, 69.89, 52.59 Ü/protein/gr-doku, vaskülarize periosteum+kemik kollajeni grubunda da (Grup 4.) 3.92, 58.61, 32.06, 25.01 Ü/protein/gr-doku şeklinde bulundu. İstatistik değerlendirmede AF aktivitesi açısından sadece grup1. ve grup 4. ün 1. hafta değerleri dışında tüm gruplar arasında, tüm haftalarda anlamlı derecede fark bulunmuştur (tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi, $p<0.05$)

Ortalama osteokalsin (Bone gla protein) değerleri Grup 1. de 1, 2, 4, 8. haftalara göre sırasıyla 23.284, 268.792, 518.307, 786.709 ng/gr-doku şeklinde bulundu. Osteokalsin seviyesinin zamanla giderek arttığı ve 8. haftada önceki haftalara göre oldukça yüksek seviyeye ulaştığı görüldü.

Grup 2. de bulunan ortalama osteokalsin seviyeleri 1, 2, 4 ve 8. haftalarda 37.176, 446.557, 763.520, 1098,697 ng/gr-doku olarak, yine grup 3. te 53.959, 658.036, 972.492, 1441.214 ng/gr-doku olarak tespit edildi. Bu değerler grup 4. te haftalara göre sırasıyla 30.702, 334.643, 625.459, 902.489 ng/gr-doku şeklindeydi. İstatiksel olarak elde edilen osteokalsin düzeyleri

arasında bütün gruplar arasında 1,2,4 ve 8. haftalarda anlamlı derecede fark bulunmuştur (Tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi, $p<0,05$)

Tablo 3. te gruplara göre alkalen fosfataz aktivitesi değerleri görülmektedir.

Gruplar	1.hafta	2.hafta	4.hafta	8. hafta
Periost	3,01	46,01	28,02	18,17
	2,99	42,99	31,13	22,14
	3,67	43,02	22,01	19,01
	3,66	44,94	22,04	19,59
	3,57	50,12	25,71	20,18
Periost+Hidroksiapatit	4,76	77,12	44,05	37,56
	5,47	71,07	48,57	39,12
	6,39	76,01	42,35	33,01
	6,89	76,92	46,92	32,37
	7,02	70,57	47,02	39,36
Periost+Medpor	7,16	105,42	69,12	51,56
	8,24	98,55	70,54	52,05
	8,92	92,02	68,74	51,06
	9,12	99,56	69,14	53,17
	9,82	89,93	71,92	55,12
Periost+Kemik kollajeni	4,12	60,89	34,85	25,42
	3,57	56,15	31,92	24,58
	3,16	61,82	30,17	23,12
	3,87	55,16	31,23	27,02
	4,92	59,07	32,13	24,89

Tablo 3. AF değerleri (Ü/protein/gr-doku)

Tablo 4. te ortalama osteokalsin (Bone gla protein) düzeyleri gösterilmektedir.

Gruplar	1.hafta	2.hafta	4.hafta	8.hafta
Periost	15,075	266,769	501,842	794,105
	22,006	287,540	550,185	757,112
	25,357	224,654	495,114	805,946
	30,408	279,542	515,238	796,307
	23,576	285,457	529,157	780,075
Periost+Hidroksiapatit	37,058	462,512	762,651	1105,357
	35,115	412,324	732,155	1092,188
	37,317	488,442	762,102	1112,399
	33,135	447,315	801,514	1087,307
	43,259	422,194	759,179	1096,234
Periost+Medpor	56,941	697,567	986,155	1392,653
	52,342	682,291	979,287	1446,112
	49,333	639,037	984,587	1479,906
	53,907	617,897	963,281	1425,342
	57,272	653,392	949,152	1462,056
Periost+Kemik kollajeni	32,157	332,052	604,617	897,116
	29,155	322,159	614,945	835,197
	30,112	357,265	627,896	956,587
	29,072	335,587	665,156	912,244
	33,015	326,155	614,685	911,305

Tablo 4. Osteokalsin değerleri (ng/gr-doku)

Alkalen fosfataz ve osteokalsin değerleri grafik olarak gösterildiğinde zaman içindeki değişimleri ve gruplar arasındaki farklar çok daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Grafik 1. alkalen fosfataz, Grafik 2. osteokalsin değerlerinin çalışma süresince zamanla değişimlerini göstermektedir.

Radyolojik değerlendirmede; Vaskülarize periost (Grup 1.) ve vaskülarize periost+kemik kollajeni (Grup 4.) gruplarında 2. Hafta da elde edilen görüntülerde grup 4. teki bir örnek dışında kalsifiye opak görüntüye rastlanmamış ve (0) olarak kabul edilmiştir. vaskülarize periost+Hidroksiapatit

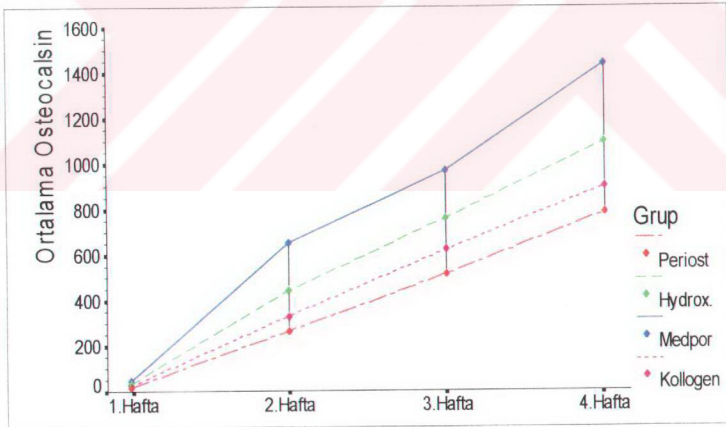
(Grup 2.) ve vaskülarize periost+Medpor (Grup 3.) gruplarında 2. haftada tespit edilen az miktarda kalsifiye opak görüntü (1) olarak derecelendirildi.

Tablo 5. te 2. haftadaki mammografik bulgular görülmektedir.

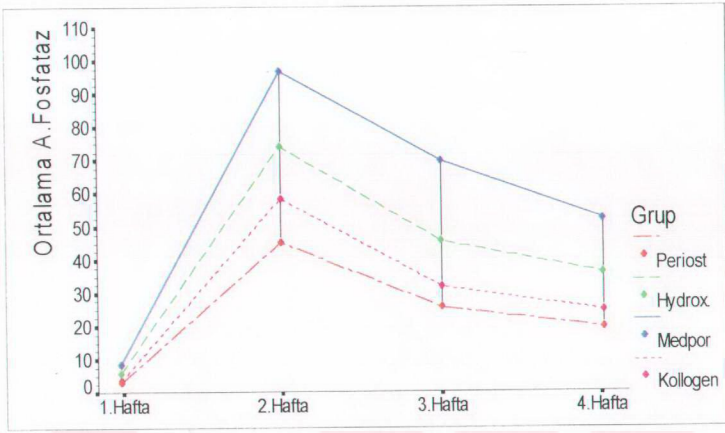
Gruplar	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
Periost	0	0	0
Periost+Hidroksiapatit	1	1	1
Periost+Medpor	1	1	1
Periost+Kemik kollajeni	0	1	0

Tablo5. 2. Hafta mammografi sonuçları

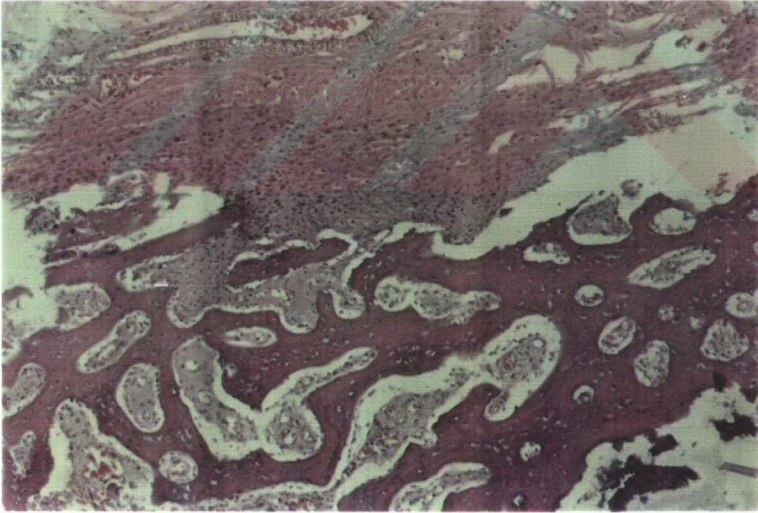
8.haftadaki mammografi çekimlerinde elde edilen görüntülerde tüm gruplarda yeteri miktarda radyopak madde görüldü ve tüm gruplar (2) olarak değerlendirildi.



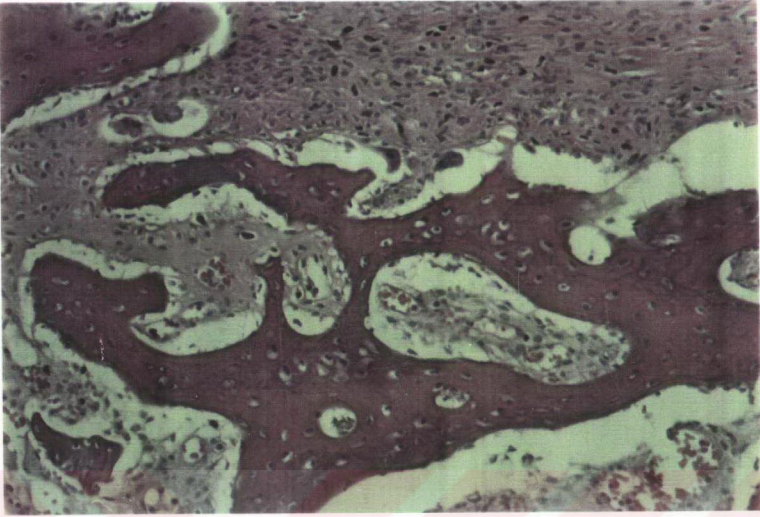
Grafik 1. Haftalara göre ortalama osteokalsin değerlerinin değişimi



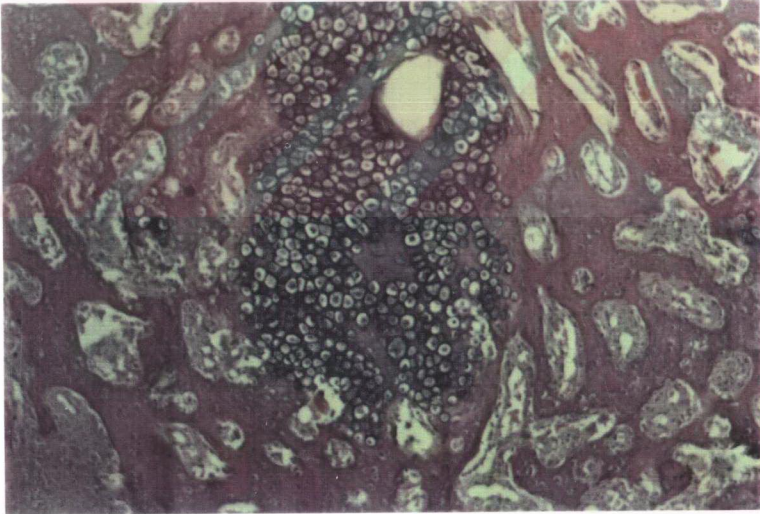
Gratik 2. Haftalara göre ortalama alkaleen fosfataz değerlerinin değişimi



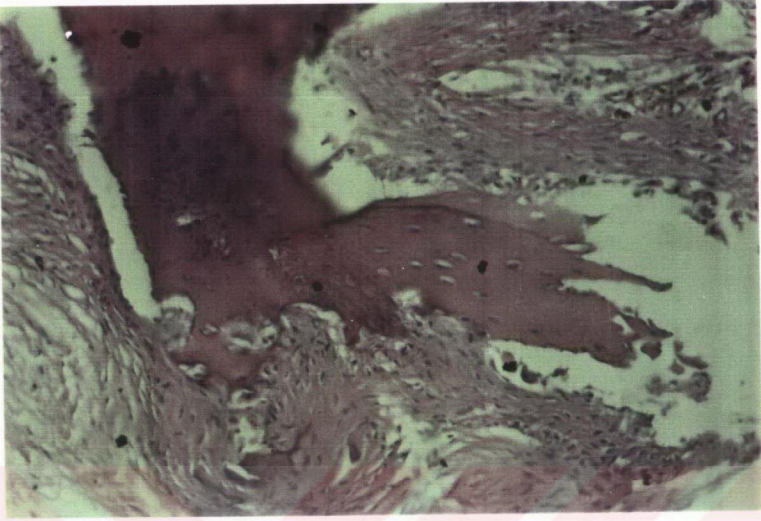
Resim 6. Vaskularize periost grubunda osteoblastik aktivite, yeni oluşmuş kemik dokusu ve etrafında periost görülmekte (8. Hafta, X10)



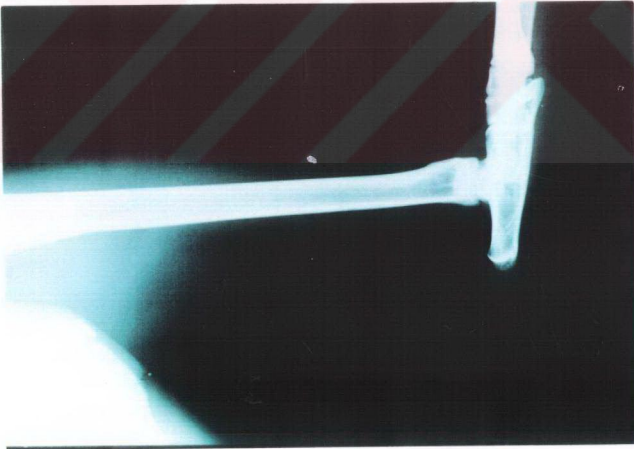
Resim 7. Dekalsifiye hidroksiapatite ait boşluklar etrafında osteoid ve oldukça iyi derecede oluşmuş yeni kemik dokusu görülmekte (8. Hafta, X10)



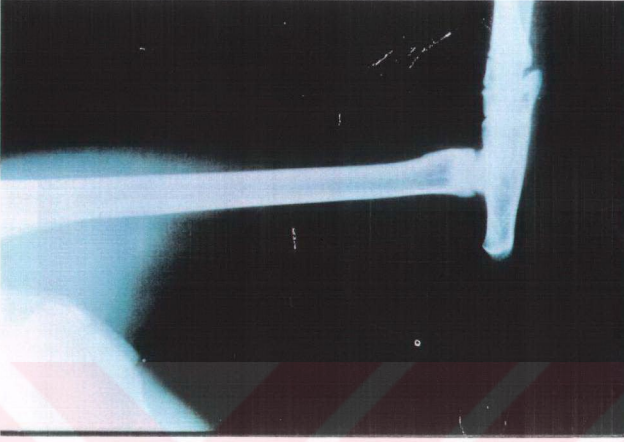
Resim 8. Dekalsifiye Medpor boşlukları çevresinde, ortasında belirgin kıkırdak dokusu içeren yoğun kemik dokusu oluşumu görülmekte (8. Hafta, X10)



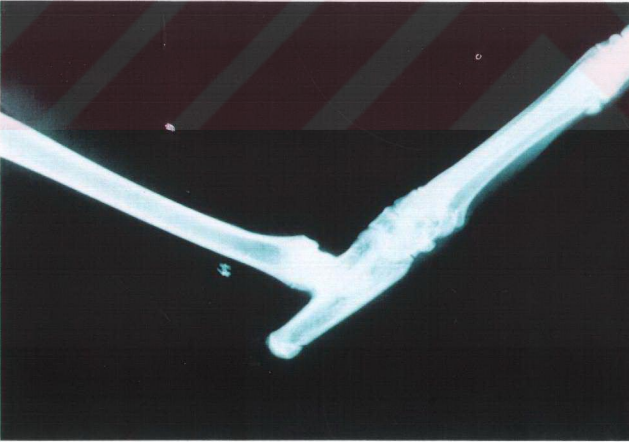
Resim 9. Vaskülarize periost+kollajen preparatında ortada osteoblastlar, yeni oluşmuş kemik dokusu ve kemik remodelasyonu görülmekte (8 hafta, x20)



Resim 10. 2. haftada vaskülarize periost grubunda mammografide kalsifiye doku görülmeydi.



Resim 11. 2. haftada kollajenli grupta mammografide kalsifiye doku görülmedi.



Resim 12. Mammografide hidroksiapatitli grupta tespit edilen kalsifiye doku (2.hafta)



Resim 13. Mammografide medporlu grupta tespit edilen kalsifiye doku (2. hafta)

TARTIŞMA

Periost greftlerinin osteojenik özelliği donör saha, alıcı saha ve vaskülarizasyon gibi bazı faktörlerden etkilenmektedir. Farklı donör sahalardan alınan periostun kemik oluşturma kapasitesi farklıdır. Tibia periostunun kalvarial periosta üstünlüğü Udströmer ve Ritsila, kosta periostuna üstünlüğü ise Wildenberg tarafından gösterilmiştir (49, 105).

Eğer alıcı saha mekanik strese maruz kalıyorsa ve ağırlık taşıyan bir bölge ise transplante edilen periost daha fazla osteojeniktir. Bassett ve Rudei kemik oluşumunun ön koşullarından birinin mekanik natürlü iyi stimülüs olduğunu söylemişlerdir (106). Kalvarium ve tibia periostları tibial bölgeye transplante edildiklerinde, kalvariuma transplantasyonlarına göre çok daha fazla yeni kemik oluşumu tespit edilmiştir (106).

Serbest periost greftlerinin (nonvaskülarize) vaskülarize greftlere göre osteojenik kapasitesi düşüktür (64), ayrıca nonvaskülarize greftler subkutan ve subfasial olarak yerleştirildiklerinde neovaskülarizasyonları daha uzun sürede gerçekleştiği için kas içi yerleştirilmeye göre daha düşük miktarda kemik meydana gelmektedir (49). Bu deneysel çalışmada; en yüksek osteojenik kapasiteye sahip olduğu bilinen tibia periostu üç pedikülünden biri olan safenöz arterin periosteal dalı üzerinde ada flebi olarak hazırlanmış ve tibianın antero-medial bölgesindeki kas fasiaları arasında prefabrike edilmiştir. Vaskülarize flepler kullanıldığından fasialar arasında prefabrike edilmiş olması bir dezavantaj değildir. Yapılan makroskobik incelemede tüm fleplerde pedikül patensinin normal olması fleplerin dolaşımı ile ilgili bir problem olmadığını göstermektedir.

Hidroksiapatitin yeni kemik oluşumunu hangi mekanizma ile sağladığı konusunda tam bir görüş birliği bulunmamaktadır. Bazıları osteoindüksiyon yaptığını ileri sürse de (75), yapılan çalışmalarda hidroksiapatit ile yeni kemik oluşumunun sadece implantın kemik doku ile temasta olduğu bölgelerde görülmesi ve yumuşak doku ile temasta olduğu yerlerde yeni kemik tespit edilememesi, bu implantın osteoindüktif olmadığını, sadece osteokondüksiyon yaptığını göstermektedir (67,70,72,75,107). Yani ossifikasyon için pasif bir matris görevi yapan ve hızlı vaskülarizasyon özelliği gösteren bir alloplastik materyaldir. Grenga ve Zins tarafından tavşanlarda yapılan bir çalışmada; nazal kemik üzerine subperiosteal onlay

greft olarak yerleştirilmiş ve 1. haftada periosteal yüzeyden vaskülarizasyonun başladığı, 3. haftada nazal kemik tarafından vasküler invazyonun eşlik ettiği ve 4. Haftada damarların implantın merkezine kadar ulaştığı tespit edilmiştir (72).

Hidroksiapatitin yeni kemik oluşturma yeteneğini arttırabilmek için bazı osteoindüktif maddeler kullanılarak yapılan çalışmalar vardır. Osteogenin (107) veya bone morfogenetik protein (73) ile beraber kullanıldığında, tek başına kullanmaya göre daha iyi osteogenez sağlanmıştır. Kemik greftlerinin aksine, resorbe olmamasına karşın stabilizasyonu daha güçtür. 4 aydan önce total stabilizasyonu gerçekleşemez (68). Kırılgan bir madde olduğu için fiksasyon sırasında çok dikkatli olmak gerekmektedir.

Medpor ile yapılan çalışmalarda; köpek femurunun ventraline yerleştirilen implantların elektron mikroskopik incelemesinde 7. günde kemik oluşumu gözlenmezken, 14. günde implant içine yoğun kemik büyümesi tespit edilmiş, 5. hafta bulgularında ise oluşan kemik remodelasyona giderek kortekse yakın bölgelerde kalınlaşma saptanmıştır (96). Berghaus ise medporu domuzlarda, kraniyal defekt modelinde, bir diğer poröz materyal olan proplast ile karşılaştırmış ve medpor ile 1. ayın sonunda %50-75 oranında osteogenez sağlanırken proplast ile 6. ayda ancak %25 oranında yeni kemik meydana gelmiştir (94). Bu farkı medporun por çapının proplast porlarına göre büyük olmasına bağlamıştır. Çünkü materyallerin por çapları yeteri kadar büyük değilse osteogenez engellenir ve kemik dokunun prekürsörü olan osteoprogenitör mezenşim 2-3. haftadan sonra fibrokollajenöz dokunun özelliğini göstermeye başlar (91). Medporun içine doku invazyonu süresi ile ilgili değişik bilgiler verilmektedir. Bu süre Sauer' e göre 5 hafta, Berghaus' a göre ise 3 ay da tamamlanmaktadır. Fakat asıl önemli olan medporun, implant içine doku büyümesine bağlı olarak 2 hafta gibi kısa bir sürede implante edildiği yerde stabil hale gelebilmesidir (95).

Kollajen matrikslerle yapılan çalışmalarda ise kafatası defektlerine yerleştirildiğinde iyileşmeyi aktive etmesine rağmen, aynı implantlar derialtına transplante edildikleri zaman rezorbe olmuşlardır, yani ektopik osteogenezde başarı sağlanamamıştır (98). Oysa kemik iliği stroma hücreleri kollajen matriks içinde osteoblastik aktivite göstermişlerdir (101). Halbuki daha önce bu olayın gerçekleşebilmesi için mutlaka dexamethasone' a ihtiyaç duyulduğu

bilinmekteydi, yani kollajen matriks kemik iliği stroma hücreleri üzerine dexamethasone benzeri etki yapabilmekte ve onların osteoblastik diferansiyasyonunu sağlamaktadır. Yine Thaller ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel bir çalışmada kemik kollajeni, kemiğin doğal minerallerinden meydana gelen Bio-Oss isimli yeni bir materyal ile beraber tavşanların kafa tası defektlerinin tedavisinde kombine olarak kullanılmıştır (108). Bio-Oss tek başına kullanıldığında resorbe olmasına rağmen kollajen ile beraber başarılı bir şekilde yeni kemik oluşumu sağlanmıştır.

Bugüne kadar periostun ve alloplastik materyallerin osteojenik kapasitesi ve mekanizması ile ilgili yapılan pek çok çalışmada oluşturulan deneysel modeller deneklerin ağırlığı, cinsiyeti ve yaşı açısından uniformiteyi tam olarak sağlayamamıştır. Ayrıca Ishida' nın çalışması (43) dışındaki yayınlarda osteojenik kapasite sadece kalitatif olarak değerlendirilmiş, kantitatif olarak hesaplanmamıştır. Ishida ise sadece periost ile fasia arasında karşılaştırma yapılmış, heriki grupta ortak olarak kullanılan hidroksiapatit hakkında bir değerlendirme yapılmamıştır. Sunulan çalışmada iki önemli noktaya dikkat edilmiştir. Birincisi deneklerin yaşı, cinsi, ağırlığı ve kullanılan periost flebinin boyutları birbirine eşit olarak seçildi. Gençlerde periostun osteojenik kapasitesi yaşlılara oranla daha fazla olduğundan tüm denekler genç erişkin tavşanlardan oluşmakta idi. Hepsi aynı cins (erkek), birbirine yakın ağırlıkta (ortalama 2200 gr) tavşanlar seçildi ve tüm gruplarda oluşturulan periost flebin boyutları (25x15 mm) ile kullanılan alloplastik maddelerin büyüklüğü aynı idi.

Bir başka önemli nokta; Hidroksiapatit, Medpor ve kemik kollajeninin periostun osteojenik kapasitesine katkılarının biyokimyasal yöntemler yardımı ile (Alkalen fosfataz ve osteokalsin ölçülmesi) ilk defa kantitatif olarak hesaplanması ve aynı model üzerinde karşılaştırılmış olmasıdır.

Histolojik (kemik dokusunun tanınması) ve radyolojik (kalsifikasyonun mammografide görülmesi) bulgulara göre; sadece periosttan oluşan grup-1 ile periost ve kemik kollajeninden oluşan grup-4 arasında erken (2 hf) ve geç (8 hf) dönemlerde fark görülmemiştir. Histolojide 2. haftada iki grupta da az miktarda kemik oluşumu saptanırken, 8. haftada ise örneklerin bir bölümünde orta derecede bir bölümünde de mükemmel yeni kemik oluşumu görülmüştür. Mammografide 2. haftada kalsifiye doku tespit edilememiş olması Hematoksilen-Eosin ile yapılan ışık mikroskopi incelemesinin az miktarda

oluşan kemik dokusunun tanınmasında radyolojik metoda göre daha başarılı olduğu şeklinde yorumlanabilir. periost+Hidroksiapatit ve periost+Medpor gruplarında ise 2. haftada mikroskopide orta derecede yeni kemik oluşumu saptanmış ve radyolojik olarak da görülmüştür. 8. hafta da ise oldukça iyi miktarda yeni kemik dokusu meydana gelmiştir.

Bu sonuçlara göre hidroksiapatit ve medporun periost ile kombine edilerek oluşturulan kompozit prefabrike modellerin yeni kemik oluşturma kabiliyetlerinin, sadece periost veya periost+kemik kollajeninden oluşan modellere göre daha fazla olduğu söylenebilir. Fakat hangisinin en iyi otogreft alternatifi olduğunu söylemek ve periost+kemik kollajeni modelinin periost flebine göre üstünlüğünün olup olmadığına karar vermek mümkün değildir.

Alkalen fosfataz (AF) hücre membranına sıkıca bağlanan bir enzimdir ve osteoblastik aktivite belirleyicisi olarak kullanılır. Osteokalsin (Bone gla protein) ise kalsifiye dokulardan bol miktarda sentezlenen bir protein olup, kemiğe spesifik bir marker olarak kullanılmaktadır. ELİSA yöntemi ile tespit edilen AF değerleri tüm gruplarda 2. haftada en yüksek seviyeye ulaşmış ve daha sonra zamanla azalarak 8. haftada 2. haftadaki değerinin yaklaşık yarısına düşmüştür. Bu sonuçlar vaskülarize periosteumun ve alloplastik maddelerle oluşturduğu kompozit ada fleplerinin osteojenik kapasitesinin 2. haftada en yüksek olduğunu gösterir. RIA yöntemi ile bulunan osteokalsin sonuçlarının analizine göre tüm gruplarda oluşturulan flepler yeni kemiği 2. hafta civarında meydana getirmişler ve bunun miktarı zamanla giderek artmıştır.

Hem AF hemde osteokalsin değerlerinde tüm gruplar arasında belirgin farklılıklar saptanmıştır. Buna göre en fazla AF ve osteokalsin grup 3. te (periost+Medpor) bulundu. Daha sonra bunu sırasıyla grup 2. (periost+Hidroksiapatit), grup 4. (periost+kemik kollajeni) ve grup 1. (sadece periost) takip etmiştir. Elde edilen bu farklar osteokalsin için 1,2,3,4. haftalarda bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıydı. Alkalen fosfataz değerleri arasındaki fark ise grup 1. ve grup 4. ün 1. hafta sonuçları dışında kalanlar tüm gruplarda ve tüm haftalarda anlamlıydı. (Tek yönlü varyans ve Duncan testi, $p<0,05$)

Bu sonuçlara göre; medporun por ortalama çapının hidroksiapatite göre daha büyük olduğu için öncelikle fibrovasküler doku ve ardından kemik dokunun implant içine büyümesinin daha fazla ve daha çabuk gerçekleştiği söylenebilir. Buna bağlı olarak da grup 3. te grup 2. ye oranla daha fazla miktarda yeni kemik oluşmuştur. Diğer taraftan, kemik kollajeninin ortalama por çapı medpor ve hidroksiapatitten daha büyük olmasına ve osteokondüktif etkisini göstererek sadece vaskülarize periosttan oluşan grup 1. e göre daha fazla AF ve osteokalsin aktivitesi göstermesine rağmen hidroksiapatit ve medpora göre çok daha az osteojenik olmuştur. Bu nedenle otojen kemik grefti yerine geçebilecek ilk alternatif olmadığı rahatlıkla söylenebilir.

Hidroksiapatit ve medpor kullanılan gruplarda erken dönemde bile (2 hf) histolojide orta derecede yeni kemik oluşumu saptanmış ve bu radyolojik olarak gösterilmiştir. 8. haftada ise heriki grupta mükemmel derecede osteogenez meydana gelmiştir. Dolayısıyla hidroksiapatit ve medpor yeni kemik oluşturmak için vaskülarize periost ile beraber kullanılabilir. Bu iki grup arasında radyolojik ve histolojik olarak kalitatif bir fark gösterilememesine rağmen, AF ve osteokalsin değerleri göz önüne alındığında medporlu grupta hidroksiapatitli gruba göre, tüm haftalarda kantitatif olarak belirgin derecede fazla aktivite saptanmıştır. Bu da medporun osteokondüktif etkisinin hidroksiapatite göre daha fazla olduğunu göstermektedir. Ayrıca hidroksiapatite şekil verilmesi zordur, kolay kırılabilir, matkap ile delik açarken ve vida ile tespit sırasında özel dikkati gerektirir. Stabilizasyon için gerekli süre medpora göre çok daha uzundur.

Sonuç olarak; Medpor yeterli miktarda fibrovasküler doku ve kemik doku invazyonuna izin verecek büyüklükte por çapına ve düşük infeksiyon oranına sahip, yabancı cisim reaksiyonu yapmayan inert bir materyaldir. Kolay şekillendirilebilir ve gerekirse ameliyat sırasında şekli değiştirilebilir. Vaskülarize periost ile kompozit flep olarak kullanıldığında, hidroksiapatit ve kemik kollajenine göre çok daha fazla yeni kemik dokusu oluşturur. Proplasta ve silikona olan üstünlüğü de daha önce kanıtlanmıştır (94,95). Bu özellikleri ile vaskülarize periost ile beraber kullanıldığında otojen kemik grefti yerine geçebilecek en iyi alloplastik materyal olarak gözükmektedir. Bunun klinik olarak ta değerlendirilmesi için çalışmalarımız sürdürülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) Bassett C, Andrew L: Clinical implication of cell function in bone grafting. Clin Orthop. 1972;87:49
- 2) Bassett C: Current concepts of bone formation. J Bone Joint Surg. 1962;44A:1217
- 3) Burwell RG: Osteogenesis in cancellous bone grafts: Considered in terms of its cellular changes, basic mechanisms and the perspective of growth control and its possible aberrations. Clin Orthop. 1965;40:35
- 4) Manson PM: Facial bone healing and bone grafts. A review of clinical physiology. Clin in Plast Surg. 1994;21:3:331
- 5) Albrektson T: The healing of autologous bone grafts after varying degrees of surgical trauma. J Bone Joint Surg. 1980;62B:403
- 6) Albrektson T, Albrektson B: Microcirculation in grafted bone. Acta Orthop Scand. 1978;49:1
- 7) Friedlaender GE: Current concepts review: Bone grafts. J Bone Joint Surg. 1987;69A:786
- 8) Mulliken JB, Kaban LB, Glowacki J: Induced osteogenesis: The biological principle and clinical applications. J Surg Res. 1984;37:487
- 9) Heiple KG, Goldberg VM, Powell AE: Biology of cancellous bone grafts. Orthop Clin North Am. 1987;18:179
- 10) Prichard JJ: The general histology of bone. In Bourne GH(ed): The Biochemistry and Physiology of Bone 2. Baski, New York, Academic Press. 1972
- 11) Biltz RM, Pellegrino ED: The chemical anatomy of bone. J Bone Joint Surg. 1969;56:456
- 12) Martin TJ, Ng KW, Suda T: Bone cell physiology. Endocrinol Metab Clin North Am. 1989;18:833
- 13) Thompson N, Casson JA: Experimental onlay bone grafts to the jaws. A preliminary study in dogs. Plast Reconstr Surg. 1970;46:341
- 14) Hobar PC, Byrd HS: Implantation: Bone, cartilage, and alloplasts. Selected Readings in Plastic Surg. 1990;6:1

- 15) Romana MC, Masquellet AC: Vascularised periosteum associated with cancellous bone graft: An experimental study. *Plast Reconstr Surg.* 1990;85:4:587
- 16) Burchardt H: Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am.* 1987;18:187
- 17) Craft PD, Sargent LA: Membranous bone healing and techniques in calvarial bone grafting. *Clin Plast Surg.* 1989;16:11
- 18) Rosen HM, Mc Farland MM: The biologic behavior of hydroxyapatite implanted into the maxillofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg.* 1990;85:718
- 19) Boyne PJ: Physiology of bone and response of osseous tissue to injury and enviromental changes. *J Oral Maxillofac Surg.* 1970;28:12
- 20) Burchardt H: The biology of bone graft repair. *Clin Orthop.* 1983;174:28
- 21) Pelker RR, Friedlaender GE: Biomechanical aspects of bone autografts and allografts. *Orthop Clin North Am.* 1987;18:235
- 22) Bernick S, Paule W, Ertl D: Cellular events associated with the induction of bone by demineralized bone. *J Orthop Res.* 1989;7:1
- 23) Thorogood PV, Gray JC: The cellular changes during osteogenesis in bone and bone marrow composite autografts. *J Anat.* 1975;120:27
- 24) Marx RE: Clinical application of bone biology to mandibular and maxillary reconstruction. *Clin Plast Surg.* 1994;21:3:377
- 25) Stratoudakis AC: Priciple of bone transplantation. Georgiade GS, Georgiade NG, Riefkohl R, Barwick WJ. Text book of Maxillofacial and Reconstructive Surgery 2. Baski, Maryland, William and Wilkins, 1992;53
- 26) Canalis E: The hormonal and local regulation of bone formation. *Endocr Rev.* 1983;42:62
- 27) Canalis E: Effect of growth factors on bone cell replication and differantiation. *Clin Orthop.* 1985;193:246
- 28) Glowacki J, Mulliken JB: Demineralized bone implants. *Clin Plast Surg.* 1985;12:233
- 29) Habal MB, Reddi AH: An update on bone grafting and bone substitutes in reconstructive surgery. Habal MB, Morain WB, Lewis ML. Advances in Plastic and Reconstructive Surgery Vol 3, Chicago, Year Book Medical, 1987,147

- 30) Mark DE, Hollinger JO, Hastings C: Repair of calvarial nonunions by osteogenin, a bone inductive protein. *Plast Reconstr Surg.* 1990;86:623
- 31) Reddi AH, Wientroub S, Muthikimaran N: Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am.* 1987;18:207
- 32) Remmler D, Mc Coy FJ, O'Neil D: Osseous expansion of the cranial vault by craniotaxis. *Plast Reconstr Surg.* 1992;89:787
- 33) Urist MR, Dowell TA, Hay PH: Inductive substrates for bone formation. *Clin Orthop.* 1968;59:59
- 34) Burwell RG: Studies in the transplantation of bone.VIII. composite homograft-autografts of cancellous bone: An analysis of inductive mechanisms in bone transplantation. *J Bone Joint Surg (Br).* 1966;48:532
- 35) Stutzmann J, Petrovic A: Bone cell histogenesis: The skeletoblast as a stem cell for preosteoblasts and for secondary type prechondroblasts. *Prog Clin Biol Res.* 1982;101
- 36) Levander G: A study of bone regeneration. *Surg Gynecol Obstet.* 1938;67:705
- 37) Smith JC, Abramson M: Membranous vs endochondral bone autografts. *Arch Otolaryngol.* 1974;99:203
- 38) Zins JE, Whitaker LA: Membranous versus endochondral bone: Implications for craniofacial reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1983;72:778
- 39) Zins JE, Kusiak JF, Whitaker LA: The influence of the recipient site on bone grafts to the face. *Plast Reconstr Surg.* 1984;73:371
- 40) Östrup LT, Fredrickson JM: Distant transfer of a free living bone graft by microvascular anastomoses: An experimental study. *Plast Reconstr Surg.* 1974;54:274
- 41) Taylor GI, Miller GDH, Ham FJ: The free vascularized bone grafts: A clinical extension of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1975;55:533
- 42) Canalis RF, Burnstein FD: Osteogenesis in vascularized periosteum. *Arch Otolaryngol.* 1985;111:511

- 43) Ishida H, Tamai S, Yajima H: Histologic and Biochemical analysis of osteogenic capacity of vascularized periosteum. *Plast Reconstr Surg.* 1996; 97:3:512
- 44) Duhamel HL, Sur le development et la cruedes os des animaux. *Mem Acad R Sci.* 1742;55:354
- 45) Ollier L: Recherches experimentales sur les graffes osseuses. *J Physiol It omme Animaux.* 1860;3:88
- 46) Axhausen G: Die histologischen und klinischen Gesetze der freien osteoplastik auf grund vo thierversuchen. *Arch J Klin Chir.* 1908;88:23
- 47) King FK: Periosteal pedicle grafting in dogs. *J Bone Joint Surg.* 1976;58B:117
- 48) Brown WL, Brown CP: Preliminary report on experimental bone and periosteal transplantation. *Surgery Gynecology and Obstetrics.* 1913;17:681
- 49) Ritsila V, Alhopuro S, Rintala A: Bone formation with free periosteum. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1972;6:51
- 50) Cohn I, Mann G: The osteogenic function of periosteum and bone transplant. *Research Southern Medical Journal.* 1914;7:214
- 51) Davis JS, Hunnicutt JA: The osteogenic power of periosteum with a note on bone transplantation. *Ann Surg.* 1915;6:672
- 52) Groves EWH: Methods and results of transplantation of bone in the repair of defects caused by injury or disease. *British Journal of Surg.* 1917;5:185
- 53) Klinkerfuss GH: Study of growing power of periosteal callus when transplanted to costal cartilages. *Surg Gynec Obstet.* 1924;38:625
- 54) Rohde C: Does bone form from osteoblasts or from metaplasia of the surrounding tissue?. *Surg Gynec Obstet.* 1925;41:740
- 55) Fell HB: The osteogenic capacity in vitro of periosteum and endosteum isolated from the limb skeleton of fowl embryos and young chicks. *J of Anatomy.* 1932;66:157
- 56) Lavender G: A study of bone regeneration. *Surg Gynec Obstet.* 1938;61:705
- 57) Trueta J, Cavadias AX: Vascular changes caused by küntscher type of nailing. *J Bone Joint Surg.* 1955;37B:492

- 58) Cohen J, Lacroix P: Bone and cartilage formation by periosteum: Assay of experimental autogenous grafts. *J Bone Joint Surg.* 1955;37A:717
- 59) Skoog T: The use of periosteal flaps in the repair of clefts of the primary palate. *Cleft Palate Journal.* 1965;2:332
- 60) Owen M: The origin of bone cells. *Int Rev Cytol.* 1970;28:213
- 61) Finley JM, Acland RD, Wood MB: Revascularized periosteal grafts-a new method to produce functional new bone without bone grafting. *Plast Reconstr Surg.* 1978;61:1
- 62) Puckett CL, Hurvitz JS, Metzler MH: Bone formation by revascularized periosteal and bone grafts, compared with traditional bone grafts. *Plast Reconstr Surg.* 1979;64:3:361
- 63) Satoh T, Tsuchiya M, Harii K: A vascularised iliac musculo-periosteal free flap transfer: a case report. *British J Plast Surg.* 1983;36:109
- 64) Wildenberg FAJM, Goris RJA, Tutein BJE: Free revascularized periosteum transplantation: an experimental study. *British J Plast Surg.* 1984;37:226
- 65) Takato T, Harii K, Nakatsuka T: Osteogenic capacity of vascularized periosteum: experimental study using rib periosteum in rabbits. *British J Plast Surg.* 1988;41:528
- 66) Ono I, Gunji H, Kaneko F: Treatment of extensive cranial bone defects using computer-designed hydroxyapatite ceramics and periosteal flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1993;92:5:819
- 67) Rosen HM: Porous, block hydroxyapatite as an interpositional bone graft substitute in orthognatic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83:6:985
- 68) Salyer KA, Hall CD: Porous hydroxyapatite as an onlay bone graft substitute for maxillofacial surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1989;84:2:236
- 69) Chiroff RT, White EW, Weber JN: Tissue ingrowth of replamineform implants. *J Biomed Mater Res Sympos.* 1975;6:29
- 70) Donath K, Rohrer M: A histologic evaluation of a mandibular cross section one year after augmentation with hydroxiapatite particles. *Oral Surg.* 1987;63:6:651

- 71) Holmes RE, Hagler HK: Porous hydroxiapatite as a bone graft substitute in cranial reconstruction: A histometric study. *Plast Reconstr Surg.* 1988;81:5:662
- 72) Grena TE, Zins JE, Bauer TW: The rate of vascularization of coralline hydroxiapatite. *Plast Reconstr Surg.* 1989;84:2:245
- 73) Ono I, Ohura T, Murata M: A study on bone induction in hydroxiapatite combined with bone morphogenetic protein. *Plast Reconstr Surg.* 1992;90:5:870
- 74) Byrd HS, Hobar PC, Shewmake K: Augmentation of the craniofacial skeleton with porous hydroxiapatite granules. *Plast Reconstr Surg.* 1993;91:1:15
- 75) Kurashina K, Kurita H, Takeuchi H: Osteogenesis in muscle with composite graft of hydroxiapatite and autogenous calvarial periosteum: a preliminary report. *Biomaterials.* 1995;16:2:119
- 76) Ono I, Gunji H, Suda K: Bone induction of hydroxiapatite combined with bone morphogenetic protein and covered with periosteum. *Plast Reconstr Surg.* 1995;95:7:1265
- 77) Alexander H, Parsons JR, Ricci J: Calcium based ceramics and composites in bone reconstruction. *CRC Crit Rev Biocompat* 1987;4:43
- 78) Donath K, Rohrer MD, Horman K: Mobile and immobile hydroxiapatite integration and resorption and its influence on bone. *J Oral Implantology.* 1987;13:120
- 79) Holmes RE: Bone regeneration within coralline hydroxiapatite implant. *Plast Reconstr Surg.* 1979;63:626
- 80) Piecuch JF, Fedorka NJ: Result of soft tissue surgery over implanted replamineform hydroxiapatite. *J Oral Maxillofac Surg.* 1983;41:801
- 81) Finn RA, Bell WH, Brammer JA: Interpositional grafting with autogenous bone and coralline hydroxiapatite. *J Maxillofac Surg.* 1980;8:217
- 82) Holmes RE, Mooney V, Bucholz R: A coralline hydroxiapatite bone grafts substitute. *Clin Orthop.* 1984;188:252
- 83) Piecuch JF, Topazian RG, Skoly S: Experimental ridge augmentation with porous hydroxyapatite implants. *J Dent Res.* 1983;62:148

- 84) Pieuch JF: Extrasketal implantation of a porous hydroxyapatite ceramic. J Dent Res. 1982;61:1458
- 85) Kenney EB, Lekovic V, Sa Ferreira JC: Bone formation within porous hydroxiapatite implants in human periodontal defects. J Periodontol. 1986;57:76
- 86) Salyer KE, Ubinas EE, Snively SL: Porous hydroxiapatite as an onlay graft in maxillofacial surgery. Plast Surg Forum. 1985;8:61
- 87) Wolford LM, Wordrop RW, Hartog JM: Coralline hydroxiapatite as a bone graft substitute in orthognatic surgery. J Oral Maxillofac Surg. 1987;45:1034
- 88) Wellisz T: Reconstruction of burned external ear using a medpor porous polyethylene pivoting helix framework. Plast Reconstr Surg. 1993;91:5:811
- 89) Wellisz T, Dougherty W: The role of alloplastic skeletal modification in the reconstruction of facial burns. Ann Plast Surg. 1993;30:6:531
- 90) Şengezer M, Türegün M, Sezgin M: Reconstruction of the microtic external ear in adults using porous polyethylene implant. Euro J Plast Surg. 1996;19:314
- 91) Spector M, Harmon SL, Kreutner A: Characteristics of tissue growth in to proplast and porous polyethylene implants in bone. J Biomed Mater Res. 1979;13:677
- 92) Spector M, Flemming WR, Kreutner A: Bone growth in to porous high-density polyethylene. J Biomed Mater Res. 1976;10:7:595
- 93) Merritt K, Shafer JW, Brown SA: Implant site infection rates with porous and dense materials. J Biomed Mater Res. 1979; 13:101
- 94) Berghaus A, Mulch G, Handrock M: Porous polyethylene and proplast: Their behavior in a bony implant bed. Arch Oto Rhino Laringol. 1984;240:115
- 95) Shanbhag A, Friedman HI, Augustine J: Evaluation of porous polyethylene for external ear reconstruction. Ann Plast Surg. 1990;24:32
- 96) Spector M, Flemming WA, Sauer BW: Early tissue infiltrate in porous polyethylene implants into bone: A scanning electron microscope study. J Biomed Mater Res 1975;9:537

- 97) Berghaus A, Axhausen M, Handrock M: Poröse Kunststoffe für die Ohrmuschelplastik. *Laryngol Rhinol Otol.* 1983;62:320
- 98) Strates B, Connolly JF: Osteogenesis in cranial defects and diffusion chambers. *Acta Orthop Scand.* 1989;60:2:200
- 99) Nimni ME, Cheung D, Strates B: Chemically modified collagen: a natural biomaterial for tissue replacement. *J Biomed Mater Res.* 1987;21:6:741
- 100) Speer DP, Chvapil M, Volz RG: Enhancement of healing in osteochondral defects by collagen sponge implants. *Clin Orthop.* 1979;144:326
- 101) Mizuno M, Shindo M, Kobayashi D: Osteogenesis by bone marrow stromal cells maintained on Type I collagen matrix gels in vivo. *Bone.* 1997;20:2:101
- 102) Poser WJ, Esch FS, Ling NC: Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone. *The J Biol Chemistry.* 1980;255:18:8685
- 103) Hauschka V, Lian JB, Gallop PM: Direct identification of the calcium-binding amino acid, γ -carboxyglutamate, in mineralized tissue. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1975; 72:3925
- 104) Price PA, Nishimoto SK: Radioimmunoassay for the vitamin K-dependant protein of bone and its discovery in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980;77:4:2234
- 105) Udströmer L, Ritsila V: Osteogenic capacities of periosteal grafts. *Scandinavian J Plast Reconstr Surg.* 1978;12:207
- 106) Bassett C, Ruedi TP: Transformation of fibrous tissue to bone in vivo. *Nature.* 1966;209:988
- 107) Ripamonti U, Ma SS, Van den Heever B: Osteogenin, a bone morphogenetic protein, adsorbed on porous hydroxyapatite substrata, induces rapid bone differentiation in calvarial defects of adult primates. *Plast Reconstr Surg.* 1992;90:3:382
- 108) Thaller SR, Hoyt J, Dart A: Repair of experimental calvarial defects with Bio-Oss particles and collagen sponges in a rabbit model. *J Craniofac Surg.* 1994;5:4:242