

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBOKSİMETİL SELÜLOZ VE KOLLAJENLE KAPLANAN
DEVEKUŞU YUMURTA KABUK PARTİKÜLLERİNİN,
TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN
KAFATASI KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNDE
ETKİLERİNİN KLİNİK, RADYOLOJİK VE
HİSTOMORFOMETRİK YÖNTEMLERLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Alkın ÜNSAL

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Ercan DURMUŞ

KONYA-2015

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBOKSİMETİL SELÜLOZ VE KOLLAJENLE KAPLANAN
DEVEKUŞU YUMURTA KABUK PARTİKÜLLERİNİN,
TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN
KAFATASI KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİ ÜZERİNDE
ETKİLERİNİN KLİNİK, RADYOLOJİK VE
HİSTOMORFOMETRİK YÖNTEMLERLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Alkın ÜNSAL

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Ercan DURMUŞ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından **11202027** proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2015

S.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Dt.Alkın ÜNSAL'ın tarafından savunulan bu çalışma, Jürimiz tarafından Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof.Dr.Uğur TEKİN
Ege Üniversitesi

İmza



Üye : Prof.Dr.Hanife ATAÖĞLU
Selçuk Üniversitesi

İmza



Üye : Prof.Dr.İlhami ÇELİK
Selçuk Üniversitesi

İmza



Üye: Doç.Dr.M.Cemal AKAY
Ege Üniversitesi

İmza



Danışman: Prof.Dr.Ercan DURMUŞ
Selçuk Üniversitesi

İmza



ONAY :

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Hasan Hüseyin DÖNMEZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora ve klinik eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında değerli bilgilerini, tecrübelerini, zamanını ve desteğini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ercan DURMUŞ'a,

Tezimin hazırlanması sırasında tecrübesini, bilgisini, zamanını benden esirgemeyen ve her zaman beni destekleyen çok kıymetli ve değerli hocam Prof. Dr. İlhami ÇELİK'e,

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi eğitimim süresince pratik ve teorik olarak katkıda bulunan tecrübe ve deneyimlerini benimle paylaşan Anabilim Dalımızda görev yapan değerli tüm öğretim üyelerine, birlikte çalıştığım araştırma görevlisi ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma, bölümümüzde çalışan hemşirelere ve bütün personele,

Bana her zaman destek olan annem Fevziye Ayşe ÜNSAL'a, babam İbrahim ÜNSAL'a ve ağabeyim Ali Alper ÜNSAL'a,

Her zaman benim yanımda olan ve her konuda yardım eden, destek olan hayatımın aşkı Nurdan Kafalı ÜNSAL'a

Hayatıma anlam katan sahip olduğum en kıymetli hazine olan oğlum Aras Erdem ÜNSAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER:

SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kemik Dokusunun Histolojik Yapısı.....	2
1.1.1. Organik Matriks	3
1.1.2. İnorganik Matriks	4
1.1.3. Kemik Dokusu Hücreleri	5
1.1.4. Kemik Dokusu Türleri	8
1.1.5. Periosteum Ve Endosteum	8
1.1.6. Osteogenezis.....	9
1.1.7. Kalsifikasyon Mekanizması	10
1.1.8. Kemğin Büyümesi Ve Yeniden Şekillenmesi	11
1.1.9. Kemğin Yeniden Şekillenmesinde Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler	11
1.1.10. Kırık Onarımı	12
1.2. Kemik Greftleri	14
1.2.1. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması.....	15
1.2.2. Kemik Greftlerinin Fizyopatolojisi	24
1.3. Devekuşu Yumurta Kabuğu.....	27
1.4. Karboksimetil Selüloz.....	32
1.5. Jelatin	34
1.6. Tavşan Kraniyumu Anatomisi	35
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	38
2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları.....	38
2.2. Greft Materyalinin Elde Edilmesi ve Hazırlanması.....	40
2.3. Cerrahi Yöntem.....	41
2.4. Defekt Sahasının Radyolojisi.....	44
2.5. Bilgisayarlı Tomografi incelemeleri	45

2.6.Doku Örneklerinin Histolojik Yöntemlerle İşlenmesi	45
2.7.Histolojik ve Histomorfometrik Analizler	46
2.8. İstatiksel Analizler	46
3.BULGULAR	48
3.1. Klinik Bulgular	48
3.2. Radyolojik bulgular	48
3.3. Bilgisayarlı Tomografi Bulguları.....	49
3.4.Histolojik Bulgular.....	50
3.4.1. Bir Aylık Histolojik Bulgular.....	50
3.4.2. Üç Aylık Histolojik Bulgular	54
3.5. HistomorfometrikBulgular	58
4. TARTIŞMA	60
5. SONUÇLAR	68
6. KAYNAKLAR	71
7. EKLER	77
8. ÖZGEÇMİŞ	78

SİMGELER ve KISALTMALAR

ALP-az:alkalenfosfataz

BD: bağ dokusu

BMPS: Kemik morfojenik proteinler

CMC: Karboksimetil selüloz

DBM: Demineralize kemik matriksi

DYK: Devekuşu yumurta kabuğu

EDTA: Etilen diamintetra asetik asit

EGF:Endotelyal kökenli büyüme faktörü

FGF: Fibroblast çoğalma faktörü

GAG:Glukozaminoglikan

GAAG:Galaktozaminoglikanlar

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

IL-1: İnterleukin-1,

IL-6: İnterleukin-6

KD: Kas dokusu

KT: Kemik trabekülleri

OPN: Osteopontin

OCX-32: Ovokaliksin-32

OCX-36: Ovokaliksin-36

PDGF: Kan pulcuğu kökenli büyüme faktörü

PGF: Polipeptit büyüme faktörü

PKD:Primer kemik dokusu

PMMA: Polimetilmetakrilat

PMNL: Polimorfonükleerlokositler

PRP: Trombositten zengin plazma

TDK: Taze dondurulmuş kemik

TGF α : Trombosit çoğalma faktörü α

TGF β : trombosit çoğalma faktörü α

YH: Yağ dokusu

ÖZET

T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Karboksimetil Selüloz ve Kollajenle Kaplanan Devekuşu Yumurta Kabuk Partiküllerinin Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kafatası Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerinde Etkilerinin Klinik Radyolojik ve Histomorfometrik Yöntemlerle Değerlendirilmesi

Alkın ÜNSAL
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2015

Dişhekimliğinde, kemik defektlerinin onarılması amacıyla kullanılabilecek farklı greft materyallerinin geliştirilmesi için yoğun olarak çalışılmaktadır. Günümüzde, osteojenik özelliklerine bağlı olarak en fazla otojen kemik grefti tercih edilmekteyse de, ikinci bir cerrahi girişim gerektirmesi, donör sahasının enfekte olma riski, sınırlı miktarda materyal sağlanabilmesi gibi nedenlerle farklı greft materyallerinin kullanıma sokulması gerekmektedir. Kullanılan kemik grefti materyallerinin biyolojik uyumluluğunun iyi olması, osteojenik aktiviteyi indüklemesi, kemik yapımı için çatı oluşturması beklenirse de, bu özelliklerin hepsine sahip olan bir kemik grefti henüz geliştirilememiştir. Bu yüzden ideal greft materyali geliştirme çalışmaları halen devam etmektedir.

Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Bilimsel Etik Kurulu tarafından onaylanan bu çalışmada 20 adet erişkin erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar, ketaminehydrochloride (Ketanes®, Alke, İstanbul, Turkey) ve xylazine (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Germany) kombinasyonunun intramusküler yolla enjeksiyonuyla genel anestezi yapıldı. Defekt sahası usulüne uygun traş ve dezenfekte edildikten sonra orta hatta cilt insizyonuyapıldı ve alttaki dokular periostelevatörü yardımıyla kaldırıldı. Sağ ve sol tarafta 2'şer olmak üzere, her hayvanda toplam dörder adet 6 mm çapında 2mm derinliğinde kemik defekti oluşturuldu. Defektler steril serum fizyolojikle yıkayıp kanama kontrolü sağlandıktan sonra defektlerden biri boş bırakılmış, ikincisine devekuşu yumurta kabuğundan hazırlanan ve ilave işlem uygulanmamış olan toz greft materyali yerleştirilmiş, üçüncüsüne ise CMC ile kaplanan devekuşu yumurta kabuk partikülleri, dördüncü ve sonuncusuna da farmasötik kalitede jelâtinle kaplanan devekuşu yumurta kabuk partikülleri yerleştirildi.

Bu denekler 2 gruba ayrılmıştır. 1 aylık ve 3 aylık gruplar klinik, radyolojik ve histolojik olarak incelendi.

Her üç greft etrafında üç aylık dönem sonunda belli oranlarda kemikleşme görüldü. Ancak, CMC ile kaplanan DYK grefti hem klinik olarak uygulanması diğer gruplara göre daha kolay olduğu gözlemlendi. DYK grefti uygulanan grupta yeni oluşan kemik dokusu bakımından daha başarılı sonuç elde edildi.

Anahtar Sözcükler: Devekuşu yumurta kabuğu; Jelatin; Karboksi metil selüloz (CMC); Kemik grefti; Tavşan kafatası

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Clinical, Radiological, Histological and Histomorphometrical Evaluations on of The Effects of Carboxymethyl Cellulose and Collagen- Coated Ostrich Eggshell Particles on The Healing Process of Experimentally Induced Cranial Bone Defects in Rabbits

Alkın ÜNSAL
Department of Oral and Maxillofacial Surgery

PhD THESIS / KONYA-2015

In oral and maxillofacial surgery, bone graft materials are used to repair bone defects extensively. Although most of the researchers agree that vascularized and cancellous autogenous bone graft is the most suitable substance, it has some disadvantages such as donor site morbidity, harvesting difficulties and inability to provide great amounts. To overcome these problems, use of xenografts, allografts and other biomaterials have been studied extensively.

The Scientific and Ethics Committee of the Experimental Animals Research and Application Centre of Meram Medical Faculty, Selçuk University approved this study. 20 adult New Zealand rabbits were used in the study.

All of the animals were anesthetized with an intramuscular injection (0.59 mL/kg) of a combination of ketamine hydrochloride (Ketanes®, Alke, Istanbul, Turkey) and xylazine (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Germany), and the surgery was done under sterile conditions. A midline skin incision was made along the mid-sagittal suture of the skull, and then the skin and underlying tissues including the temporal muscle were reflected bilaterally using a periosteal elevator to expose the full extent of the calvaria. In the outer cortical half of the calvarium, on the left and right sides, 6 mm wide, half-thickness defects were created using a trephine, with continuous irrigation of the frontal region. One defect served as a control group and the remaining ones either filled with ostrich eggshell-CMC combination, ostrich eggshell-gelatin combination and only ostrich eggshell particles.

Clinical and radiological inspections and histologic investigations of the animals were done at the 1st and 3rd months. At the end of three months ossification was seen around all of the graft materials. However clinical implementation of CMC coated ostrich eggshell particles were more useful than other groups and successful results in terms of the newly formed bone tissue is obtained in DYK group.

Key Words: Bone graft; Carboxymethyl cellulose (CMC); Gelatin; Ostrich eggshell; Rabbits skull

1.GİRİŞ

Kemik dokusu, organizmanın en sert dokusudur. Bu özelliğinden dolayı hayati önemi olan beyin, kalp, akciğer, omurilik gibi organları korumakta ve aynı zamanda vücuda mekanik destek görevi yapmaktadır. Erişkinde kompakt ve spongiyöz olmak üzere iki tür kemik dokusu vardır. Bu iki kemik dokusu türü, vücutta farklı bölgelerde bulunabildiği gibi her ikisinin bir arada olduğu vücut bölgeleri de vardır. Diğer dokular gibi kemik dokusunda hücreler ve hücrelerarası temel maddeden (matriks) oluşur. Hücrelerarası madde ise tip I kollagen ipliklerle diğer matriks molekülleri ve inorganik (mineralize) matriksten oluşur. Uzun kemiklerde, kan damarları sistemi ve kemik iliğinin bulunduğu bir kanal sistemi bulunur. Periost, eklem yüzleri hariç tüm kemiği dıştan saran sağlam bir dış yarımı ipliksel, iç yarımı da hücresel olmak üzere 2 katmandan oluşan sıkı bağ dokusudur. İnorganik matriks olarak da adlandırılan mineralize matrikse kalsiyum tuzları çökelmiş olduğundan, kemik dokusu oldukça serttir. Lakünler, osteositlerin yerleştiği kovuklar olup, kanaliküli ossei adı verilen ince kanallarla birbirleriyle bağlantılıdır. Matriksin sert olması difüzyona olanak vermediğinden, hücrelerin kan damarlarıyla ilişkisi bu kanaliküli osseiler sayesinde kurulabilmekte ve metabolizmaları desteklenmektedir. Embriyonik dönemde kemikler intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki yolla yapılırlar. Bunlardan ilkinde kemik direkt olarak bağ dokusundan, diğerindeyse önceden oluşan kıkırdak modelden gelişir (Paker 1993).

Organizmada herhangi bir nedenle hasar gören dokular,sahip oldukları rejenerasyon yetenekleriyle belirli bir oranda kendilerini yenileyebilmektedir. Kemik dokusunun rejenerasyon yeteneği oldukça iyidir. Kemiğin kırılması durumunda, eğer enfeksiyon ve başka iç yada dış nedenler işe karışmamışsa, kırık bölgesinde yeni kemik dokusu oluşarak kırık sahası tamamen normal hale gelebilmektedir. Kırık şekillendiğinde, bölgedeki kan damarları da hasara uğradığından lokal kanama oluşur ve kırık sahası kapalıysa kırık hematomu şekillenir. Bir süre sonra da bölgedeki kan pıhtılaşır. Sahadaki nekrotik dokular nötrofil ve makrofajlar tarafından ortadan kaldırılır. Bölgede fibroblastik aktivite ve vaskülarizasyon hızlanır. Sahayı önce fibröz bağ dokusu (prokallus), sonra da kıkırdak dokusu (provizyonal kallus) doldurur. Bu arada kırık bölgesindeki periosteum ve endosteumdaki osteoblastlar çoğalarak kırık bölgesine gelirler ve buradaki osteoblastları oluştururlar. Provizyonal

kallusun kemikleşmesiyle oluşan primer kemik dokusu ise kallustur. Kallus yavaş yavaş kompakt yapıdaki sekonder kemik dokusuna dönüşür. Böylece onarım tamamlanır ve sahadaki kemik, tamamen normal yapısını kazanır ve fonksiyonlarını yerine getirecek duruma gelir (Leeson ve ark 1988).

Ancak malformasyon, enfeksiyon, travma veya onkolojik bir rezeksiyon sebebiyle oral ve maksillofasiyal bölgede oluşan kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyon problemi henüz tatmin edici bir şekilde çözümlenememiş olup, bu problem modern cerrahinin en zor uğraşlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Redondo ve ark 1995, Rabie ve ark 1996).

1.1. Kemik Dokusunun Histolojik Yapısı

Kemik, yetişkin iskeletin en önemli yapı taşını oluşturmaktadır. Vücudun en sert dokusu olduğundan, yumuşak dokulardan meydana gelen yapıları destekler. Kafatası ve toraks boşluklarında yer alan yaşamsal organları korur ve aynı zamanda kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğinin de yatağıdır. Ayrıca kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını sabit düzeyde tutabilmek için, bu önemli iyonların kontrollü olarak salıverilmelerini ve depolanmalarını da sağlamaktadır (Junguiera ve ark1998).

Kemik dokusu, dişin minesinden sonra vücudun en sert dokusudur. Kemik dokusunda bulunan çeşitli tipteki kemik hücreleri ve fibriller, kalsiyumdan zengin bir ara madde içinde (matriks) gömülüdür (Paker 1993).

Bütün kemiklerin iç yüzeyleri endosteum ve dış yüzeyleri de periosteum adı verilen osteojenik hücrelere sahip zarlarla örtülüdür (Junguiera ve ark 1998).

Yassı kemikler, kompakt bir dış tabaka olan substantia kompakta ile spongiyöz ve trabeküler yapıda olan iç tabaka, yani substantia spongiyozdan oluşmaktadır. Bu yapısal tabakaların oranı ve kalınlığı kemik tipine göre değişmektedir (Dietz ve Bartholmes 1998). Çıplak gözle incelendiğinde kompakt kemik solid, boşluk içermeyen, fildişi görünümünde bir doku olarak görünse de, mikroskopla incelendiğinde bu doku içinde farklı şekil ve büyüklükte boşlukların bulunduğu görülür. Spongiyöz kemik, dallanan trabeküllerin birbirleriyle birleşmesiyle ağ şeklindeki yapıyı oluşturur. Bu nedenle gözenekli, süngerimsi bir

doku olarak görülmektedir. Kortikal kemik; kompakt ve yüksek yoğunlukta olup, %10 kadar gözeneklidir. Buna karşın spongiyöz kemik süngerimsi yapısı nedeniyle %50 kadar gözenek içerir. Lameller yapı kortikal kemikte dairesel, spongiyöz kemikte trabeküler tarzdadır (Şatan ve ark 1998).

Kemik; arası madde kalsifiye durumda olan ve *kemik matriksi* de denen özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemik dokusunda farklı hücre tipleri bulunmaktadır. Bu hücreler, matriksin lakün adı verilen kavitelerinde yerleşmiş olan osteositler, matriksin organik kısımlarının sentezini yapan ve lamel yüzeylerinde sıralar halinde yerleşen osteoblastlar ve kemik dokusunun rezorpsiyonu ve yeniden modellenmesini sağlayan çok çekirdekli dev bir hücre olan osteoklastlardır (Junguiera ve ark 1998).

Kompakt kemikte, yapıya hâkim olan unsur hücrelerden çok matrikstir. Kemik matriksi 3-7 mikrometre kalınlığında ve *kemik lameli* denen tabakalar halindedir. Her lamelde, tek sıra halinde dizilen küçük boşluklar (lakün) bulunur. Lakünlerden her yönde uzanan silindirik küçük kanalcıklar, birbirleriyle birleşerek, matriks içinde ağısı yapıda bir kanal sistemi oluşturur ve bu sistem, ara maddesinin difüzyon özelliği olmayan kemik dokusunun beslenmesinde rol oynar (Paker 1993).

Kemiğin kimyasal düzeni, vücudumuzda büyük oranda aynıdır. Ağırlığa nispeten vücudumuzun %30'u organik madde, %45'i inorganik madde ve %25'i sudan yapılmıştır (Dietz ve Bartholmes 1998).

Kemik matriksi iki bölümde incelenir. Bunlar; organik matriks ve inorganik matriks (mineralize matriks) bölümleridir. Organik matriksi kollajen ve şekilsiz temel madde (fundamental substans) oluşturur. Mineralize matriks ise kalsiyum, fosfor ve bazı diğer elementlerin tuzlarından oluşur. Matriksin her iki bölümü de kemiğin fiziksel özelliklerinin belirlenmesinde büyük önem taşır (Soydan 1992).

1.1.1. Organik Matriks

Kemiğin organik matriksine *osteoid madde* denir. Osteoid madde, erişkinlerde kemik ağırlığının % 25'ini, hacim olarak da % 38'ini oluşturur. Organik maddenin %95'ini kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler oluşturur. Organik maddeler arasında en çok osteokalsin bulunmaktadır. Kollajen, kemiğin ipliksel çatısını oluşturur. Kemik kollajeni diğer kollajenlerden farklılık gösterir ve %90'ı

Tip I kollajenden oluşur (Şatan ve ark 1998). Üzerine mineralize matriks çökeldiğinden, diğer kollajenler arasında özgün bir yer tutar ve osteokollajen adını alır (Soydan 1992, Dietz ve Bartholmes 1998).

Kollajen; dokularda mekanik stabiliteyi sağlayan ipliksel bir glikoproteindir. Transkripsiyondan sonra, kollajen molekülleri çeşitli intrasellüler ve ekstrasellüler işlemlerden geçer, bu da onun özgün yapısını ve stabilitesini sağlar (Dietz 1998). Kemiğin organik yapısının önemli bir kısmını oluşturan kollajen ipliklerin sentezi, mezenkimal orijinli osteoprogenitör hücrelerden farklılaşan osteoblastlar tarafından gerçekleştirilir. Osteoblastlar kendi oluşturdıkları kemik matriksi tarafından sarılarak bir süre sonra osteositlere dönüşürler. Bu hücreler, artık kemik oluşturma yeteneklerini kaybetmişlerdir. Kemikte bulunan bir başka hücre tipi de, çok çekirdekli ve iri osteoklastlardır. Bu hücreler, kemiğin sürekli şekil değiştirme (remodelling) işleminin bir parçası olan, kemik rezorpsiyonunu gerçekleştirir. Kollajen iplikler arasında bulunan kemiğin şekilsiz temel maddesi; çeşitli glikozaminoglikanlar, glikoprotein ve proteoglikanlardan oluşmuştur. Ayrıca, bağ dokusunun hücre dışı ve iplikler arası komponentlerini de içerir (Güven 1988).

Kollajen ipliklerin arasını şekilsiz temel madde doldurur. Şekilsiz temel madde daha çok lakünler ve kanaliküli osseiler çevresinde yoğunlaşır. Kimyasal yapısı, farklı protein-karbonhidrat bileşikleri halindeki moleküllerdir. Temel maddenin kemikteki proteoglikan fraksiyonuna osteomukoid de denir (Soydan 1992).

1.1.2. İnorganik Matriks

İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %65'ini oluşturmaktadır. İçeriğinde özellikle kalsiyum fosfat oranı yüksektir. Ayrıca kalsiyum karbonat ve sitrat tuzlarıyla, magnezyum, potasyum ve sodyum tuzları da bulunur. X ışını difraksiyon yöntemiyle yapılan çalışmalarda; kalsiyum ve fosforun hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği ortaya konmuştur (Junguiera ve ark 1998).

Kemiğin inorganik matriksinin, organik matrikse oranı, kemiğin tipine ve bireyin yaşına bağlıdır. Mineralize matriksin %90'ının oluşumu organik matriksin oluşumundan kısa bir süre sonra gerçekleşir. Kalan %10'u da, dokunun iyon geçirgenliğinin azalması nedeniyle yavaş şekillenir. Yaşlanmaya bağlı olarak

mineralize matriksin bileşimi değişir; kalsiyum karbonat oranı artar; fosfat, magnezyum ve su oranı azalır. Fosfat yerine karbonat tutulması nedeniyle Ca/P oranı giderek düşer. Mineralize matriksin organik matrikse oranı ve bileşimi bazı patolojik nedenlere bağlı olarak da değişir. Raşitizm veya osteomalazide mineralize matriks oranı %35'e iner, kalsiyum oranı düşer, magnezyum oranı yükselir (Soydan 1992).

Kemiğin mineralize matriksi, minerallerin statik bir deposu değildir. Osteoblastik ve osteoklastik aktivitelerle organik ve inorganik matriks oranı dinamik bir denge halinde sabit tutulur. Kemiğin bu sürekli yeniden sentezlenmesi ve rezorpsiyonu hayat boyunca devam eder. Kemiğin büyümesi durduktan sonra da yapım ve yıkım olayları uzun süre devam eder. Bu durum, *kemiğin yeniden şekillenmesi (remodeling)* olarak adlandırılır. Normal durumlarda kemik oluşumu ve rezorpsiyonu sıkı bir şekilde birbirine bağlantılıdır (Güven 1988).

1.1.3. Kemik Dokusu Hücreleri

Kemikte dört tip hücre bulunur. Bunlar: osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır.

Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücreler kemiğin dış ve iç yüzlerini örten periosteum ve endosteumda bulunur, osteoblastlara dönüşerek kemik yapımını sağlarlar. Bu hücreler henüz spesifik bir doku hücresine farklılaşmamış indifferant hücreler olup, yaşamları boyunca çoğalabilme özelliğine sahiptir. Farklılaşmamış kök hücre klonları oluşturdukları gibi, geçiş hücrelerine farklılaşıp gelişerek; kemik, kıkırdak, ligament, tendon ve yağ hücresi (adiposit) gibi bağ dokusu hücrelerini de oluşturabilirler. Osteoprogenitör hücrelerin, periosteum ve peritrabeküler yumuşak doku da dâhil olmak üzere birçok kaynağı olabilir; ama kemik iliği aspirasyonu ile elde edilen kök hücrelerin; sayı ve kalite olarak biyosentetik greftlemeye en uygun materyal olduğu bilinmektedir. Kemik iliğinden alınan bu plüripotent hücrelere değişik araştırmacılar farklı isimler vermişlerdir: *Stromal ilik hücresi*, *progenitör bağ dokusu hücresi* ve *mezenkimal kök hücresi* bu adlandırmalardan bazılarıdır (Soydan 1992, Tomin ve ark 2002).

Osteoprogenitör hücreler, kesitlerde soluk boyanan oval çekirdekli, soluk sitoplazmalı yassı veya mekik biçimli hücrelerdir. Normal kemik gelişiminde aktiftirler. Yine erginlerde kırık iyileşmesi sırasında aktifleşirler. Bölünüp çoğalarak osteoblastlara dönüşürler. Bu hücrelerin yağ hücresi, fibroblast ve kemik iliğindeki kan yapıcı hücrelere dönüşebildiği de gösterilmiştir (Paker 1993).

Osteoblastlar

Kemik matriksinin organik kısmının sentezinden (kollajen, glikoproteinler ve proteoglikanlar) sorumlu hücrelerdir. Ayrıca inorganik maddelerin organik matrikste çökmesi için de osteoblastlara gereksinim vardır (Paker 1993, Dietz ve Bartholmes 1998, Junguiera ve ark 1998).

Osteoblastlar osteojenik hücrelerdir. Kemik dokusu yüzeyindeki boşlukları döşerler (Dietz ve Bartholmes 1998). Düzensiz tek sıra şeklinde yanyana dizilmişlerdir (epitel hücreleri benzeri). Osteoprogenitör hücrelerden daha iridirler. Osteositler, osteoblastların transformasyonu ile oluşurlar. Osteoblastların etrafında ve yeni sentezlenen henüz kalsifiye olmamış kemik matriksine osteoid doku denir. Kemiğin inorganik matriksinin yapılabilmesi canlı osteoblastların varlığına bağlıdır. Zira osteositler osteoblastlardan gelişirler. Sonuç olarak, mineralizasyon ve demineralizasyon, gelişimini tamamlamış sağlıklı kemik dokusunda dengededir. Osteositlerin morfolojik görünimleri sentez durumunda olup olmamalarına bağlıdır. Aktif şekilleri (sentez dönemindekiler) kübik biçimli olup bazofilik sitoplazmalıdır. Sentez aktivitesi azalınca yassılaşırlar; dolayısıyla bazofilik özellikleri de azalır (Soydan 1992, Paker 1993, Dietz ve Bartholmes 1998, Junguiera ve ark 1998).

Osteoblastların sitoplazması ve hücre zarı yüzeyinde önemli miktarda alkalin fosfataz (ALP-az) enzimi bulunmaktadır. Osteoblastların içerikleri bu enzimin yalnız matriks yapımıyla ilgili olmayıp, kalsifikasyonla da ilişkisi olduğu bilinmektedir. Osteoblastların salgıladığı ALP-azın yerel olarak inorganik fosfat konsantrasyonunu artırıp kollajeni aktive ettiğinden, kollajen ipliklerin yüzeyinde kalsiyum tuzları çökmektedir. Bir miktar ALP-az diffüzyonla kana da geçtiğinden, ALP-az'ın kandaki düzeyi kemik yapım hızını yansıtır (Paker 1993).

Osteositler

Osteositler, gelişmesi tamamlanan kemiğin başlıca hücrelerdir. Kök aldıkları osteoblasttan daha küçüktürler. Osteoblastlardan gelişen osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakünler içinde yerleşmişlerdir. Her lakünde sadece bir osteosit bulunur. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik matriks kanalcıkları (kanalikülü ossei) içinde devam eder. Komşu osteositler sitoplazmik uzantıları aracılığıyla birbirleriyle yaptıkları bağlantılarla, besin maddelerinin hücreden hücreye geçişini sağlarlar. Bu hücreler kemik matriksinin canlılığının sürdürülmesinde aktif rol oynarlar. Osteositlerin ölümünün ardından matriks rezorpsiyonu gerçekleşir (Paker 1993, Junguiera ve ark 1998).

Osteositlerin işlevine yönelik başlıca iki varsayım bulunmaktadır; bunlardan ilki, osteositlerin, osteoblastların olgun şekilleri olduğu ve canlı kaldıkları sürebeyunca içinde lokalize oldukları matriksin canlılığını sürdürdükleri yönündedir. Osteositlerin kemik dokusundaki işlevlerine ilişkin ikinci varsayım ise, osteoliz yaparak kan kalsiyum düzeyini dengeledikleridir (Soydan 1992).

Osteoklastlar

Osteoklastlar oldukça iri, ileri derecede dallanan sitoplâzmaları olan hücrelerdir. sitoplazmik dalları oldukça düzensiz biçimli ve farklı kalınlıktadır. Bu hücreler kemik rezorpsiyonunun gerçekleştiği bölgelerde, enzimatik faaliyetle açılan Howship lakünü adı verilen çukurcularda yerleşirler. Aktif kemik rezorpsiyon sahaları, kemik yüzeyindeki Howship lakünlerinde osteoklastların bulunmasıyla karakterizedir. Bu kemik rezorpsiyon alanları düzensiz biçimlidir ve osteoid içermez. Bu da osteoklastların sadece mineralize kemik matriksinin bulunduğu alanlarda aktif olduğunu düşündürmektedir (Revell 1986, Junguiera ve ark 1998).

Osteoklastlar kandan kemik dokusuna geçen monositlerin sitoplazmik füzyonuyla oluştuklarından önceki yıllarda mononükleer fagositik sistemin kemik dokusundaki üyeleri olarak kabul edilmekteydi. Bununla birlikte son yıllarda, aktif fagositik özelliği olmayan bu hücrelerin sadece kemik yıkımıyla görevli oldukları kabul edilmektedir (Paker 1993, Junguiera ve ark 1998).

Osteoklastlar mitozla bölünmezler. Çok çekirdekli (6-50 çekirdekli-polikaryotik) olmaları, tek hücreli birçok hücrenin sitoplâzmalarının kaynaşmasından oluştuklarını göstermektedir. Osteoklastlar, osteoblastlarla birlikte mekanik streslere bağlı olarak kemiğin yeniden şekillenmesine, plastisite etkinliğini en iyi şekilde gerçekleştirebilmesine olanak sağlarlar. Kemikte depolanmış olan kalsiyumun kana geçmesini de sağlar. Osteoklastların sayı ve etkinlikleri hormonal denetim altında olup, paratiroid (parathormon) ve tiroksin hormonları etkisi altında artar, kalsitonin ve östrojen hormonları etkisi altında ise azalır (Soydan 1992).

1.1.4. Kemik Dokusu Türleri

Kollajen ipliklerin doku içindeki dağılımı yönünden iki farklı kemik dokusu türü vardır; bunlar primer kemik (olgunlaşmamış ya da kaba iplikli) kemik dokusu ve sekonder kemik (olgun ya da lamelli) kemik dokularıdır. Her iki kemik dokusu türü de aynı yapı taşlarından oluşur; ancak ipliklerin farklı tertiplenmesi nedeniyle histolojik ayrıcalık göstermektedir (Soydan 1992, Junguiera ve ark 1998).

Primer kemik embriyonik gelişim sürecinde, kırık iyileşmesinde ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen iplik dağılımının aksine, primer kemiğin ince kollajen iplikleri rastgele ve farklı yönlerde dağılım gösterir (Junguiera ve ark 1998)

1.1.5. Periosteum ve Endosteum

Kemiğin iç ve dış yüzleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan zarlarla örtülüdür, bu zarlardan dıştakine periosteum, içtekine de endosteum denir (Junguiera ve ark 1998).

Periosteum, ipliksel bir dış katmanla, hücre ve kan damarlarından zengin bir iç katman olmak üzere 2 katmandan oluşur.

Uzun kemiklerde periosteum, kemikleri saran (eklem kıkırdağı ile örtülü yüzeylerde, tendon ve kasların yapışma yerlerinde bulunmaz) sıkı bağ dokusu yapısındaki kemik zarıdır. İç katmanın kollajen iplikleri, alttaki kemik dokusuna giren kalın demetler (Sharpey iplikleri) oluşturur (Soydan 1992). Sharpey iplikleri

periosteumu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periosteum'un iç katmanı, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan, yassı hücrelerden (osteprogenitör hücreler) zengindir. Bu hücreler kemiğin büyümesi ve kemik defektlerinin onarımında başlıca rolü oynamaktadır (Soydan 1992, Junguiera ve ark 1998). Sharpey ipliklerini çevreleyen matriks kalsifiye olmamıştır, ya da daha az kalsifiye durumdadır. Bu ipliklerin sayısı, bulundukları anatomik bölgeye göre farklılık göstermektedir. Kafatası kemiklerinde, tendon ve kasların yapışma yerlerinde daha fazladır (Paker 1993).

Endosteum kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu yüzden endosteum periosteumdan oldukça incedir (Junguiera ve ark 1998). Süngerimsi kemik trabeküllerini çevreler ve hem osteojenik, hem hematopoietik özellik gösterir. Endosteum, vücudun gelişmesi sona erip kemik büyümesi sonlandıktan sonra da gerektiğinde osteogenik etkinlik gösterebilmektedir (Soydan 1992).

Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastların aralıksız olarak sağlanmasıdır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilmelidir (Junguiera ve ark 1998).

1.1.6. Osteogenezis

Embriyonik dönemde kemik dokusu iki şekilde gelişir: bunlardan ilkinde, zar halindeki kemik modeldeki osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) yassı kemikler oluşur. İkinci tür kemikleşmedeyse, önce kemiğin hiyalin kıkırdak modeli oluşturur ve bu model tedricen kemik dokusuna dönüşür (endokondral kemikleşme). Her iki yolla da ilk ortaya çıkan kemik dokusu primer ya da olgunlaşmamış (immatür) kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu (lamelli kemik dokusu) alır (Soydan 1992, Junguiera ve ark 1998).

İntramembranöz Kemikleşme

Yassı kemiklerden olan frontal ve pariyetal kemiklerin tamamıyla oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz

kemikleşmeyle meydana gelir. İntramembranöz kemikleşmenin, kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında da rolü vardır. Mezenkimal kemik taslağı içinde kemikleşmenin ilk önce başladığı noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Birçok kemikleşme merkezinin birbirleriyle birleşmesiyle spongiyöz kemik dokusu oluşur. Süngerimsi kemikteki trabeküller fazla kalınlaşmaz. Aradaki bağ dokusu giderek kan yapan, miyeloid dokuya dönüşür. Kompakt kemik, spongiyöz kemik geliştikten sonra da gelişimini devam ettirir (Paker 1993, Junguiera ve ark 1998).

Endokondral Kemikleşme

Temel olarak endokondral kemikleşme iki aşamadan ibarettir. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. İkinci aşama ise, indiferent mezenkim hücrelerinin kırıkdağı rezorbe etmeleri ve osteoblastların oluşmasıdır (Paker 1993, Junguiera ve ark 1998).

İntramembranöz kemikleşmeden farklı olarak endokondral kemikleşmede; önce mezenkim dokuda anatomik kemiğin olgun şeklinin küçük bir hiyalin kırıkdağı modeli oluşur ve kemikleşme bu kırıkdağı modelde başlar. Bu kırıkdağı model içinde kemikleşmenin gerçekleşmesi için önce kırıkdağı dokusunun yıkılması gerekir. Kırıkdağı yıkımı ve kemik yapımının yan yana seyretmesi nedeniyle endokondral kemikleşme daha karmaşık olaylar serisidir. Kırıkdağı modellerin kemikleşmesi modelin, diafiz bölgesini çepeçevre saracak biçimde kuşatan, bir periostal kemik halkası oluşumu ile başlar. Periostal kemik halkası, perikondral ve endokondral kemikleşmeyle oluşur (Soydan 1992).

1.1.7. Kalsifikasyon Mekanizması

Henüz; kalsiyum fosfatın organik kemik matriksi üzerine çökmesini yeterli olarak açıklayan, genel kabul görmüş bir hipotez bulunmamaktadır. Kalsifikasyonun, kalsiyum tuzlarının kollajen iplikler üzerine çökmesiyle başladığı bilinmektedir. İntrasitoplazmik veziküller içinde kalsiyum tuzlarının çökmesi, osteoblastların yardımıyla hızlandırılıp yoğunlaştırılır ve gerektiğinde hücre dışı aralığa salgılanır. Kemikleşme yüzeylerinde bulunan osteoblastların ürettikleri ALP-az enzimi, henüz bilinmeyen bir yolla kalsifikasyona yardım etmektedir. Osteoid maddenin

oluşumunu, 4-8 gün sonra kalsifikasyon izler. Kalsifikasyonun başladığı bölgeye kalsifikasyon çizgisi denir (Soydan 1992, Junguiera ve ark 1998).

1.1.8. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi

Kemiğin büyümesi, daha önce oluşan kemik dokusunun bir bölümü yıkılırken, aynı anda başka bir bölgede yeni kemik yapımıyla gerçekleşir (kemik yapım hızı kemik kaybından daha yüksektir). Böylece kemik büyürken şekli de korunur (Junguiera ve ark 1998).

Kemik, karşılaştığı farklı kuvvetlerin etkisiyle içyapısını yeniden şekillendirebilir. Örneğin, ortodontik apareyler aracılığıyla dişler ve çene kemiğine uygulanan kuvvetler bozuk pozisyonlu dişlerin düzeltilmesini sağlar. Çekme kuvveti uygulanan bölgelerde kemik yapımı, itme kuvveti uygulanan bölgelerde ise rezorpsiyon gerçekleşir. Böylece çene kemiğinin yeniden şekillenmesiyle dişlerin pozisyonları gerektiği gibi değiştirilebilir. Bu yeniden şekil alma yeteneği tüm kemikler için geçerlidir. Kemik şekillenmesi bütün yaşam boyunca sürmektedir (Soydan 1992, Junguiera ve ark 1998).

1.1.9. Kemiğin Yeniden Şekillenmesinde Lokal ve Sistemik Düzenleyiciler

Lokal Düzenleyici Faktörler

a. Polipeptit yapıda olanlar:

Hücre proliferasyonunu arttıran faktörler;

Ekstrasellüler faktörler(EGF, TGF α , TGF β , FGF, PDGF, insulin, vb.)

İntrasellüler faktörler (lenfosit, makrofaj, osteoblast kökenli olanlar)

b. Nonpolipeptit yapıdaki faktörler:

Prostaglandinler (rezorpsiyonda aktif rol oynayan mediyatörlerdir),

Flor (kemikte hidroksil iyonları ile yer değiştirerek florohidroksiapatit kristalleri oluşturmak suretiyle kalsiyum çözünürlüğünü azaltır),

Bifosfonat (kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek matriks oluşumunu artırır)

Adenozinler,

Fosfat,

Pirofosfat.

Sistemik Düzenleyici Faktörler

Bunlar; reseptörler aracılığıyla hedef hücelere etki eden hormon ve vitaminlerdir. Bu faktörler arasında: parathormon, kalsitonin (osteoklast rezorpsiyonunu inhibe eder), vitamin D, glukokortikoidler, cinsiyet hormonları ( strojen, progesteron ve androjen), tiroid hormonları, vitamin A ve vitamin K en önemlileridir ( atan 1998).

1.1.10. Kırık Onarımı

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemikte, nedbe (skar) dokusu oluşmaz ve kırık yapılanmayla iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık oluştuğu andan itibaren başlar ve düzenli kemik dokusunun oluşumu sonucunda kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (Kılıçoğlu 2002).

Kemik kırıklarının iyileşmesi ve dolayısıyla yeni kemik oluşumu, oldukça karmaşık bir işlemle gerçekleşmektedir. Kırık iyileşmesi, temelde bir bağ dokusu hasarı iyileşmesi olayıdır. Yumuşak doku iyileşmesinden farkı, osteoblast ve osteoklastların aktiviteleri sonucu özelleşmiş kalsifiye kemik dokusu oluşumudur (Altunatmaz 2004). Kemikte kırık şekillenmesi veya herhangi bir nedenle kemiğin bütünlüğü bozulursa, ayrılan parçanın dolaşımı da bozulmaktadır (Kekilli ve ark 2005). Kırık iyileşmesi, hala pek çok noktası aydınlatılamamış bir olaydır.

Bu durum bir bakıma normaldir, çünkü kırık uçları arasında yeni bir kemik köprüsü oluşmasında; matriks oluşumu, mineralizasyon ve remodeling gibi evreler birbirlerine karşı çalışıyormuş gibi görünen farklı hücrelerin ve farklı hormonların kordinasyon halinde çalışmasıyla gerçekleşmektedir ( etnus ve ark 2000).

Kırık oluşumunu takiben kemik bütünlüğünün yeniden sağlanabilmesi amacıyla kırık sahasında birçok rejeneratif değişiklik gerçekleşir. Komplike bir olay olan kırık iyileşmesi 3 evreye ayrılır:

- 1) Yangı (Enflamasyon),
- 2) Yenilenme (reparation),
- 3) Yeniden şekillenme (remodelling).

Bu evreler birbiri ile ilişkilidir ve geçici olarak birbiri ile iç içe girebilir.

Kırık oluşumuyla birlikte kırık bölgesinde enflamasyon başlar ve yaklaşık olarak 2-3 hafta devam eder. Enflamasyon, kallus şekillenmesini teşvik etmede önemli rol oynar ve kırıkta ya da kemik formu oluşuncaya kadar devam eder. Kemik rejenerasyonunda, parathormon, kalsitonin, vitamin D metabolitleri ve ALP-az gibi birçok faktör rol oynar ve bunların kan plazmasındaki seviyeleri rejenerasyon sırasında artar (Altunatmaz 2004).

Kapalı kırıklarda kırık sahasında şekillenen kırık hematomu, kırık iyileşmesi için gerekli iki önemli faktörü sağlar. Birincisi, oluşan hematoma ve daha sonra şekillenen kan pıhtısı, kırık uçları ve komşu yumuşak dokuların arasını doldurarak kırık bölgesinde, dayanma gücü çok az da olsa mekanik bir stabilite sağlar. Hematomun ikinci önemli özelliği ise; kırık bölgesinde matriks oluşumunu başlatan, osteoblastlara ve kondroblastlara dönüşen hücreleri kırık sahasına getirmesidir. Yara bölgesindeki hematoma IL-1 (interleukin-1), IL-6 (interleukin-6), PDGF, FGF, VGF gibi büyüme faktörleri salgılanmaktadır (Junguiera ve ark 1998, Barnes ve ark 1999, Kılıçoğlu 2002, Altunatmaz 2004).

Kırık iyileşmesinin ikinci aşaması yenilenme fazıdır. Bu aşamada osteogenezis devam eder ve kırık bölgesinde fibröz kallus oluşumu sürer (Altunatmaz 2004). Kırığın bağ dokusunda ortaya çıkan küçük kırıkta parçacıklarının endokondral kemikleşmesi yoluyla primer kemik dokusu (pro-kallus) oluşur. Kırık bölgesinde şekillenen pro-kallusun farklı bölgelerinde (periost-eksternal ve medulla-internal) aynı zamanlarda intramembranöz ve endokondral kemikleşme gerçekleşir (Barnes ve ark 1999).

Kırık bölgesindeki hematoma oluşturduğu fibrin ağı ve fibroblastlardan salgılanan kollajenlerin meydana getirdiği genç granülasyon dokusuna, bir hafta sonra osteoblast ve kondroblastların da gelmesiyle yumuşak provizyonel kallus şekillenir. Başlangıçta oluşan bu provizyonel kallus yumuşaktır. Daha sonra, osteoblastlar osteoid dokuyu oluşturur ve sahada prokallus şekillenir. Oluşan prokallus sert olmakla birlikte (primer kemik) hala dayanıksızdır. Prokallusun yerini yavaş yavaş kemiksi kallus alır. Bu aşamaya 4-6 haftada ulaşılır. Kırık, kallus aracılığıyla köprülendiği zaman, üçüncü faz olan yeniden şekillenme aşaması başlar. Bunun sonunda, Havers sistemi bulunan lamelli kemik yapısı oluşur (Altunatmaz 2004).

Kemikleşme ilerledikçe, kırık uçlarının hareketi giderek azalır ve kırık bölgesinde daha sağlam bir yapı oluşur ki, bu sağlamlık derecesi, kırık bölgesinin başarılı bir şekilde iyileşmesinde belirleyici rol oynamaktadır. Kallusun primer kemik dokusu zamanla rezorbe olur ve yerini sekonder kemiğe bırakarak kemiğin özgün yapısı yeniden oluşur (Junguiera ve ark 1998, Appel ve ark 2002).

Kemikte kırığın şekillenmesinden iyileşme tamamlanıncaya kadar, doğru konumda fiksasyonun ve iyileşmenin sağlanabilmesi için ilave desteğe ihtiyaç duyulmaktadır. Bu destek iyileşme süreci boyunca, alçı-atel-sargı-bandajlar, internal ve eksternal fiksatörler ve gerektiğinde kemik greftlerinin kullanılmasıyla sağlanır (Kar 1997).

1.2. Kemik Greftleri

Gerek cerrahi işlemler, gereksede patolojik nedenlerle oluşan kemik hasarlarında kemik rejenerasyonun sağlanması, ortopedik ve maksillofasiyal cerrahide en temel ve en önemli amaçlardan biridir. Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda kabul edilebilir bir fonksiyonel sonuç elde edilmesi için kemik greftlerinin kullanılması gerekebilir. Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu için birçok alternatif yöntem bulunmakla birlikte, en ideali defektin büyüklük, şekil ve antijenik olarak benzer özelliklere sahip olan bir başka kaynaktan temin edilen kemik dokusuyla rekonstrükte edilmesidir (Tommin ve ark 2002, Bafiarır 2005).

Defekt sahasına yerleştirmek amacıyla vücuttan tüm bağlantısı kesilerek alınan doku parçasına greft denir. İçeriklerine göre greft çeşitleri; deri (epidermis

veya dermis), dermis, dermis + yağ (derma-fat greft), yağ dokusu, kemik dokusu ve kıkırdak dokusu greftlerdir (Seyhan 2002).

Transplantasyon, sağlıklı vericiden (donör yani verici) alınan organ, doku veya hücrelerin alıcıya (recipient yani alıcı) aktarılması işlemidir.

Greft terimi canlıdan alınan biyolojik materyallerin alıcıya transplantasyonu anlamında kullanılırken, implant terimi inorganik materyallerin transplantasyonu anlamında kullanılmaktadır. Bu amaçla; greft materyalleri olarak, allojenik greftler, hayvanlardan elde edilen organik ve inorganik cansız materyaller ve sentetik materyaller kullanılmaktadır. Sentetik materyal olarak, seramik hidroksiapatit implantları, trikalsiyum fosfat implantları, çeşitli metaller ve bunların farklı formlarıyla kombinasyonları sayılabilir. Bu maddelere *Alloplastik materyaller* denir (Kökden ve Türker 1999).

Biyomateryallerin, vücutla etkileşmeye girmeyen kimyasal ve biyolojik bozunmalara dirençli olanlarına biyoinert, hafifçe etkileşime girenlere biyoaktif materyal adı verilir. Bunların in vivo ortamda çözünen ve absorbe olanlarına biyo bozunur (biodegradable) biyobozunur materyal denir (Toffe ve ark 1991).

1.2.1. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması

1. Kemik Esaslı Greft Materyalleri

2. Kemik Esaslı Olmayan Greft Materyalleri

3. Doğal Materyaller

1. Kemik Esaslı Greft Materyalleri

A. Otojen Kemik Grefti (Otogreft)

1. Kortikal kemik

2. Kansellöz kemik

a) Ağız içi kaynaklı

b) Ağız dışı kaynaklı

3. Kortikal ve kansellöz kemik

B. Homojen Kemik Grefti

1. İzogreft: taze kansellöz kemiği
2. Allogreft
 - a) Sterilize kansellöz kemik ve iliği
 - b) Dondurulup-kurutulmuş kemik
 - c) Dondurulup-kurutulmuş dekalsifiye kemik
 - d) Solventlerle dehidrate edilmiş kemik

C. Heterojen Kemik Grefti (Heterogreft, Ksenogreft)

1. Sığır kaynaklı hidroksiapatitler
2. Mercan kaynaklı hidroksiapatitler
3. At kaynaklı heterojen kemik grefti
4. Domuz kaynaklı heterojen kemik grefti

2. Kemik Esaslı Olmayan Greft Materyalleri

A. Doku Kaynaklılar

1. Dentin
2. Sement
3. Kıkırdak
4. Sklera
5. Duramater

B. Metaller

C. Jelâtin Film

D. Polimerler

Polimetilmetakrilat (PMMA)

Proplast

Polyaliyokzanon

Poliamid meç

Poliglaktin 910

Sert doku replasmanı

Polietilenler (poli tetrofloroetilen, PTFE)

Polipropilen

Silikonlar

E. Seramikler

1. Kalsiyum sülfat (Paris alçısı)

2. Kalsiyum alüminat

3. Biyoaktif cam ve cam seramikler

4. Kalsiyum karbonat

5. Kalsiyum fosfat

a) Rezorbe olanlar Trikalsiyumfosfat Hidroksi apatit

b) Rezorbe olmayanlar Yoğun hidroksi apatit
Poröz hidroksi apatit

6. Yağlı kalsiyum hidroksit süspansiyonu (rezorbe olan)

3. Doğal Materyaller

1. Kollajen
2. Demineralize kemik matriksi (DBM)
3. Kemik morfojenik proteinler (BMPS)
4. Trombositten zengin plazma (PRP-platelet rich plasma)

İmmünolojik açıdan greftler *otojenik*, *homojenik* (*allogreft*, *izogreft*) ve *heterojenik* (*ksenogreft*) olarak gruplandırılır. Bir kişinin bir bölgesinden başka bir bölgesine transplante edilen grefte otolog veya otojenik greft; aynı türün genetik olarak farklı iki bireyi arasında transfer edilen greft allogreft veya allojenik greft; farklı türlerin bireyleri arasında transplante edilen greft ksenogreft veya ksenojenik greft; monozigot ikizler arasındaki yapılan doku transplantasyonu izogreft veya izojenik greft olarak adlandırılır.

Kemik greftleri taze veya korunmuş olarak da sınıflandırılabilir. Taze greftler donörden direkt olarak transfer edilir ve bunlar genellikle otogreftlerdir. Kemik greftleri dondurularak, dondurulup kurutularak, radyasyon veya kimyasallardan geçirilerek korunmuş kemik greftleri elde edilir. Muhafaza edilmiş kemik greftlerinde bu metodların uygulanma amacı sterilizasyon ve greftin immünojenitesinin azaltılmasıdır. Korunmuş kemik greftleri arasında allogreftler bulunmaktadır (Kekilli ve ark 2005).

Greft materyalleri kullanılarak sağlanan rejenerasyonda, üç mekanizma söz konusudur. Bunlar osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyondur.

Osteogeneziste kullanılan kemik grefti materyalleri, içerdikleri biyoaktif moleküller sayesinde osteoblastlardan direkt olarak kemik dokusu oluşturma kapasitesine sahiptir. Dokuda farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin olmadığı ortamlarda bile bu tür organik maddeler osteogenezis kabiliyetine sahiptir. Osteojenik materyaller canlı kemik hücrelerini içerirler ve bu nedenle de yeni kemik oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle osteogenezis kapasitesine sahip olan tek greft materyali otojen kemiktir (Marx ve Saunders 1986, Fedi 1989).

Osteoindüksiyon, klasik anlamda osteoblastik aktiviteyi arttırarak kemik dokusu oluşumunun sağlanmasını ifade etmek için kullanılan bir terimdir. Otojen greftler ve demineralize kemikler osteoindüktif etkiye sahiptir. Osteoindüksiyon, greft yerleştirilen sahadaki mezenkimal hücrelerin kemik hücrelerine dönüşmesiyle gerçekleşir (Aybar ve Gümrü 2000, Tomak ve ark 2000).

Osteokondüksiyon; otojenik, allojenik veya alloplastik materyaller tarafından bir doku iskelesi oluşturularak, greft içindeki ve çevresindeki kapillerlerle osteoprogenitör hücrelerin alıcı bölgede artışıyla açıklanan kemik dokusu oluşumu sürecidir. Bu olayda greft veya biyoimplant, yeni kemik formasyonu için bir süre doku iskelesi gibi davranır (Sandor 2003).

Genellikle kemik ürünleri, osteogenezis için gerekli olan hücresel elementleri sağlayamazlar ve osteoindüktif olarak düşünülemezler. Sadece yeni kemik oluşumu için doku iskelesi hazırladıklarından osteokondüktiftirler (Thorwarth ve ark 2005). Ama son zamanlarda osteoindüktif etkili greftler de üretilmektedir (DBM, Osteoinductal).

Daha önce yapılan çalışmalar, biyomateryallerin osteoindüktif olabilmesi için bazı parametrelerin gerekli olduğunu göstermektedir. Biyomateryaller tarafından oluşturulan osteoindüksiyon, bilimsel çalışmalarla ortaya konmuş olmasına rağmen, mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır (Habiboviç ve ark 2005).

Otogreftler

Kemik dokusu, kandan sonra en fazla transplantasyonu yapılan dokudur. Halen kullanılmakta olan kemik greft materyallerinin avantajları kadar bazı dezavantajları da vardır. Otojen greft dışındaki tüm greft materyalleri organizma için yabancı cisimlerdir ve hepside belli oranlarda yabancı cisim reaksiyonu oluştururlar (Aybar ve ark 2000, Oktar ve ark 2002).

Oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda, osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olan otojen kemik greftleri öncelikli olarak tercih edilmekte ve günümüzde otojen kansellöz (spongiyöz) kemik grefti "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Bu kemikler, canlı hücre bulundurma kapasitesine sahip olduklarından, alıcı bölgede osteoblastları stimüle

ederler. Otojen greftler, greft alınan kişinin kendisine aktarıldıkları için HIV veya hepatit virüsleri gibi patojenlerin bulaşması ya da immün reaksiyon gelişme riski yoktur (Kökden ve Türker 1999, Tomak ve ark 2000, Tomin ve ark 2002, Atay ve Yılmaz 2005, Bafiarır ve ark 2005).

Bu greftlerin ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi, genel anestezi gerektirmesi, cerrahi işlem süresini uzatması, kan kaybını artırması, otogreftin erken rezorpsiyonu, donör bölgede ağrı, parestezi, hareket kısıtlılığı, verici sahada yüksek oranda morbidite oluşturmaları ve greft materyalinin istenilen miktarda elde edilememesi gibi bazı dezavantajları mevcuttur (Tomak ve ark 2000, Tomin ve ark 2002, Atay ve Yılmaz 2005).

Otojen kemik greftlerinin bu dezavantajlarından dolayı allogreft, ksenogreft ve sentetik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir (Tomak ve ark 2000, Atay ve Yılmaz 2005).

Allogreftler

Otogreftlerin alternatifleri allogreftlerdir. Son yıllarda allogreftler oldukça geniş kullanım alanı bulmaktadır. Allogreftlerin, otogreftlerin donör saha hasarı ve sınırlı miktarda elde edilmesi gibi dezavantajları yoktur. Bu greftler sağlıklı insanlardan veya kadavralardan elde edilmekte ve kemik bankalarında saklanmaktadır. Bunlar hazırlanma yöntemlerine göre, dondurulmuş kemik (deep-frozen), dondurulmuş kurutulmuş kemik (freeze-dried), demineralize kemik, deproteinize kemik, taze dondurulmuş ve solventlerle dehidre edilmiş kemik olarak gruplandırılabilir (Güven ve Saraçoğlu 2003, Laurencin ve Khan 2005).

Her ne kadar otojen kemik greftlerinin allogreftlerden daha iyi sonuç verdiği kanısı olsa da, birçok çalışmada allogreftlerin de otojen greftler kadar iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Bafiarır ve ark 2005). Allogreftin avantajlarının, dezavantajlarından daha fazla olduğu ileri sürülmektedir (Kekilli ve ark 2005). Allogreft kullanımının, verici saha morbiditesinin olmaması, kolay temin edilmesi, değişik büyüklük ve miktarlarda temin edilebilmesi, uzun süre saklanabilmesi ve kaynağının sınırlı olmaması gibi avantajları yanında; zayıf immünojenik olması, maliyetlerinin yüksek olması, revaskülarizasyon ve yeni kemik

formasyonunun geç gerçekleşmesi gibi dezavantajları da vardır (Loty ve ark 1990, Cheng ve Gebhardt 1991, Bafiarır ve ark 2005, Kekilli ve ark 2005).

Allogreftler, altın standart olarak kabuledilen otojen greftlerle karşılaştırıldığında kötü biyomekanik özellikleri ve düşük kaynama oranlarına sahiptir. Biyolojik olarak zayıf özellikte olup enfeksiyon ve enflamasyon riskleri taşımaktadırlar (Tomin ve ark 2002).

Allogreft kemik dokusu en iyi taşıyıcı-desteklerden biridir. Ama, potansiyel enfeksiyon riski ve zayıf immün reaksiyon riski nedeniyle, bunun yerine mineralize kollajen, kalsiyum fosfat seramikleri, hiyalüronik asit veya kollajen yapıda matriksler ve sentetik polimerler gibi taşıyıcılar geliştirilmiştir (Tomin ve ark 2002). Allogreftlerin antijenik potansiyeli, greftin dondurulması, saklanması ve işlenmesiyle azaltılabilmektedir (Bafiarır ve ark 2005).

Ksenogreftler

Heterojen terimi farklı türlerden alınan dokular için kullanılır. İnsanlarda heterojen kemik grefti (ksenogreftler) uygulamaları 17. yüzyıldan beri gerçekleştirilmesinin yanı sıra, maksillofasiyal bölgede son yıllarda daha sık uygulanmaya başlanmıştır (Kökden ve Türker 1999, Tuskan ve Yaltırık 2002).

Yapılan araştırmalar, ksenogreftlerin sentetik hidroksiapatitlerden daha kompleks bir yapıya sahip olmalarına rağmen, allogreftlere göre daha biyoyumlu olduklarını ortaya koymaktadır. Aynı zamanda porozite ve yüzey özellikleri allogreftlerden daha iyi olduğundan, osteointegrasyon başarısı allogreftlere oranla daha yüksektir. Ksenogreftler kortikal ve kansellöz kemiğe benzer mekanik özellikler gösterirler ve sentetik hidroksiapatitlere göre daha iyi rezorbe olma özelliğine sahiptirler (Shors 1999, Baver ve Muschler 2000, Nasr ve ark 2000, Okumuş ve Yıldırım 2005).

Ksenogreftler, memeli hayvan kemiklerinden veya mercan kabuklarından elde edilirler. At, domuz ve sığır ağıllara ait kemiklerin de bu iş için uygun olmakla birlikte, sığır kemikleri daha çok tercih edilmektedir (Revell 1986, Sandor ve Bela 2003).

Sığır kemiğinin inorganik matriksinin, kemik tamirinde kullanılması 1889 yıllarına dayanır. Bu materyal, alveol kenarının, periodontal veya periapikal lezyonların neden olduğu kemik kayıpları ve kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda ve hemostatik ajan olarak da kullanılmıştır (Pinheiro ve ark 2003).

Sığır kemik grefti transplantasyonu takiben hastalarda bir takım otoimmün hastalıkların oluşmasıyla 1960'lı yıllarda popülaritesini kaybetmiş, 1990'lardaysa kemik partiküllerinin deproteinizasyon metodlarının gelişmesiyle bu ürünlerin içeriği de yenilenmiştir. Söz konusu yöntemlerle kemiğin organik komponenti neredeyse tamamen ortadan kaldırılarak greftin antijenitesi azaltılmış ve alıcı dokunun toleransı arttırılmıştır (Revell 1986, Sandor ve Bela 2003).

Ksenogreftler genelde sığır kemiklerinin tam olarak deproteinize edilmesiyle elde edilirler. İşlemler sırasında doğal sığır kemiğinin organik bileşenleri tümüyle elimine edilir. Geriye kalan inorganik ürün, poröz hidroksiapatit partikülleridir ve hazırlanan materyal yapısal olarak insan kansellöz kemiğine benzer. Alıcı doku tarafından iyi tolere edilir. Bu greft materyali, iyileşmeye osteokondüktif yolla katkı yapar.

Sığır kaynaklı kemik grefti uygulamaları, son yıllarda insan sağlık konusunda önemli risk oluşturan ve priyonlarla bulaşan Deli Dana Hastalığını (DDH) (bovine spongiform encephalopathy, BSE) ve bunun insanlardaki varyasyonu olan Creutzfeldt-Jakob hastalığını gündeme getirmiştir. Bazı yazarlar, heterogreft uygulamalarında bu risk oranını sıfıra indirmek veya mümkün olan en düşük seviyede tutmak için DDH bulunmayan ülkelerdeki (örn: ABD) firmalar tarafından üretilen heterogreftlerin kullanılmasını önermektedir. Aynı zamanda, Dünya Sağlık Örgütü de kemik dokusunu prion hastalıkları bakımından güvenilir ilan etmiştir (Efeoğlu 2002, Mutaz ve ark 2004, Rekow 2003). Bununla birlikte, günümüzde DDH yüzünden sığır kaynaklı ksenogreftlerin insanlarda klinik olarak uygulanması hala tartışma konusudur. Bu gibi enfeksiyonların üstesinden gelebilmek için son zamanlarda at kaynaklı ksenogreftler üretilmiştir. Günümüze kadar atlardan insanlara bulaşan zoonotik bir hastalık etkeni bildirilmemiştir (Nienhuijsa ve ark 2006).

Mercan kaynaklı greftler osteokondüktif, kolay hazırlanabilen, kolay şekillendirilebilen, biyouyumlu ve düşük maliyetli greftlerdir. Yeni kemik oluşumunda osteokondüktif etki gösterirler. Kemiğe, yapısal olarak yakınlığı ve biyolojik olarak inert olması nedeniyle ideal bir greft materyali olduğu ileri sürülmektedir (Kökden ve Türker 1999). Mercan greftleri, direk olarak osteoblastik apozisyonlanmada iskelet görevi görür. Bu tür greftlerde, kemik iliğinden gelen hücreler malzemedeki porlara göç eder ve daha sonra damarlanma başlar. Bunu takiben, bir yandan osteoklastlar greft materyalinin rezorpsiyonunu sağlarken, diğer yandan osteoblastlar da yeni kemik oluşumunu sürdürürler. Doğal mercan uygulandığında, osteoblastik ve osteoklastik süreç 8-24 hafta arasında gözlenebilmektedir. Daha doğrusu, doğal mercan, osteoklastlar tarafından yavaş yavaş rezorbe edilirken, serbest kalsiyum iyonları osteoblastlar tarafından kullanılarak yeni kemik dokusu oluşturulur. Ancak, rezorpsiyonun derecesi, kullanılan greft materyalinin büyüklüğüyle ilgilidir. Graft materyali aşırı iri olduğunda rezorpsiyon gecikmekte ya da parsiyel olmaktadır. Bu greftin, mükemmel bir doku uyumu göstererek iyileşme süreci içinde tümüyle rezorbe olduğu ileri sürülmektedir (Kökden ve Türker 1999, Efeoğlu 2002, Rekow 2003, Mutaz ve ark 2004).

Ksenogreftler, farklı boyut ve şekillerde piyasaya sunulmuştur. Blok formları, plastik ve rekonstrüktif cerrahi ile maksillofasiyal cerrahide onlay greft olarak kullanılırken; granül formları periodontal kemik defektlerinde, çekim kavitelerinin doldurulmasında ve küçük kist operasyonlarında başarılı bir şekilde hem fonksiyonel ve hem de estetik kayıplarda rahatlıkla kullanılmaktadır. Bu greft materyalleri daha güçlü materyallerle birleştirilerek kombine olarak da kullanılabilirler (Tofe ve ark 1991, Kökden ve Türker 1999).

Ksenogreft ve allogreftlerin en önemli avantajlarından biri, otojen kemikle birlikte kemik greft genişleticileri olarak kullanılabilmesidir ki, böylece otojen kemik greftine olan ihtiyacı azaltmış olurlar (Revell 1986).

Sentetik Greftler

Otogreft ve allogreftlerin olumlu yanlarına rağmen, herbirinin sahip olduğu sınırlamalar alternatiflerini doğurmuştur. Başarılı greftlemenin iki temel kriteri olan

osteokondüksiyon ve osteoindüksiyondan yararlanarak araştırmacılar farklı alternatif greft mazemeleri geliştirmiştir. Bunların bazıları klinik kullanım için uygunken, bazıları ise hala geliştirilme aşamasındadır. Bu alternatif malzemelerin çoğunda doğal ve sentetik polimerler, seramik ve kompozit materyaller kullanılmaktadır (Laurencin ve Khan 2005).

İdeal bir sentetik greft; kemik yapıcı osteojenik hücelere dönüşerek farklılaşabilecek progenitör (kök) hücreleri, bu hücrelerin yerleşeceği ve gelişmesine uygun ortam sağlayacak olan osteokondüktif matriks yapıyı ve osteoprogenitör hücreleri etkileyerek kemik oluşturmalarını sağlayacak osteoindüktif proteinleri içermelidir (Tomin ve ark 2002).

Osteokondüktif etkiye sahip olan sentetik kemik materyallerinin en önemli dezavantajları osteojenik ve osteoindüktif aktivitelerinin olmamasıdır (Tomak ve ark 2000).

Yukarıdaki nedenlerle maksillofasiyal cerrahi alanında meydana gelen defektlerin tedavisi için farklı özellikteki greft materyallerinin karıştırılarak kullanımı da araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Buna göre düşük mekanik özellikli ancak yüksek osteokondüktif yeteneği olan bir greft materyali kendi özelliklerini tamamlayan diğer bir greft materyaliyle karıştırılarak kullanılabilir (Redondo ve ark 1997, Rabie ve ark 2000, Kucukkolbasi ve ark 2009).

1.2.2. Kemik Greftlerinin Fizyopatolojisi

Kemik dokusu birçok spesifik hücre içeren kompleks bir dokudur. Kemik dokusunun asıl hücreleri olan osteoblastlar kemik formasyonundan sorumluyken; osteoklastlar kemik rezorpsiyonundan sorumludur. Kemik matriksi inorganik ve organik matriksten oluşur. Kemiğin kan damarlarından zengin dolaşım ağı 3 kaynaktan beslenir. Bunlar periostal, endostal ve etraftaki yumuşak doku damarlarıdır. Kemikte kırık veya herhangi bir nedenle bütünlük bozulursa, ayrılan parçanın kan dolaşımı da bozulur.

Greft uygulanan bölgede operasyondan hemen sonra dakikalar içinde trombosit agregasyonu oluşur. Trombositler fibroblast büyüme faktörü (FGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörlerini salgırlar. 1-18 saat

içinde sahaya polimorfonükleer lökositler (PMNL) kemotaksisle uyarılarak sahada akümüle olurlar. Bunu 1-3. gün içinde sahaya mezenkim hücrelerinin göçü ve çoğalması takip eder. 5-9. günlerde kondrosit farklılaşması, 10-12. günlerde osteoblast farklılaşması ve primer kemik dokusu oluşumu, 12-18. günlerde osteoblastik aktivite artışıyla kemik remodellingi oluşur. Yirmibirinci günden sonra sahada kemik iliği oluşumu başlar. Canlı kemik greft hücrelerinden erken kemik oluşumu (pro-kallus formasyonu) cerrahi sonrasında 4-8. gün arasında gerçekleşir. Kansellöz kemik greftinin, yeni kemik oluşturma potansiyeli (yüzey alanı fazlalığına ve osteoblast göçüne bağlı olarak) kortikal greftten çok daha fazladır. Kemik remodelling sürecinde, osteoklastik aktiviteyi osteoblastik aktivite izler. Primer kemik dokusunun yerini sekonder kemik dokusuna ve bu işlem ömür boyu sürer.

Kemik greftlerinde 5 evre sonunda kemik şekillenmesi tamamlanır. Bunlar inflamasyon, osteogenezis, revaskülarizasyon, remodelling ve kemik şekillenmesi evreleridir. Kansellöz kemik greftleri genellikle tamamen rezorbe edilip alıcının kemik dokusu ile yer değiştirirken; kortikal kemik greftleri tamamen rezorbe edilemezler. Kansellöz kemikte operasyon sonrası 2'ci günden itibaren revaskülarizasyon başlarken, osteoklastlar vasıtasıyla greftin rezorpsiyonu da başlamış olur. Revaskülarizasyon greft çevresinde başladığından, kansellöz kemik greftinin orta kısmında nekrotik bir saha oluşabilir ve bu da radyolojik olarak dansite artışıyla izlenebilir. Enflamasyon, revaskülarizasyon ve osteoindüksiyon çok erken dönemde başlayan ve genellikle dinamik bir süreç iken, remodelling ve osteokondüksiyon aylar süren bir süreçtir. Kemik grefti iyileşmesinde 3 temel bileşene (komponent) ihtiyaç vardır:

1. Hücre komponenti: Osteoblastik ve osteoprogenitör hücrelerin kemotaksisle sahaya gelmesiyle revaskülarizasyon ve rejenerasyon başlar.

2. Büyüme ve farklılaşma faktörleri: En önemli büyüme faktörleri polipeptit büyüme faktörleri (PGF), FGF, PDGF ve IGF'dir. Farklılaşma faktörlerinden özellikle kemik morfojenik proteini (BMP-2 ve 7) greft iyileşmesinde çok önemli rollere sahiptir.

3. Kemik dokusu iskelesi matriksi: Bu iskele matriksi hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özelliğe sahiptir.

Kemik greftinin iki ana fonksiyonundan ilki, osteogeneze kaynaklık yapmak iken, ikincisi mekanik destek sağlamaktır. Travma, kemik tümörü operasyonu gibi kemik kayıplarında yük taşımayan alanlarda kemik defektini doldurmada kansellöz kemik grefti tercih edilirken; yük taşıyan alanda kemik defektini doldurmada kortikal veya kortiko-kansellöz kemik greftleri daha fazla kullanılmaktadır (Kekilli ve ark 2005).

Kemik grefti iyileşmesinde en önemli etken bölgenin kanlanmasıdır. Kemik matriksi, sitokinler, hormonlar ve alınan gıdalar iyileşmedeki diğer etkenler arasında sayılabilir. Radyasyona maruz kalan kemikte revaskülarizasyon ve rejenerasyon kabiliyeti önemli ölçüde azalır. Söz konusu nedenle kemiklerde greft uygulanmasından sonra daha sıklıkla iyileşme problemi görülür. İyi sabitlenmediklerinde kaynama problemi ortaya çıktığından, greftler, internal fiksasyonla sabitlenirler (Kekilli ve ark 2005).

Progenitör hücrelerin biyosentetik kemik greftlerine eklenmesi mutlaka gerekli olsa da, bu hücrelerin tek başlarına kullanımı yeterli değildir. Kemik üretiminin en önemli ve mutlaka gerekli parametrelerinden biri, osteogenezis sırasında progenitör hücrelerin yerleşeceği osteokondüktif bir iletim ortamının bulunmasıdır. Osteokondüktif matriksler greftleme alanında kemiğin iyileşmesini başlatacak olan hücrelerin tutunması, migrasyonu ve dağılımı için gerekli uygun ortamı sağlar. Yapı iskelesini ve uygun ortamı sağlayan bu materyallerin aynı zamanda biyolojik olarak çözünebilir olmasıda gereklidir (Tomin ve ark 2002).

Genellikle taşıyıcı matriksler osteoprogenitör hücreleri kendilerine çekme, migrasyonlarını kolaylaştırma ve neovaskülarizasyonu başlatma özelliğine sahiptir. Son aşamada yeni kemik oluşumu başladıktan sonra taşıyıcının işlevi tamamlanır ve zararlı artıklar bırakmadan emilmesi beklenir (Tomin ve ark 2002).

Greft materyalinin poröz özellik taşıması oldukça önemlidir. Zira greft materyalinin osteoblastların kolayca tutunabileceği, defekt bölgesinde anjiyogeneze rahatlıkla oluşabileceği ve materyalin içinde fibröz bağ dokusu proliferasyonu ile birlikte yeni kemik oluşumunun gerçekleşebileceği bir yapısal özellik göstermesi ancak porozite ile mümkündür. Leonetti ve ark'ları (2000), alloplastik greftlerin fiziksel özellikleri kadar kimyasal yapılarının da önemli

olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda partikül yoğunluğu, kristal hacmi, porozite ve hazırlama tekniğinin de klinik başarıda etkili olduğunu bildirmişlerdir. De Groot(1983), makro ve mikroporozitenin sert dokuda reaksiyon oluşturmalarının önemini vurgulayarak, partiküller arası mikroporozitenin rezorpsiyonu, makroporozitenin ise damarlanma ve yeni kemik oluşumu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Optimal mikroporozitenin 1-5µm ve makroporozitenin ise 100-200 µm olduğu rapor edilmiştir.

1.3. Devekuşu Yumurta Kabuğu

Devekuşu yumurtası ortalama 1,5 kg ağırlığında, 16 cm×12 cm boyutlarındadır. Yumurtayı çok güçlü bir kabuk sarar ki, bunun mekanik direnci 55 kg/cm² kadardır (Gautron ve ark 1996).

Yumurta kabuğu, en dışında bulunan ince bir film halindeki protein katmanı olan kütikula, kalsit kristalleri halindeki bir mineralize katman olan kalsiyum karbonat katmanı ile iki adet kabuk altı zarından oluşmaktadır. Kabuğun mineralize kısmında dikine yerleşmiş kristallerden oluşan tabaka halindeki süngerimsi katman ve içte yer alan meme başı benzeri uçlardan oluşan mememsi katman bulunur. Bu katmanların kalınlıkları dıştan içe doğru sırasıyla; kütikula katmanı 5-10 mikrometre, süngerimsi katman 200 mikrometre ve mememsi katman ise 110 mikrometre kadardır. Zarlarla birlikte, yumurta kabuğunun %91,87'si inorganik tuzlardan oluşur. İnorganik tuzların %98,4'ünü kalsiyum karbonat, %0,8'ini magnezyum karbonat, %0,8'ini trikalsiyum fosfat oluşturur. Kabukta %64 oranında protein, %1,7 oranında su ve %0,03 oranında lipit bulunur (Panheleux ve ark 1999).

Yumurta kabuğu, çeşitli mineraller, özellikle kalsiyum karbonat ile suda eriyen ve erimeyen matriks proteinlerinin bir kompozitidir. Mineral kısmının esasını kalsit formundaki kalsiyum karbonat (CaCO₃) oluşturur. Kalsit, kalsiyum karbonatın (CaCO₃) doğadaki en kararlı polimorfudur. Yumurtanın kireç kabuğu kanatlı hayvan türlerinin uterusunda (kabuk bezi) yapılıdır (Fernandez ve ark 2001).

Yumurta kabuğunun mineral matriksi %97'nin üzerindedir ve kabuk yapımı doğadaki en hızlı ve yüksek oranda kalsiyum biriktirilen biyo mineralizasyon işlemi olup, kalsiyum karbonat (CaCO₃) birikme hızı yaklaşık 0,33 g/saattir. İnorganik kısmın kalanı küçük miktarlarda fosfor (P), magnezyum (Mg), sodyum (Na),

potasyum (K), çinko (Zn), mangan (Mn), demir (Fe) ve bakırdan (Cu) oluşur. Kabuk nispeten yüksek miktarda stronsiyum (Sr) da içerir. Kurşun (Pb), alüminyum (Al), kadmiyum (Cd), ve civa (Hg) ile vanadyum (V), bor (B), demir (Fe), çinko (Zn), fosfor (P), magnezyum (Mg), azot (N), flor (F), selenyum (Se), bakır (Cu) ve krom (Cr) düzeyleri ölçüm sınırlarının altındadır. Flor (F), selenyum (Se), bakır (Cu), krom (Cr) ve stronsiyum (Sr) düzeyleri hayvana verilen yemdeki oranlara bağlı olarak değişmektedir ve bu durum söz konusu elementler bakımından zengin kabuk elde edilmesi için bir avantajdır (Dominguez-Vera ve ark 2000).

Yumurta kabuğunun dekalsifikasyonu ile elde edilen fraksiyonun kuru maddesinin yaklaşık %24,11'i kalsiyum, %0,04'ü fosfat, %0,23'ü de magnezyumdan oluşur. Yumurta kabuk tozu, insanlar için günlük alınması önerilen miktarlarla karşılaştırıldığında yüksek düzeylerde kalsiyum ve stronsiyum içerir. Güçlü toksik etkileri olan kurşun (Pb), civa (Hg), alüminyum (Al) ve kadmiyum (Cd) oranları ise çok düşüktür. Yumurta kabuğunun elemental analizinde %32 oranında kalsiyum, %3 magnezyum, %20 karbon, %43 oksijen tespit edilmiş, klor (Cl), azot (N), fosfor (P), potasyum (K), sodyum (Na) ve sülfür (S) iz oranda bulunmuştur (Dominguez-Vera ve ark 2000, Fernandez ve ark 2001, Nakano ve ark 2001).

Stronsiyum (Sr) insanlarda kemik üzerinde anabolizan bir etkiye sahiptir ve dişlerin mine katmanını güçlendirir. Etkili miktarları tam kesin değilse de, günde 170 mg alınan stronsiyum (Sr) kemik yoğunluğunu artırmaktadır. Uygun miktarda alındığında ise hidroksiapatit kristaline yapışan stronsiyum (Sr), kemiğin bükülme direncini artırır. Normal alınması önerilen günlük miktarın 1-3 mg olduğu hesaplanmıştır ki, bu miktar yumurta kabuğundan karşılanabilir. Zira, yumurta kabuğu oldukça yüksek (380 mg/g) stronsiyum (Sr) içeriğine sahiptir. Yumurta kabuğunda bulunan diğer elementlerden flor (F), bakır (Cu) ve selenyum (Se) da kemik metabolizması üzerinde olumlu etkiye sahiptir (Fernandez ve ark 2001, Nakano ve ark 2001).

Yumurta kabuğunun biyokimyasal analizlerinde, kabuk ekstraktlarında kemik yapımı ve yeniden yapımında önemli rol oynayan ovotransferrin, ovocleidin-17, ovocleidin-116, osteopontin, ovalbümin, ovocalyxin-21, ovocalyxin-25, ovocalyxin-32, ovocalyxin-37, clusterin ve lizozim varlığı gösterilmiştir. Bunlar, kabuk oluşumu esnasında, kalsit kristalinin oluşumunun başlamasını, morfolojisini ve presipitasyon

hızını düzenleyen biyoaktif moleküllerdir (Gautron ve ark 1996, Panheleux ve ark 1999, Dominguez-Vera ve ark 2000, Fernandez ve ark 2001, Nakano ve ark 2001). Kabuğun organik matriksinde bulunan proteinlerden ovocleidin-17, 500µg/ml konsantrasyonda kalsit kristallerinin agregasyonunu kolaylaştırır ve kristal morfolojisini değiştirir. Ovotransferrin ise kristal büyüklüğünü azaltır, 500µg/ml konsantrasyonda kristallerin uzamasına yol açar. Diğer bir protein olan ovocalyxin-32 kabuğun dış katmanı olan palizad katmanının dış bölgelerinde, yani vertikal katman ve kütikula katmanında bulunur. Bu nedenle, mineralizasyonun sonlandırılmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Ovocalyxin-36 kabuk formasyonunun kontrolünde rol oynar. Ovocleidin-116 palizad katmanında bulunur ve mineralizasyon kontrolünde primer bir rol oynar. Kabuktaki matriks proteinlerinden osteopontin (OPN) fosforile bir glikoproteindir ve kemikle böbrekte yüksek oranda bulunur. Osteopontin (OPN), osteoblastların matrikse adezyonunu artırması yanında hidroksi apatite de bağlandığından, kemik formasyonu ve yeniden yapımında çok önemli rollere sahiptir(Gautron ve ark 1977, Glimcher 1989, Lavelin ve ark 1999, Dominguez-Vera ve ark 2000). Osteopontin (OPN), protein yapısındaki kabuk zarı ipliklerinin öz (core) bölgelerinde bulunur. Kabuk osteopontini (OPN), in vitro ortamda kalsit kristali büyümesini durdurur. (Clusterin de 2003 yılında yumurta kabuk matriksinde varlığı gösterilen bir moleküldür) mamillar ve palizad katmanlarda bulunur. Bu madde, muhtemelen stres koşullarında sentezlenen proteinlerin kararlı hale gelmesi ve presipitasyonunun engellenmesinde rol oynayan bir şaperon olarak görev yapar. Kabukta bol miktarda glukozaminoglikan (GAG) da bulunur. Yumurta kabuğundaki glukozaminoglikanlar (GAG) eşit oranlarda hiyaluronik asit ve galaktozaminoglikan içerir. Galaktozaminoglikanlarda kondroitin sülfat ve dermatan sülfat baskındır. Keratan sülfat kristal oluşumunun nükleasyon aşamasında rol oynar. Dermatan sülfat zincirinden oluşan ovoglikan, polianyonik ve asidik bir glukozaminoglikandır (GAG). Yüksek kalsiyum afinitesi gösterir ve kristal büyümesini düzenler (Durmus ve ark 2007).

Bağ dokusunun şekilsiz temel maddesinin en önemli bileşenleri olan glukozaminoglikanlar (GAG) yumurta kabuğunun organik matriksinde de bol miktarda bulunur ve buradaki elektrolitlerin kontrolü yanında su tutulması gibi olayları da kapsayan çok önemli fizyolojik fonksiyonlarının olduğu bilinmektedir. Glukozaminoglikanlar (GAG), hekzozamin ve üronik asidin oluşturduğu iki

moleküllü disakkarit moleküllerinin uç uca eklenmesiyle oluşan anyonik polisakkaritlerdir. Glukozaminoglikanların (GAG) çoğunluğu, proteoglikanları oluşturmak üzere öz (core) proteinlerine bağlanmış durumdadır. Tavuk yumurta kabuğundan elde edilen glukozaminoglikanların (GAG) analizi sonucunda; bunların %48'inin hiyaluronik asit, %52'sinin de galaktozaminoglikanlardan (GAAG) oluştuğu tespit edilmiştir. Galaktozaminoglikanlar (GAAG) ise kondroitin sülfat-dermatan sülfat ortak polimerlerinin (kopolimerleri) en fazla oranda bulunduğu glukozaminoglikanlardır. Glukozaminoglikanlar (GAG) farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrilerinde çok geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Örneğin, hiyaluronik asit kozmetiklerde nemlendirici olarak ve eklem yangılarının (artrit) tedavisinde kullanılmaktadır. Kondroitin sülfatın kırıkta koruyucu ve anti-aterojenik etkilerinin olduğu deney hayvanlarında ortaya konmuştur. Kabukta az miktarlarda, hücre farklılaşması ve çoğalmasını sağlayan faktör-1 (transforming growth factor-1, TGF-1), kalsitonin ve progesteron da tespit edilmiştir (Durmus ve ark 2007).

Son yıllarda, asitte çözünen yumurta kabuğu matriks proteinleri içinde çok sayıda, histonlar ve beta-defensinler gibi potansiyel antimikrobiyal proteinler tespit edilmiştir. Yumurta kabuğunda Gram-negatif bakterilerden *E. coli* D31 ve *P. aeruginosa*nın çoğalmasını engelleyen anti bakteriyel maddeler vardır. Gram-pozitif bakteriler dikkate alındığında *B. subtilis* ve *S. aureus*un çoğalmasını engellemektedir. Bu etki, kabuğun kütikula ve dış kabuk protein ekstraktlarındaki lizozim aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Lizozim, 14,4 kDa ağırlığında 129 aminoasitlik bakteri hücre duvarlarını parçalayan bir enzim olup, bu etkinliğini; peptidoglikandaki N-asetilmuramik asit ve N-asetil-D-glukozamin rezidüleri arasındaki ve kitodekstrinlerdeki N-asetil-D-glukozamin rezidüelleri arasında bulunan 1,4-beta-bağlarının hidrolizini katalize ederek gösterir. Antimikrobiyel etkileri yanında, kalsiyum karbonat yapısındaki kalsit kristallerinin morfolojisinin belirlenmesinde de rolü olduğundan, kabuk şekillenmesi esnasındaki mineralizasyonda da önemli roller üstlenir. Yumurta akı ve yumurta kabuğunun organik matriksinde de bol miktarda lizozim bulunur. Sahip olduğu antibakteriyel özellikleri nedeniyle lizozim, periodontitise yol açan bakterilere karşı ve ağız mukozası enfeksiyonlarından korunmada, diş macunu ve gargara gibi ağız bakım ürünlerinde yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Lizozimin oral ve topikal uygulamasının herpes simpleks virüsünden korunmada etkili olduğu ve HIV'e karşı da etkili olduğu tespit edilmiştir.

Yumurta kabuk matriks proteinleri bir defans mekanizmasına sahiptir. *Pseudomonas aureginosa*, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* ortamda 100 µg/mL eriyebilir yumurta matriks kabuk proteini bulunduğunda inhibe olmaktadır. Öte yandan, *Escherichia coli* ve *Salmonella enteritidis*, 4 saate kadar zayıf biçimde inhibe olmaktadır. Proteinler bakteri hücre zarını parçalayarak etkilerini göstermektedir (Dupoirieux ve ark 2001).

Yumurta kabuğunda transferrinler de bulunmaktadır. Bunlarda novotransferrin, ortamda 1 mg/ml ve daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda ortamdaki demiri bağladığından bakteriler üzerinde olumsuz etkisi vardır. Yumurta kabuğunda porlara yakın yerleşen ovotransferrin burada antibakteriyel etkisini gösterir. Ovokaliksin-32 (OCX-32) yumurta kabuğunun kütikula ve dış kabuk katmanlarında bulunan diğer bir antibakteriyel maddedir. B. Subtilisin çoğalmasını inhibe eder ve karboksipeptidazı inhibe edici aktiviteye de sahiptir. Yumurta kabuk matriksinde ovokaliksin-36 (OCX-36) bulunur. Bu protein bakteri permeabilitesini artıran lipopolisakkarid bağlayıcı proteinler ve yumurta kabuğunda savunma görevi yapan Plunc protein ailesi üyeleriyle benzerliğe sahiptir. Asitte çözünen yumurta kabuk matriks protein fraksiyonunda bulunan histon ve kanatlı beta-defensinleri gibi potansiyel anti mikrobiyel proteinlerin *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus* ve *S. Aureusa* karşı etkili oldukları tespit edilmiştir(Lavelin ve ark 1999).

Özetle, Devekuşu yumurta kabuğunun %96-97'si, başlıca kalsit formunda olan kalsiyum karbonat, %1,9'u kalsiyum fosfat ve %0,7'si trikalsiyum fosfat olan inorganik matriksten oluşur. Yumurta kabuk kalsiti, HA sentezinde hammadde olarak da kullanılmaktadır. Kabukta hidroksil apatit de bulunur. Organik matriks %4 civarındadır ve başlıca glikoproteinler ve proteoglikanlardan oluşur. Kabuğun organik matriksinde 520 farklı protein bulunduğu tespit edilmiştir. Bunların önemli bir kısmı kristal nükleasyonu ve kristal büyümesiyle kristal formunun kontrolunda görevlidir. En bol bulunanları; ovocleidin-17, ovocleidin-116 ve ovocalyxin-36'dır. Kabukta kristal nükleasyonu ve büyümesini kontrol eden Tip-X kollajen vardır (Lavelin ve ark 1999,Dupoirieux ve ark 2001,Durmus ve ark 2007).

Devekuşu yumurta kabuğunun Karbon (C)/Kalsiyum(Ca) oranı kristal katmanında 0.6, koni katmanında ise bunun 2 katıdır. Magnezyum miktarı kristal katmanı %3, koni katmanında %1'dir. Kanatlı yumurtası kalsiyum(Ca) ve bikarbonat

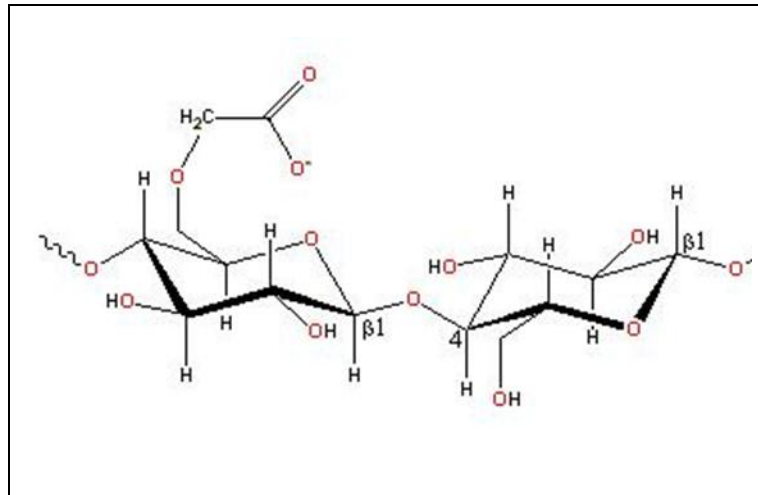
iyonlarından yana süpersature durumdaki ve konsantrasyonları kabuk yapım evresine göre değişen proteinlerden zengin uterusun aselüler ortamında yapılır(Durmus ve ark 2007).

Kemik greftlerinin emilim hızı da oldukça önemlidir. Graftın, üstten örtü malzemesi (onlay) olarak, ara bölgede (interpozisyonel) veya perimplant olarak yerleştirilmiş olması emilim hızının farklı olmasını gerektirir. Onlay greftlerde rezorpsiyonun minimal olması beklenirken, interpozisyonel ve periimplant greftlerde hızlı rezorpsiyon beklenir. Devekuşu yumurta kabuğundan hazırlanan kemik greftlerinin rezorpsiyon hızı partikül büyüklüğü ve kullanılacak matriks malzemesinin özelliğine bağlı olarak değişmektedir. Öte yandan, kemik greftinin yüzey yapısının mikroporozitesi yanında biyobozunurluğu da iyileşmede önemli bir rol oynar. Devekuşu yumurta kabuk partikül yüzeyi kemik iyileşmesi için uygun ve yeterli yüzey mikroporozitesine sahiptir (Durmus ve ark 2007).

1.4. Karboksimetil selüloz

Karboksimetil selüloz (CMC) ya da sodyum-karboksimetil selüloz (CMC) gıdalarda kıvam arttırıcı katkı maddesi olarak kullanılmakta ve E-466 olarak numaralandırılmıştır (Yang ve ark 2009).

CMC anyonik, suda çözünebilir polimer selülozun karboksile edilmesiyle üretilir ve selüloz eterleri grubuna girer. Kimyasal formülü $C_6H_7O_2(OH)_2OCH_2COO^-$ olup, beyazımtırak sarımsı renkte ve ipliksel yapıda bir moleküldür (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Karboksi metil selülozun kimyasal formülü

CMC sıcak ve soğuk suda çözünebilir, organik çözücülerde çözünmez, su/alkol sistemleriyle uyumludur. CMC'nin fonksiyonel özellikleri selülozun yapısal özelliklerine (örneğin; içerdiği hidroksi gruplarına) bağlıdır. Kullanıldığı ürünlerde viskoziteyi artırır.

CMC'nin doğal pH'ı 8,25 iken ticari olarak daha iyi çözünmesi amacıyla 7-7,5 pH'ta üretilir. Ürünün pH'ı düşürüldükçe çözünürlüğü de azalır, 4 ve altı pH'larda suda çözünmez hale gelir.

Koyulaştırıcı, su tutucu, sabitleyici, kolloid engelleyici, süspansiyon durumunu koruyucu, geciktirici, akıcılığı kontrol edici olarak gıda endüstrisi ve diğer endüstrilerde kullanılır. Yağlara ve organik çözücülere karşı dayanıklı, su ve oksijen geçirgenliği olmayan ince tabakalar oluşturur (Yang ve ark 2009).

CMC, kozmetikte kıvam arttırıcı, kıvam koruyucu, koku sabitleyici, su bağlayıcı, tabaka oluşturucu, jelleştirici ve köpük arttırıcı olarak kullanılır. Diş macunlarında, şampuanlarda, kremlerde, losyonlarda ve jel halindeki ürünlerde kullanımı yaygındır.

Eczacılıkta geniş kullanım alanı vardır. Uçucu olmayan göz damlalarının içeriklerinde yağlayıcı olarak kullanılır ve bu özelliğiyle gözde kurumayı engeller. Kremlerde, merhemlerde ve losyonlarda kıvam arttırıcı, sabitleyici ve film oluşturucu olarak kullanılır. Jel ürünlerde jelleştirici, koyulaştırıcı, kolloid engelleyici ve film oluşturucu olarak kullanılır. Yüksek dayanıklılık özelliği ile tabletlerde bağlayıcı olarak kullanılır. İshal haplarının içeriğinde, su bağlayarak hacim arttırma özelliği yüzünden kullanılır. Şuruplarda koyulaştırıcı olarak kullanılır. Süspansiyonlarda koyulaştırıcı ve yapı koruyucu olarak kullanılır.

1.5. Jelatin

Jelatin, sığır, domuz, balık ve kümes hayvanları gibi omurgalılarda bulunan kollajenin kısmi hidroliziyle elde edilen bir hayvansal üründür. Günümüzde başlıca hammadde olarak domuz ve sığırın kemik ve derileri kullanılmaktadır(Hou ve ark 2009).

Sıcaklığın etkisiyle kollajen ipliklerini oluşturan moleküller arası bağlar kırılır. Hidrolize olan bu madde öğütülür ve jelâtin elde edilir. Yüksek oranda su tutan bu madde sıcaklığın etkisiyle jel ve sol durumu arasında değişen özellikler gösterir. Jelâtin ısıtıldığında sıvılaşır; soğuyunca katılaşır. Jelâtin bu özelliğiyle ve kimyasal bileşimiyle kendisinden türediği kollajene benzer(Gómez-Guillen ve ark 2010).

Jelâtin solusyonları viskoelastik akım ve çift kırılımlı akış gösterirler. Jelâtin soğuk suyla temas ederse, bir kısım madde çözünür. Jelâtinin çözünebilirlik derecesi üretim yöntemine bağlıdır. En yaygın şekliyle, jelatin nispeten konsantre asit içinde dağılır. Bu çözeltiler büyük bir kimyasal değişikliğe uğramadan 10-15 gün kararlı halde kalabilir. Jelâtin aynı şekilde çoğu polar solventlerde çözünebilir. Jelatin jeller, küçük bir sıcaklık değişimiyle hal değiştirebilirler(Mendis ve ark 2005).

Sıcaklık yükselirse, jelâtinin kalitesine ve konsantrasyonuna bağlı olarak jel akışkan hale gelebilir; ya da donma noktasında kristallenir. Mekanik özellikleri sıcaklığa, daha önceki hal dönüşüm sayısına (yani evveliden kaç kez jelleşip katılaştı ise) ve zamana karşı çok hassastır. Jelâtinin sudaki çözeltisinin viskozitesi, jelatin konsantrasyonundaki artışta ve soğukta ($\approx 4^{\circ}\text{C}$ de) artar (Yang ve ark 2008).

Bilindiği üzere, biyolojik aktivite gösteren peptidler (BAP), insan beslenmesi ve eczacılık uygulamalarında kullanılabildiklerinden dolayı insan sağlığı üzerinde de önemli etki gösterirler. Şişme ve çözünme gibi temel hidrasyon fonksiyonları olan jelatin, aynı zamanda biyolojik olarak aktif özellikteki peptidlerin de kaynağıdır. Bu tip peptidler, genelde jelâtinden enzimatik proteoliz ile elde edilir. Bu amaçla kullanılan ticari proteazlar; tripsin, kimotripsin, pepsin, alkalaz, properaz E, pronaz, kollajenaz, bromelin ve papaindir (Yang ve ark 2008). Ayrıca balık iç organlarından elde edilen enzimatik ekstraktlardan üretilen proteaz ile mikrobiyal kaynaklı bir enzim olan alkalaz da biyolojik olarak aktif peptidlerin üretiminde kullanılabilir (Kim ve ark 2006). Jelâtinden üretilen peptidlerin antioksidant ve antihipertansif (kan basıncını düşüren)/ACE (anjiotensin dönüştürücü enzim) inhibitör aktiviteleri vardır (Mendis ve ark 2005). Ayrıca bu peptidler, antimikrobiyel aktivite, mineral bağlama kapasitesi ve lipid seviyesini düşürücü etkiye, bağışıklık sistemini düzenleyici aktiviteye ve ayrıca kemik, deri ve mafsallar üzerinde faydalı etkilere sahiptirler (Hou ve ark 2009, Gómez-Guillen ve ark 2010).

Kullanım alanları; fotoğraf endüstrisi, kozmetik endüstrisi, gıda endüstrisi, tıp ve eczacılık endüstrisi, beslenme ve sağlık endüstrisidir.

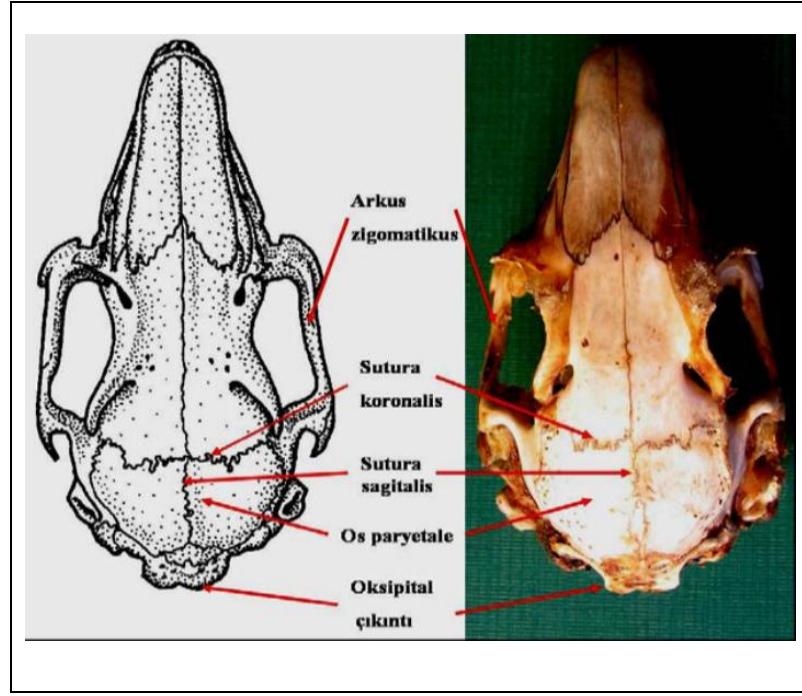
Jelâtin, çok fonksiyonlu bir hidrokolloiddir; bu sebeple gıda, eczacılık, kozmetik, tıp ve fotoğraf ürünlerinde yaygın bir kullanım alanına sahiptir.

Jelâtin, acil veya tıp da kullanılan serumlarda (plazma ikamesi olarak), kapsüllerde, vitamin kaplama materyallerinde, pastillerde, tabletlerde, damlaların üretiminde, macun kaplamalarında, sünger üretiminde ve yeni geliştirilen aşıların formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Gıda ve sağlık alanlarında jelâtin, kolesterol, şeker ve yağ içermeyen bir protein kaynağı olarak kullanılır. Kollajenin aksine sindirimi kolaydır ve insan metabolizmasında tamamen yıkıma uğratılır. Uzmanlara göre jelâtin, iskelet ve omurilik sistemi ile özellikle kemik, kırık, tendon ve ligamentler üzerinde rejeneratif etkide bulunmaktadır. Yine, jelâtinin, saçları kuvvetlendirdiği, bağ ve destek dokularını da güçlendirerek deriyi sıkılaştırdığı, saçlara parlak bir görünüm ve tırnaklara dayanıklılık kazandırdığı ileri sürülmektedir(Gómez-Guillen ve ark 2010).

1.6. Tavşan Kraniyumu Anatomisi

Tavşan kafatası dar ve uzundur. Kafaya göre oldukça geniş ve derin orbital çukurlukları ve son derece güçlü zigomatik ark belirgindir. Protuberantia oksipitalis eksterna oldukça belirgindir. Frontal kemik ön tarafta kavum kranii'nin tavanını yapar ve belirgin bir proses supraorbitalis'e sahiptir. Parietal kemikse arka tarafta kavum kranii'nin tavanını yapar ve kafanın genel yapısına uygun olarak dar ve uzun bir yapıya sahiptir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Tavşan kraniyumunun üstten görünümü.

Dişhekimliği ve tıpta, kemik defektlerinin onarılması amacıyla kullanılabilecek farklı greft materyallerinin geliştirilmesi için yoğun olarak çalışılmaktadır. Günümüzde, osteojenik özelliklerine bağlı olarak en fazla otojen kemik grefti tercih edilmekteyse de, ikinci bir cerrahi girişim gerektirmesi, donör sahasının enfekte olma riski, sınırlı miktarda materyal sağlanabilmesi gibi nedenlerle farklı kaynaklardan elde edilen greft materyallerinin kullanıma sokulması gerekmektedir. Kullanılan kemik grefti materyallerinin biyolojik uyumluluğunun iyi olması, osteojenik aktiviteyi indüklemesi, kemik yapımı için çatı oluşturması beklenirse de, bu özelliklerin hepsine sahip olan bir kemik grefti henüz geliştirilememiştir. Bu yüzden ideal greft materyali geliştirme çalışmaları halen devam etmektedir.

Bu çalışmada, elde edilmesi kolay, ucuz, doğal bir biyoseramik materyal olan devekuşu yumurta kabuğunun kaplama işlemi uygulanmadan, karboksimetil selülozla veya jelâtinle kaplanarak tavşan kafatasında deneysel olarak oluşturulan olan kritik büyüklükteki (6 mm) kemik defektlerinde greft materyali olarak kullanılabiliirliği; klinik, radyolojik, histolojik ve histomorfometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir.

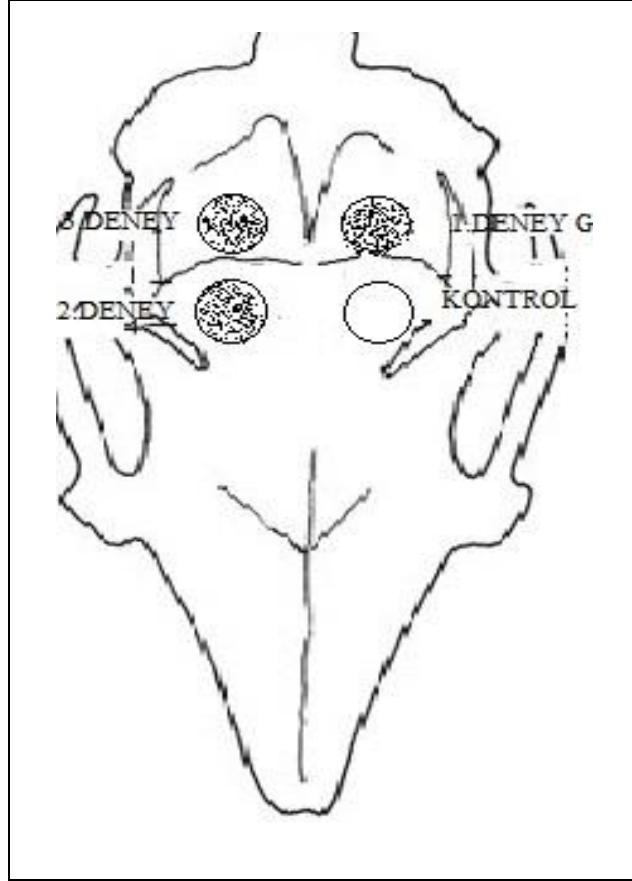
2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Bu çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 25 Nisan 2011 tarih ve 2011-034 sayılı kararıyla onay alındı (Bkz. EK-A).

Bu deneysel çalışmada 10–12 aylık, erkek ve ağırlıkları 3,3-4,2 kg arasında olan (ortalama ağırlık; 3,7 kg $\pm$ 0,15) 20 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Çalışmada kullanılan hayvanlar Veteriner Hekim tarafından kontrol edildi ve genel sağlık durumlarının normal olduğuna dair onay alındı.

Her tavşanın kafatasının orta hattının iki tarafında, her tarafta 2'şer adet olmak üzere 6 mm çapında ve 2 mm derinlikte dörder adet defekt oluşturuldu (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Tavşan kafatası şematik çiziminde çalışmada oluşturulan defekt bölgeleri sahaları görülmektedir.

Defekt sahasına uygulanan işlemlere göre oluşturulan gruplar:

1. Kontrol Grubu: Defekt sahası boş bırakılarak kontrol grubu olarak takip edildi.

2. Deney Grubu I: Defekt sahasına devekuşu yumurta kabuk tozundan hazırlanan greft materyali yerleştirildi.

3. Deney Grubu II: Defekt sahasına CMC ile kaplanan devekuşu yumurta kabuk tozu greft materyali yerleştirildi.

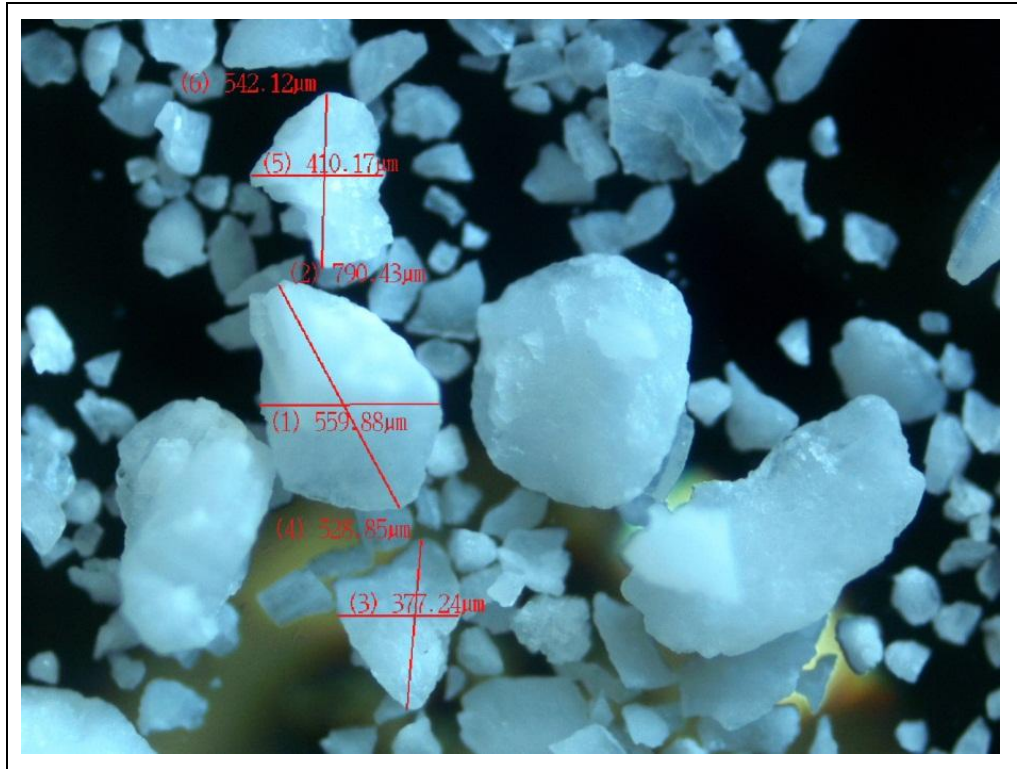
4. Deney Grubu III: Defekt sahasına jelâtinle kaplanan devekuşu yumurta kabuk tozu greft materyali yerleştirildi (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Çalışmada oluşturulan gruplar ve bu gruplarda oluşturulan defekt sahaları.

Gruplar	Defekt Sahasına Uygulanan İşlem	Dönemler ve Her Dönemdeki Defekt Sayısı	
		1. Ay	3. Ay
Kontrol grubu	Defekt sahası boş bırakıldı.	10	10
Deney grubu I	Defekt sahasına devekuşu yumurta kabuk tozu grefti yerleştirildi.	10	10
Deney grubu II	Defekt sahasına CMC ile kaplanan devekuşu yumurta kabuk tozu yerleştirildi.	10	10
Deney grubu III	Defekt sahasına jelâtinle kaplanan devekuşu yumurta kabuk tozu yerleştirildi.	10	10

2.2. Graft Materyallerinin Hazırlanması

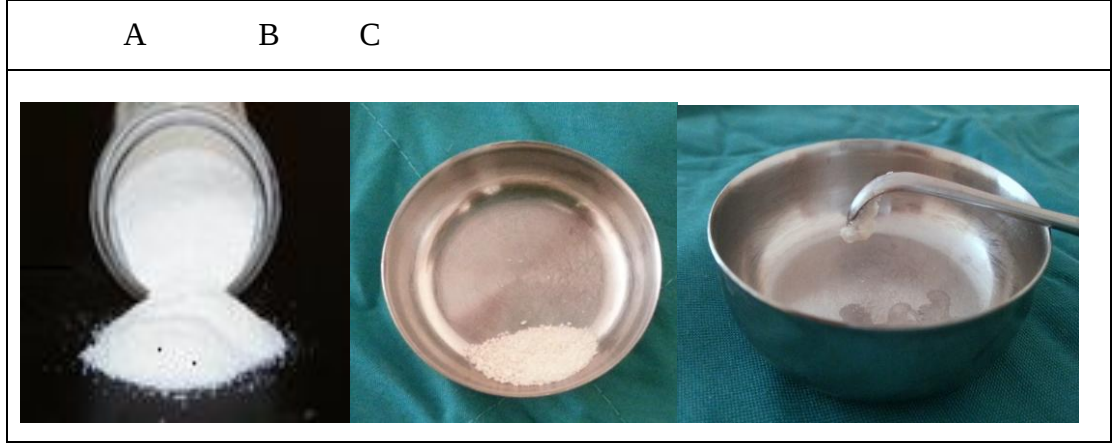
Bu çalışmada kullanılan greft materyali, ticari bir işletmeden temin edilen taze devekuşu (*Struthio camelus*) yumurtalarından hazırlandı. Bu amaçla, yumurtalar steril distile suyla yıkandı, kabukları kırılarak içerikleri boşaltıldı. Dış ve iç zarları mekanik yolla sıyrılarak dikkatlice ayrıldı. Küçük parçalara ayrılan olan kabuk parçaları %2.5'lik glutaraldehitte (Merck, Darmstadt, Germany) bir gece muamele edildi ve steril distile suyla mekanik çalkalayıcıda 10 saat çalkalanarak yıkandı. Etüvde, 50°C'de bir gece kurutulan uygun parçalar daha sonra elektrikli değirmende öğütüldü ve hazırlanan toz materyal 500µm gözenekli elekten geçirilerek ortalama partikül büyüklükleri 250µm-450µm arasında olan kabuk partikülleri çalışmada kullanıldı (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Graft materyali olarak kullanılan kabuk partiküllerinin ışık mikroskopundaki görüntüsü.

Yeniden steril distile suyla üç kez yıkanan partiküller 50°C'lik etüvde bir gece kurutuldu. Partiküllerin bir kısmı %5'lik CMC (Acros Organics, New Jersey, USA) solüsyonuna atıldı, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve 300 mbar vakum altında 50°C'de bir gece kurutuldu. Bu işlemden sonra partiküller paketlenerek etilen oksitle sterilize edildi.

Partiküllerin ikinci kısmı ise, %5'lik jelâtin (Gelita, Germany) solüsyonuna atıldı, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve 300 mbar vakum altında 50°C'de bir gece kurutuldu. Bu işlemden sonra partiküller paketlenerek etilen oksitle sterilize edildi (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. (A) Graft hazırlamamda kullanılan devekuşu yumurta kabuğu tozu, (B) CMC ile kaplanan graft materyali, (C) putty formundakijelâtinle kaplanan graft materyali.

2.3. Cerrahi Yöntem

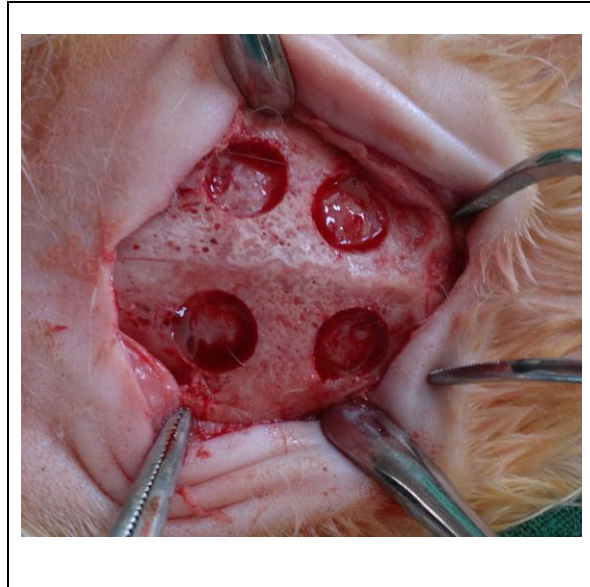
Araştırma, S.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı ile S.Ü Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda ve S.Ü. Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda yürütüldü.

Hayvanların genel anestezisi, intramusküler yolla enjekte edilen 5 mg/kg Xylazine (Rompun, Miles Laboratory Inc.) ve 35 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar, Warner-Lambert) kombinasyonu ile sağlandı. Cerrahi alana %2 lidokain enjeksiyonu ile (1:100,000 epinefrin) lokal anestezi gerçekleştirildi. Kafatasında frontal ve parietal bölgeler traşlanarak polivinilpirolidon ve iyot kombinasyonu ile (Batticon-Adeka İlaç San) silindi. Frontal ve parietal kemiklerin ortasından sutura koronalise dik doğrultuda 15 numaralı bisturi ile deri insizyonu yapıldı. Altındaki kaslar ve periosteum ekarte edilerek saha kafatası defektlerinin oluşturulmasına hazır hale getirildi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4.Kafatası derisinin insizyonuyla defekt sahasının, kranial kemiklerde defekt oluşturmak açılmak üzere hazırlanmış hali görülmektedir.

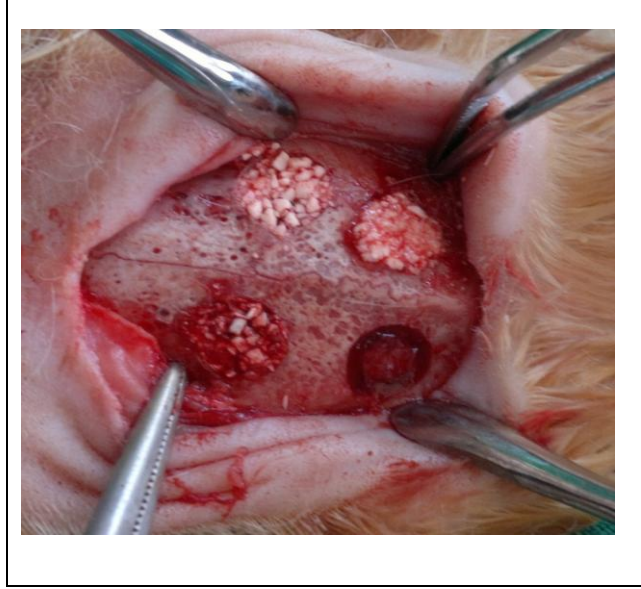
Fizyodispenserle, açığa çıkan kemik üzerinde 6 mm çapında, 2 mm derinlikte 4000 devir/dk hızla serum fizyolojikle soğutma yapılarak, her hayvanın frontal ve parietal kemiklerinde dört adet defekt oluşturuldu (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Orta hattın heriki tarafında greft materyali yerleştirmek üzere hazırlanan defekt sahaları görülmektedir.

Defekt sahaları yıkanıp kanama kontrolü yapıldıktan sonra defektlerin üçüne farklı türde greft materyali, sahayı tam olarak dolduracak şekilde yerleştirilirken, her

hayvanda dördüncü defekt boş bırakıldı (Şekil 2.6). Operasyon sırasında CMC'yle ve jelâtinle kaplanan devede kuşu yumurta kabuğu greftlerinin uygulanmasının kaplama uygulanmayan materyalden daha kolay olduğu dikkati çekti.



Şekil 2.6. Graft materyali yerleştirilen ve boş bırakılan defekt sahaları görülmektedir.

Çalışma bölgesinde yapılan son kontrollerden sonra, sahadaki periost uçları 5-0 poliglaktin iplikle (Vicryl, Ethicon Limited) ile deri ise 3-0 ipekle dikilerek kapatıldı (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Operasyon sahasının suture edilmiş hali görülmektedir.

Tavşanlar, kulaklarına takılan numaratorlerle birbirlerinden ayrı olacak şekilde bireysel kafeslerde barındırıldı ve takip süresince özel bir diyet uygulanmadı.

Hayvanlardan 10 adedi 1. ayda ve 10 adedide 3. ayda yüksek dozda Nembutal Sodyum verilerek öldürüldü.

2.4. Defekt Sahasının Radyolojisi

Uygulama sonunda bütünüyle çıkartılan kafatası kemiklerinin, önce 5x7 cm'lik Kodak Ektospeed intraoral filmlerle, kontakt radyografileri alındı (Şekil 2.8).



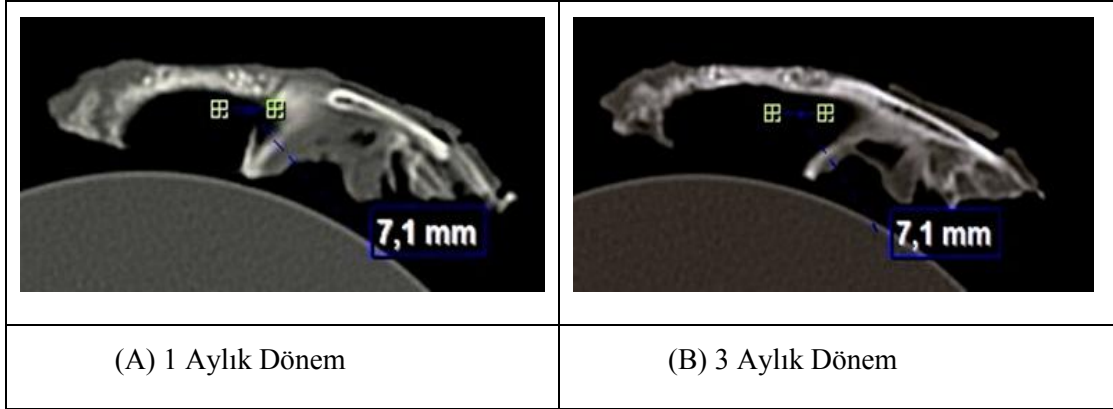
Şekil 2.8. Çalışmada kullanılan bir tavşan kafatasında operasyon sahasının radyografisi görülmektedir. Henüz rezorbe olmamış greft partikülleri radyopak tanecikler halinde dikkati çekmektedir.

Alınan kontakt radyografiler ise S.Ü. Diş Hekimliği Fakültesinde değerlendirildi. Her bir defektin radyografisi değerlendirildi. Değerlendirmede, defekt bölgelerinin radyolusensitesi, greft ve çevre kemik arasındaki bileşim dikkate alındı.

2.5. Bilgisayarlı Tomografi (BT) İncelemeleri

Alınan kafatası örnekleri, BT incelemesi için hazırlanarak S.Ü. Selçuklu Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'ndaki BT cihazıyla (Somatom-Definition Flash

Siemens Erlangen Almanya) incelendi. Bu amaçla her kafatası örneğinden ortalama 8 adet transversal kesit alındı(Şekil 2.9). Bu kesitlerde her defekt bölgesinin en derin ve en geniş bölgesindeki toplam defekt alanı ve buradaki toplam greft partikülü alanı, görüntü analiz programıyla belirlendi. Elde edilen verilerden greft partikülü alanının toplam defekt sahası alanı içindeki oranı (%) hesaplandı.



Şekil 2.9. (A)Greft uygulanan defekt sahasının operasyon sonrası 1 aylık dönemdeki BT görüntüsü. (B) Greft uygulanan defekt sahasının operasyon sonrası 3 aylık dönemdeki BT görüntüsü.

2.6. Doku Örneklerinin Histolojik Yöntemlerle İşlenmesi

Radigrafik görüntüleri alınan ve BT incelemeleri tamamlanan kafatası örnekleri %10'luk nötral formolde tespit edildi. Tespit işlemini takiben, örnekler %10'luk etilen diamin tetra asetik asitle (EDTA) dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyonun tamamlanıp tamamlanmadığı, doku örneklerinden belli aralıklarla alınan radyografilerin incelenmesiyle tespit edildi. Opasitenin kaybolduğu evre dekalsifikasyonun tamamlanmış olduğu dönem olarak kabul edildi (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Dekalsifikasyon işlemi yapılmış olan tavşan kafatası örneğinin radyografisi görülmektedir.

Dekalsifikasyonu tamamlanan doku örnekleri, histolojik takipleri yapılarak parafinde bloklandı. Bloklardan alınan 5 mikrometre kalınlığındaki kesitler, hemotoksilen-eozin, üçlü (triple) boyama ve Schmorl'un picro-thionin kemik boyaması yöntemleriyle boyandı. Hazırlanan preparatlar, ışık mikroskopuyla incelenerek gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi.

2.7. Histolojik ve Histomorfometrik Analizler

Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu altında (Nikon Eclipse E 400, Nikon Corporation, Chiyoda-ku, Japan) incelenerek, gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi. Kaydedilen görüntülerde, defekt sahasındaki yeni oluşan kemik dokusu alanı ve greft materyali alanı, BS 200 PRO dijital görüntü analiz programı (BAB Engineering, Medical Industry and Trade, Ankara, Turkey) yardımıyla belirlendi.

Histolojik incelemede; defekt sahasına yerleştirilen greft materyallerinin iltihabi ve yabancı cisim reaksiyonunayol açıp açmadıkları, yeni kemik yapım alanları ve greft partiküllerinin biyorezorpsiyonu dikkate alındı. Grupaklardan elde

edilen veriler karşılaştırılarak grupların ortalama değerleri arasındaki farkların önem dereceleri belirendi.

Bu amaçla, kaydedilen dijitalgörüntülerde;

1. Yerleştirilen greft materyalinin konakçı dokuya integrasyonu,
2. Yerleştirilen greft materyalinin rezorpsiyonu ve grefte karşı doku reddi reaksiyonu gelişip gelişmediği,
3. Defekt sahasını örten periosteumda çökme olup olmadığı,
4. Yeni oluşan kemik dokusunun defekt sahası içindeki oranı,
5. Defekt sahasındaki osteoblastik ve osteoklastik aktiviteler değerlendirildi.

2.8. İstatiksel Analizler

Kolmogorov-Smirnov testi ile elde edilen verilerin normal dağılım analizi yapıldı. Verilerin normal dağılıma uyduğu tespit edildi. Gruplar arası karşılaştırma tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Anlamlı fark tespit edilen parametrelerin 2'li karşılaştırması POST-HOC ve tukey HSD testleriyle değerlendirildi. Anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ kabul edildi.

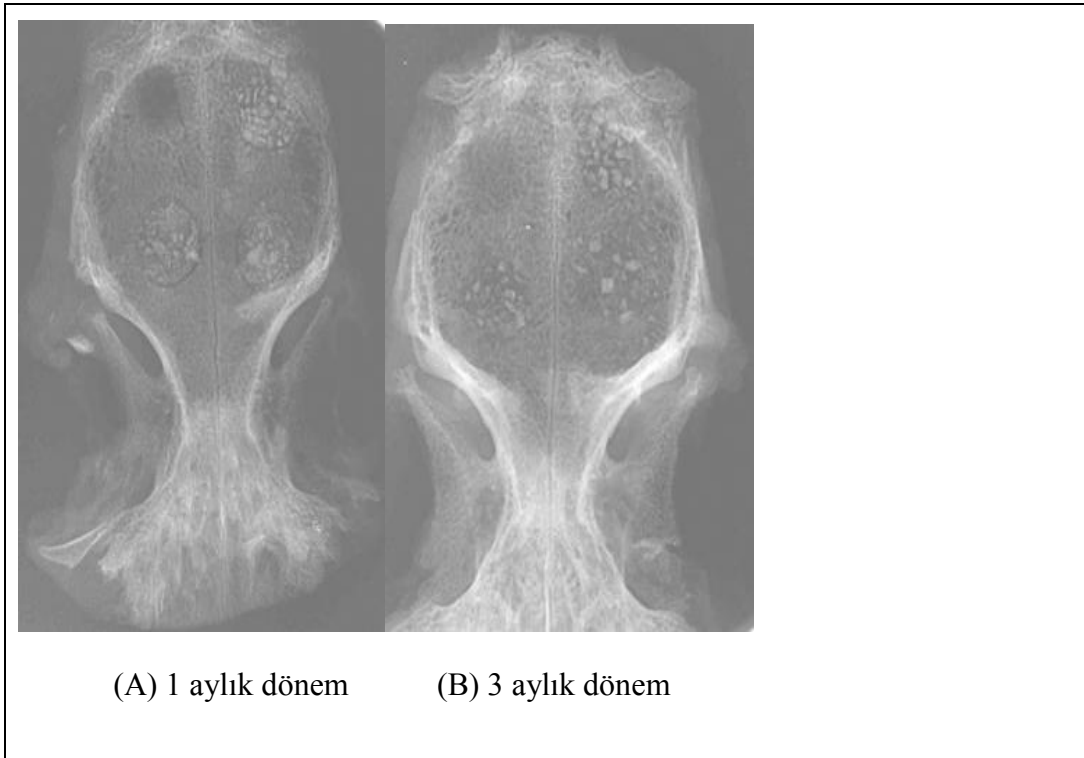
3. BULGULAR

3.1. Klinik bulgular

Operasyonlar sırasında ve sonrasında operasyona bağı herhangi bir komplikasyon gelişmedi. Operasyon sonrası iyileşme süresi boyunca hiçbir tavşanda pü drenajı ve enfeksiyon bulgusu gözlenmedi. Uygulanan greft materyallerine karşı olumsuz reaksiyon gelişmedi.

3.2. Radyolojik bulgular

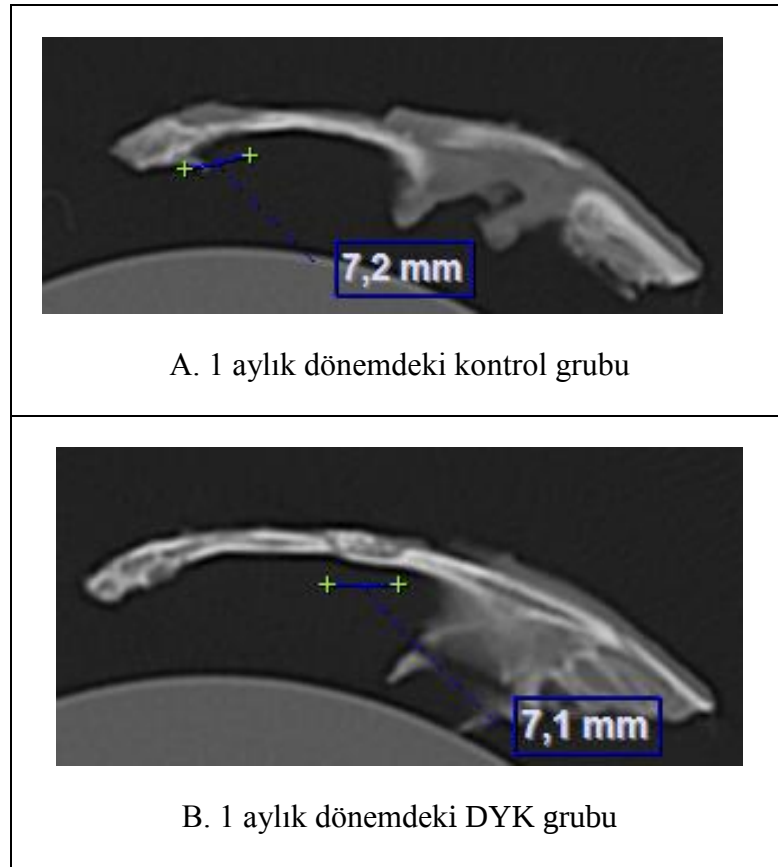
Kontrol grubundan 1. ve 3. aylık dönemlerde alınan kontakt radyografilerde radyolusensitenin devam ettiği ve belirgin bir çukurluk halindeki defekt sahasının komşu kemik dokusundan kolaylıkla ayırt edilebildiği dikkati çekti. Operasyon sonrası birinci ayda, greft partikülü yerleştirilen defekt sahalarındaki yumurta kabuk partikülleri rahatlıkla izlenebilmekteydi. Üç aylık dönemde, 1 aylık gruplara göre partiküllerin radyoopasitesinin azaldığı dikkati çekti. Graft materyali yerleştirilen defekt sahalarının operasyon sonrası 1 ve 3. aylarda alınan radyografileri arasındaönemli fark gözlenmedi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1.Operasyon sahasının operasyon sonrası farklı dönemlerdeki radyografi görüntüleri. (A) greft sahasının bir aylık dönemde radyolojik görünümü. (B) greft sahasının üç aylık dönemde radyolojik görünümü.

3.3. Bilgisayarlı Tomografi (BT) bulguları

Defekt sahalarının BT görüntüleri üzerinde yapılan analiz sonuçları, kaplama uygulanmayan DYK greft materyali yerleştirilen defekt sahası alanının, CMC ile ve jelâtinle kaplanan DYK greft materyali uygulanan bölgelere göre daha yavaş küçüldüğü dikkati çekti. Operasyon sonrası üçüncü ayda partiküllerin daha fazla rezorbe olduğu ve yerini yeni oluşan kemik dokusuna bıraktığı tespit edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Operasyon yapılandıran kafatasının operasyon sonrası 1 aylık dönemdeki boş bırakılan kontrol (A) ve DYK grubu (B) BT görüntüleri.

Yapılan ölçümlerden elde edilen verilerin Kolmogorov-Smirnov testiyle yapılan dağılım analizi sonuçları, elde edilen verilerin normal dağılıma uyduğu tespit edildi. Bu nedenle gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analiziyle (ANOVA) yapıldı. Anlamlı farklılık tespit edilen parametrelerin 2'li karşılaştırması ise POST-HOC ve tukey HSD testleriyle yapıldı. Anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ alındı. Grupların operasyon sonrası 1 ve 3. aylardaki ortalama defekt sahası alanları arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı ($p > 0.05$, Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. BT inceleme sonuçlarına göre grupların greft partikülü alanının defekt sahasına oranı ortalamaları (%).

Gruplar	1 aylık dönem partikül/defekt oranı $\bar{x} \pm SD$	3 aylık dönem partikül/defekt oranı $\bar{x} \pm SD$
Kontrol	0	0
DYK	44,80±0,2	37,11±0,3
CMC	43,20±0,3	36,82±0,2
JELÂTİN	42,69±0,2	35,80±0,3

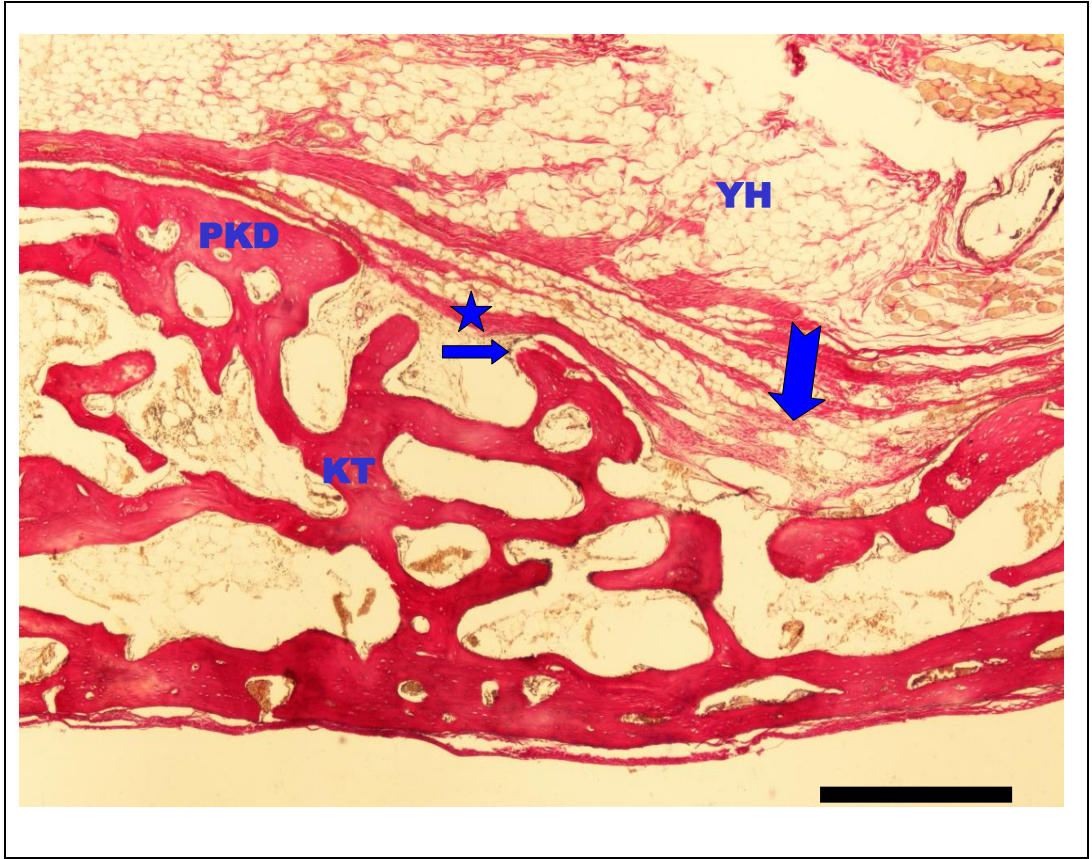
Grupların ortalama greft partikülü/defekt sahası oranları arasında istatistiksel öneme sahip farklar tespit edilmedi ($P < 0.05$). Grupların bir aylık dönemdeki ortalama greft partikülü/defekt sahasına oranlarıyla üç aylık dönemdeki oranları arasındaki istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0,05$).

3.4. Histolojik Bulgular

3.4.1. Bir Aylık Histolojik Bulgular

Kontrol Grubu

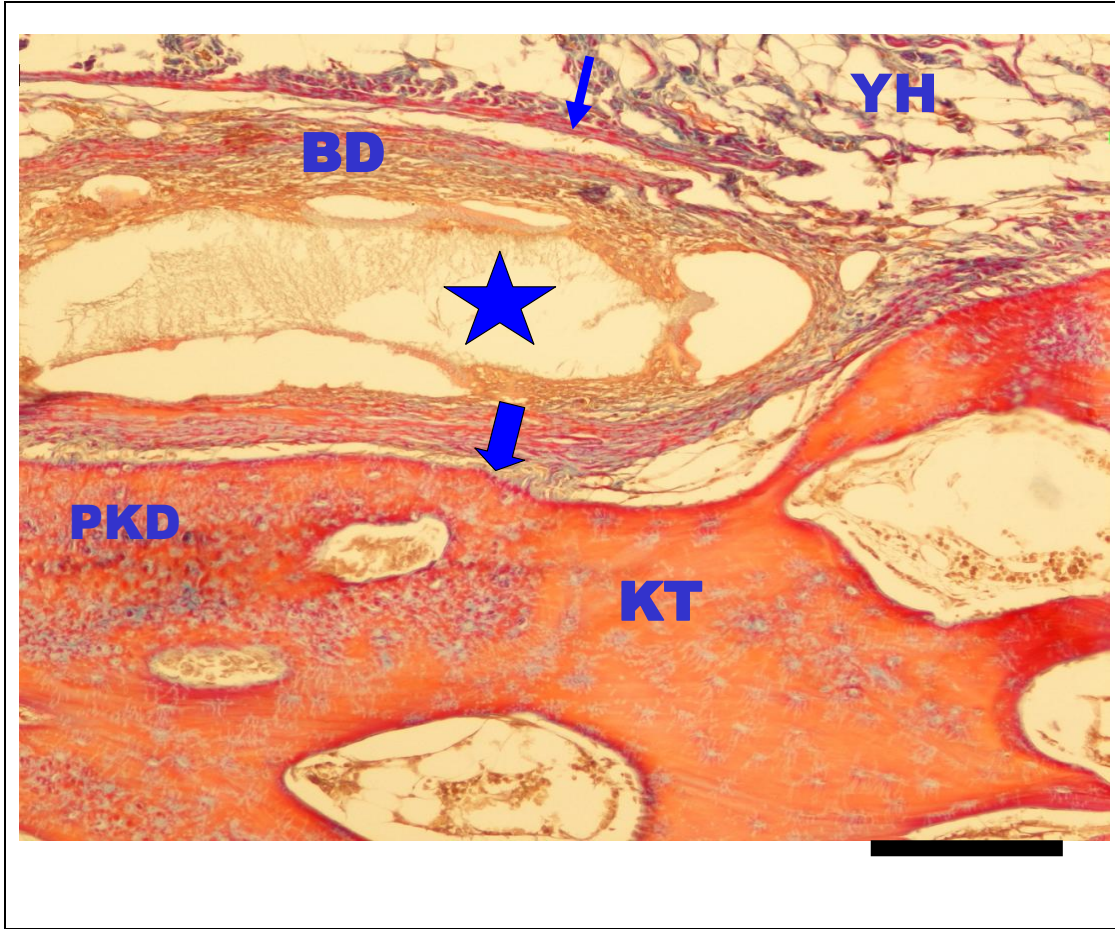
Örneklerin tamamında defekt sahası, sahanın ortasında belirgin bir çökme bulunan kopuntusuz bir periosteumla örtülmüş durumdaydı. Defekt sahasında yangısal değişiklikler gözlenmedi ve sahanın yağ hücrelerinden zengin gevşek bağ dokusuyla dolduğu gözlemlendi. Defekt sahasının tabanı ve yanları, yeni şekillenen primer kemik dokusuyla kaplanmış durumdaydı. Yeni oluşan kemik trabekülleri yüzeyinde yer yer osteoblastik aktivite gözlemlendi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Operasyondan bir ay sonra kontrol grubundan bir tavşanın boş bırakılan defekt sahası görülmektedir. Sahadaki belirgin çukurluk (Büyük ok), saha üzerini örten periosteum (Yıldız) ve yeni şekillenen primer kemik dokusu (PKD) ile kemik trabekülü (KT) yüzeyindeki osteoblastlar (Küçük ok) görülmektedir. Saha, yağ hücrelerinden (YH) zengin bağ dokusuyla doldurulmuştur. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 µm.

DYK Grubu

Bu dönemde, DYK yerleştirilene defekt yüzeyinin kopuntusuz biçimde periosteumla örtülü olduğu ve periosteumda çökme bulunmadığı gözlemlendi. Defekt tabanı ve sınırları yeni şekillenen kemik dokusuyla kaplıydı. Yerleştirilen greft partiküllerinden küçük olanları ileri derecede rezorbe olduğu halde, iri olanlar kısmen rezorbe olmuştu. Partiküller arası saha, iplik ve hücrelerden zengin bağ dokusu trabekülleriyle dolmuş durumdaydı. Bu bağ dokusu, kan damarlarından yanada oldukça zengindi. Bazı örneklerde partiküller etrafındaki bağ dokusunda zayıf mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi. İleri derecede yıkılan partiküllerin etrafında sıklıkla makrofajlara rastlandı. Defekt sahasında yabancı cisim dev hücreleri gözlemlenmedi. Bazı partiküllerin etrafı ince ve hücreden zengin bir bağ dokusuyla çevrilmişti. Partiküllerin yüzeyinde ve partiküller arası bölgede kemik dokusuna rastlanmadı (Şekil 3.4).

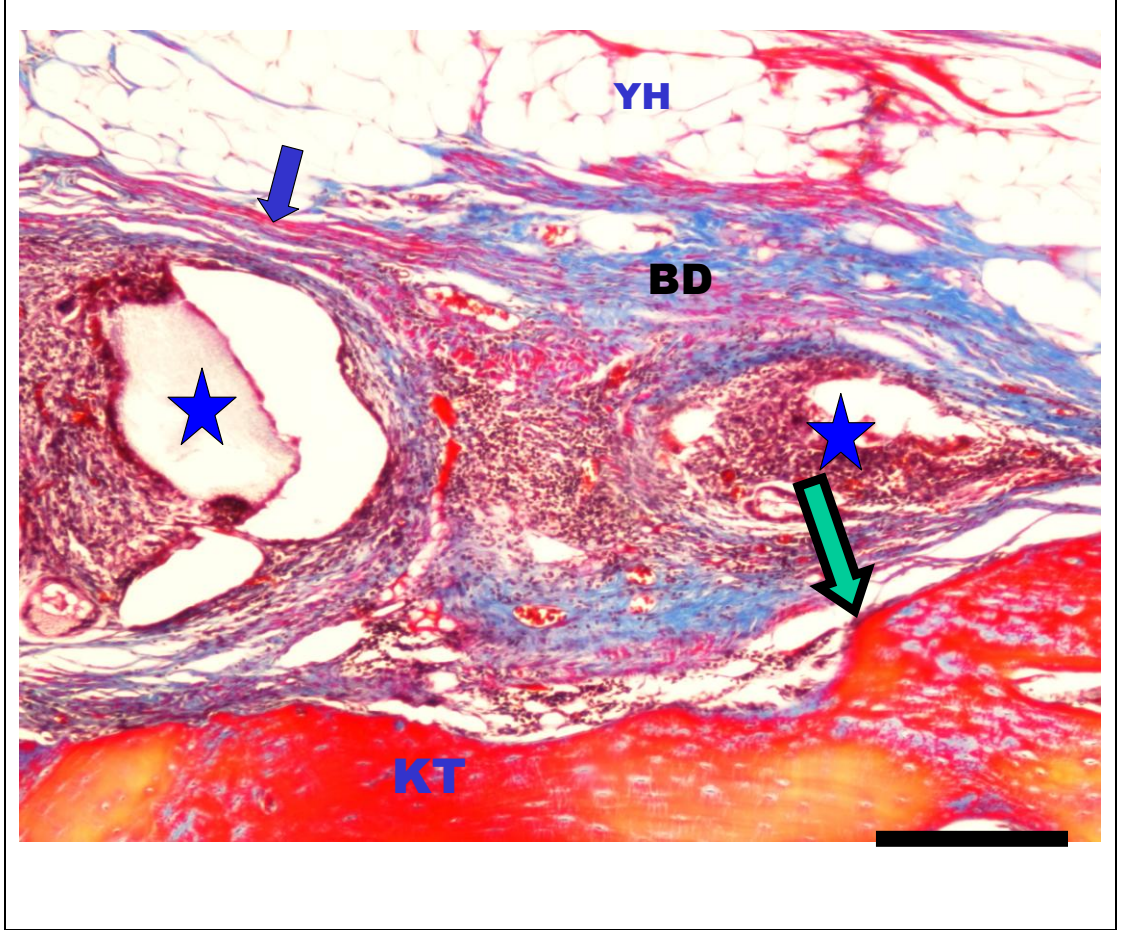


Şekil 3.4.DYK grubundan bir tavşanın operasyondan bir ay sonraki dönemde defekt sahası görülmektedir.Sahayı örten periosteum (Küçük ok) düzgün seyretmekte olup, defekt sahasında çöküntü gözlenmemektedir. Defekt sahasında kısmen rezorbe olmuş iri bir DYK partikülü (Yıldız) ve bunu çevreleyen, hücreden zengin bağ dokusu (BD) dikkati çekmektedir. Saha yüzeyi yağ hücrelerinden (YH) zengin bağ dokusuyla doldurulmuştur. Defekt sahasının tabanı ve yan yüzeyleri yeni yapılan primer kemik dokusuyla (PKD) kaplı kemik trabekülleriyle (KT) çevrilmiş olup, trabekül yüzeyinde belirgin bir osteoblastik aktivite (Büyük ok) göze çarpmaktadır. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 µm.

CMC ile Kaplanan DYK Grubu

Bu dönemde, CMC ile kaplı DYK partikülleri yerleştirilen defekt yüzeyinin, düzenli bir biçimde periosteumla örtüldüğü olduğu ve defekt sahasında çökme oluşmadığı tespit edildi. Defekt sınırında yeni şekillenen kemik dokusu gözlemlendi. Defekt sahasındaki greft partiküllerinin küçük olanları ileri derecede rezorbe durumdayken, iri partiküller kısmen rezorbe olmuştu. Partiküller arası bölge, iplik ve hücrelerden zengin bağ dokusu trabekülleriyle doldurulmuştu. Bazı örneklerde partiküller etrafındaki bağ dokusunda güçlü bir mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekti. İleri derecede rezorbe durumdaki partikülleri saran bağ dokusunda bu

hücrelere daha sıklıkla rastlandı. Sahada dev hücresi gözlenmedi. Bazı partiküller kalın bir ipliksel bağ dokusuyla sarılmış durumdaydı. Partiküllerin yüzeyinde ve partiküller arası sahada yeni şekillenen kemik dokusuna rastlanmadı (Şekil 3.5).

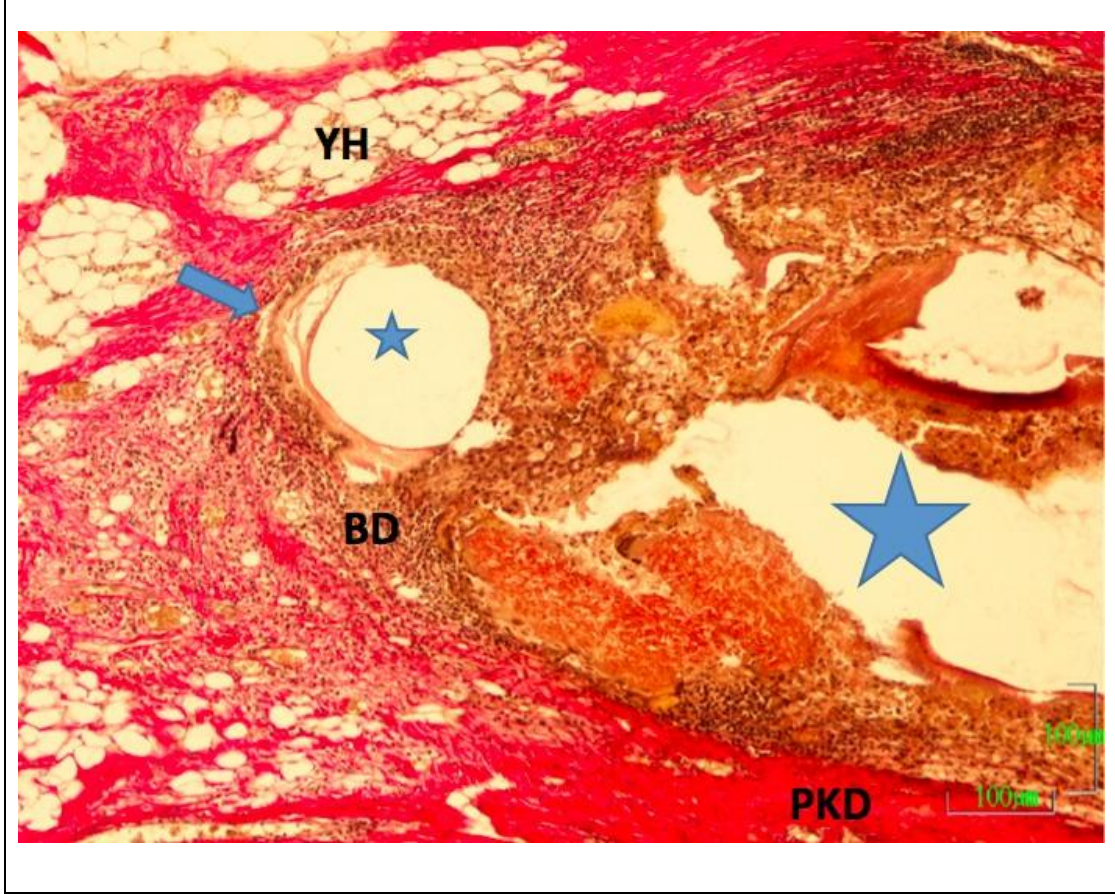


Şekil 3.5.CMC ile kaplanan DYK grubundan bir tavşanın, operasyondan bir ay sonraki dönemde defekt sahası görülmektedir.Sahayı örten periosteum (Küçük ok) düzgün seyretmekte olup, defekt sahasında çöküntü gözlenmemektedir. Defekt sahasında ileri derecede rezorbe olmuş DYK partikülleri (Yıldızlar) ve bunları çevreleyen hücreden zengin bağ dokusu (BD) dikkati çekmektedir. Saha yüzeyi yağ hücrelerinden (YH) zengin bağ dokusuyla kaplanmıştır. Defekt sahasının tabanı ve yanları yeni yapılan kemik dokusuyla çevrilmiş olup, yüzeyde belirgin bir osteoblastik aktivite (Büyük ok) görülmektedir. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 µm.

Jelatinle Kaplanan DYK Grubu

Jelâtinle kaplanan DYK grefti uygulanan deney grubunda defekt yüzeyinin kopuntusuz bir şekilde periosteumla örtülü olduğu ve defekt sahasında çökme olmadığı görüldü. Defekt sınırı yeni şekillenen kemik dokusuyla kaplanmıştı. Küçük greft partiküllerinin rezorpsiyonu ileri düzeydeyken, iri greft partikülleri kısmen rezorbe durumdaydı. Graft partikülleri arası bölgenin kan damarları ve bağ

dokusuyla doldurulmuş olduğu gözlendi. Partiküllerin etrafındaki bağ dokusunda çok sayıda mononükleer hücreye rastlanmakla birlikte dev hücrelerine rastlanmadı (Şekil 3.6).

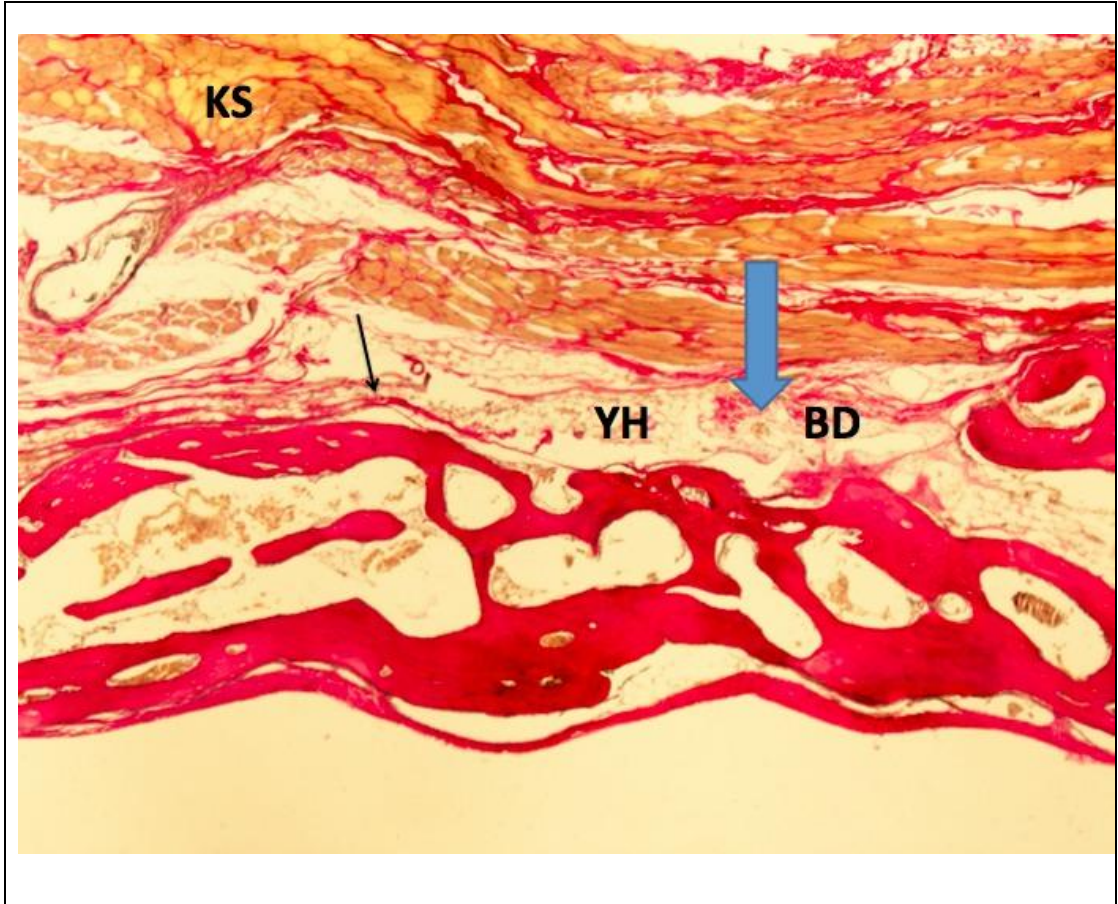


Şekil 3.6.Jelâtinle kaplanan DYK grubundan bir tavşanın operasyondan bir ay sonraki dönemde defekt sahası görülmektedir.Defekt sahasında ileri derecede(küçük yıldız) ve kısmen (büyük yıldız) rezorbe olmuş DYK partikülleri ve bunları çevreleyen hücreden zengin bağ dokusu (BD) dikkati çekmektedir. Defekt sahasının yüzeyi yağ hücrelerinden (YH) zengin bağ dokusuyla kaplanmıştır. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 µm.

3.4.2. Üç Aylık Histolojik Bulgular

Kontrol Grubu

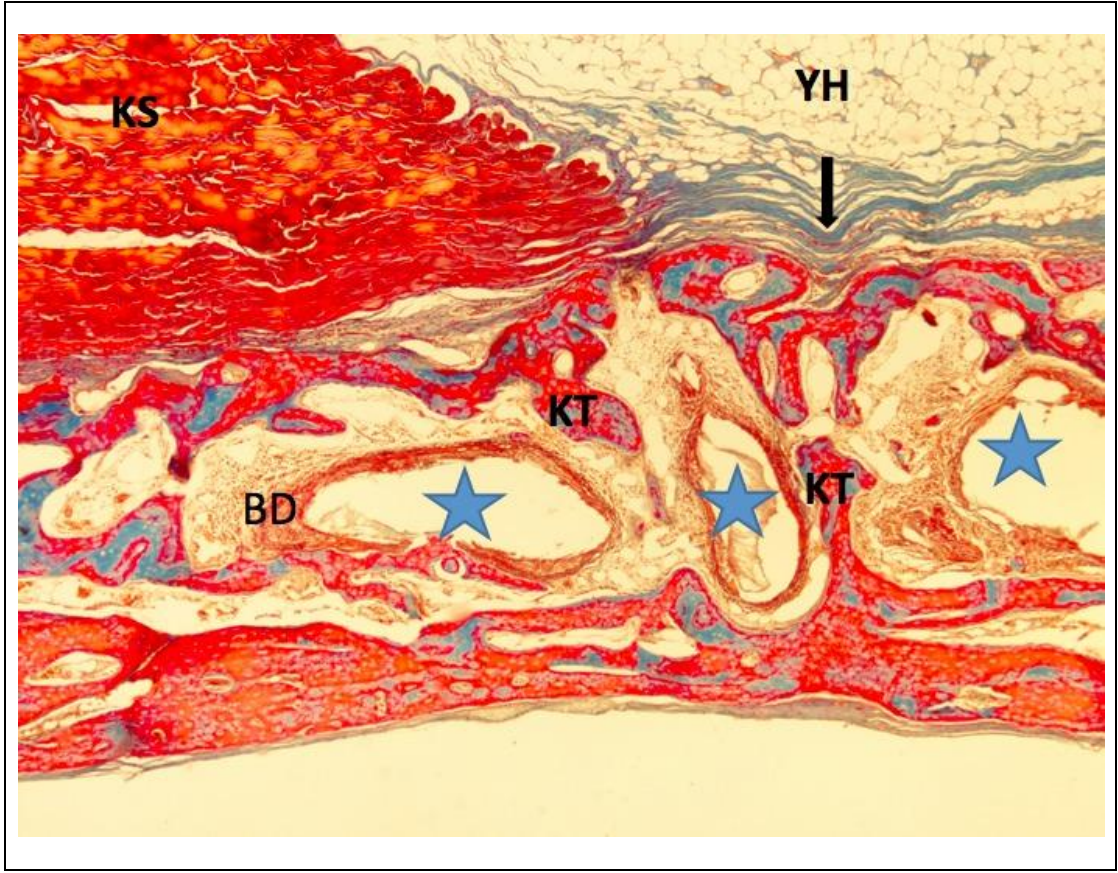
Bu dönemde kontrol grubunda, defekt sahası üstten periosteumla çevrili olup, defekt sahasının ortasındaki periosteumda belirgin çökme şekillenmişti. Defektin sınırı ve tabanında yeni oluşan kemiğin daha da genişlemiş olduğu gözlendi. defekt sahası yağ hücrelerinden zengin gevşek bağ dokusuyla dolmuş durumdaydı (Şekil 3.7).



Şekil 3.7.Kontrol grubundan bir tavşanın defekt bölgesinin operasyondan sonraki üçüncü aydaki görünümü. Defekt sahası (büyük ok) üstten iskelet kasları (KS) ve periosteumla çevrili olup, saha yağ hücreleriyle (YH), bağ dokusuyla (BD) dolmuş durumdadır.Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 µm.

DYK Grubu

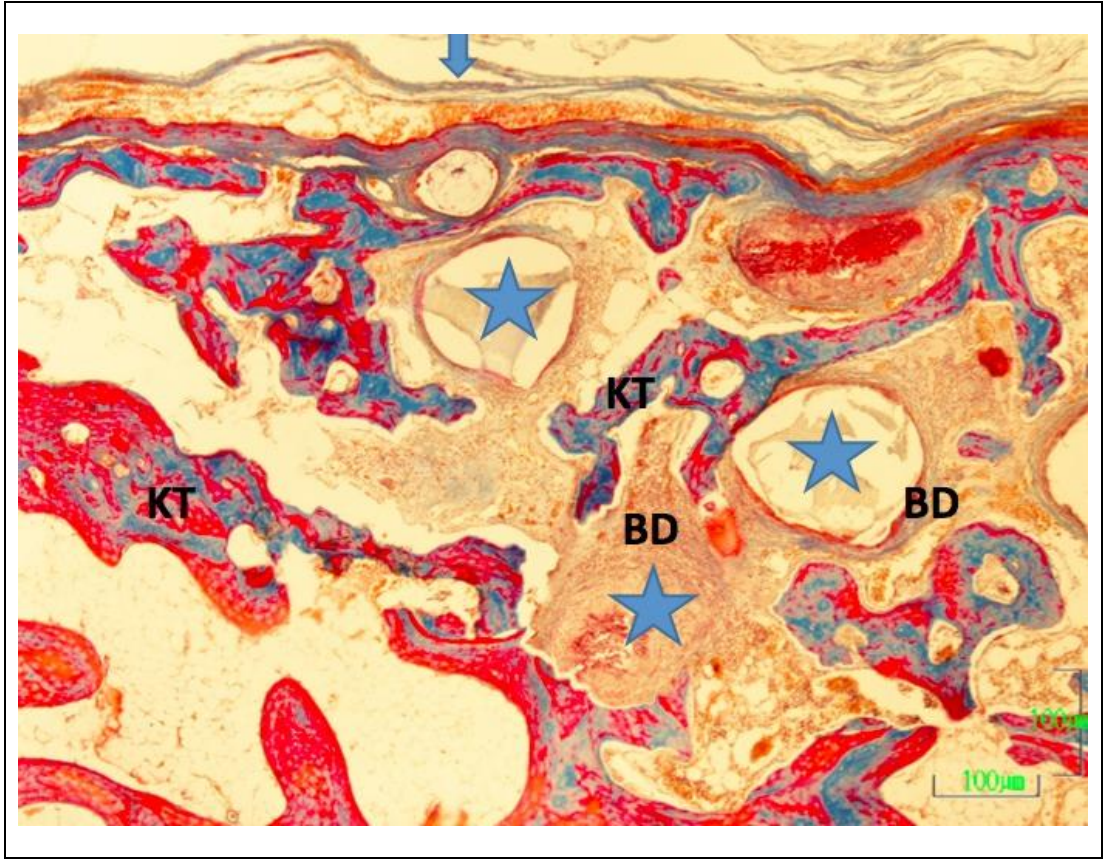
Bu grupta defekt sahası, üstten iskelet kasları, yağ hücreleri ve kopuntusuz, düzgün seyreden periosteumla örtülmüş durumdaydı. Sahadaki partiküller ileri derecede rezorbe olmuş durumda olup, partiküller arası saha yeni şekillenen kemik trabekülleriyle dolmuştu. Graft partiküllerinin rezorbe olan bölgeleri ince bir bağ dokusu katmanıyla doldurulmuştu. İri graft partiküllerinin küçük graft partiküllerine göre daha az rezorbe olduğu gözlemlendi (Şekil 3.8).



Şekil 3.8.DYK grubundan bir tavşanın, defekt bölgesinin operasyondan sonraki üçüncü aydaki görünümü. Defekt sahası, üstten iskelet kasları (KS), yağ hücreleri (YH) ve kopuntusuz, düzgün seyreden periosteumla örtülmüş durumdaydı (Ok). Sahadaki partiküller (yıldızlar) ileri derecede rezorbe olmuş durumda olup, partiküller arası saha yeni şekillenen kemik trabekülleri (KT) ve bağ dokusuyla dolmuştur. Graft partiküllerinin rezorbe olan bölgeleri ince bir bağ dokusu (BD) katmanıyla çevrili olduğu gözlemlendi. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 μ m.

CMC ile Kaplanan DYK Grubu

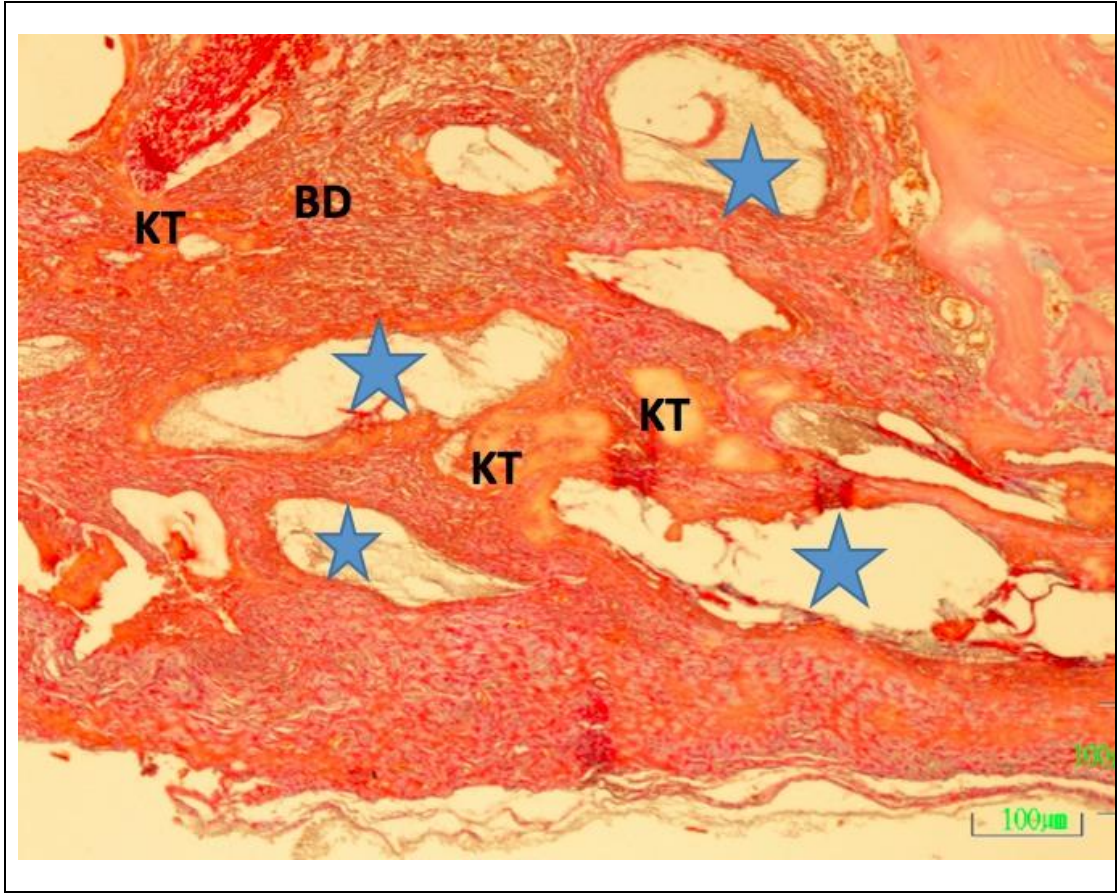
Bu dönemde, defekt sahası düzgün seyreden ve kopuntusuz bir periosteumla örtülü durumdaydı. Periosteumda herhangi bir çökme gözlenmedi. Partiküller arası alanın hücreden zengin bağ dokusuyla kaplandığı gözlemlendi. Küçük partiküller iri partiküllerden daha fazla rezorbe olmuştu. Partiküllerin etrafında ince bağ dokusu katmanı görüldü. Bazı partiküllerin yüzeyinde yeni yapılan kemik trabekülleri gözlemlendi. partiküller arası sahada yine oluşan kemik trabekülleri izlendi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. CMC grubundan bir tavşanın defekt sahasının operasyon sonrası üçüncü aydaki görünümü. Defekt sahası üstten düzgün kopuntusuz seyreden periosteumla örtülmüştür (Ok). Sahadaki greft partikülleri (yıldızlar) ileri derecede rezorbe olmuş durumda olup, partiküller arası sahada yeni şekillenen kemik trabekülleri (KT) gözlenmektedir. Graft partiküllerinin rezorbe olan kısımlarında ince bir bağ dokusu (BD) katmanı görülmektedir. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 μ m.

Jelatinle Kaplanan DYK Grubu

Bu grupta, defekt sahasının yüzeyinin düzgün, kopuntusuz seyreden periosteumla örtülü olduğu tespit edildi. Periosteumda çökme gözlenmedi. Defekt tabanında ve partiküllerin etrafında yeni oluşan kemik dokusu görüldü. Partiküller arasında ince kemik trabekülleri ve hücreden zengin bağ dokusu izlendi. Bağ dokusunda zayıf mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü. Küçük partiküllerin rezorpsiyonu iri partiküllere oranla daha fazlaydı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10.Jelatin grubundan bir tavşanın defekt sahasının operasyon sonrası üçüncü aydaki görünümü. Rezorpsiyona uğramış greft partikülleri (yıldız) arasında hücreden zengin bağ dokusu (BD) ve ince kemik trabekülleri (KT) görülmektedir. Tabanda ve partiküllerin etrafında yeni oluşan kemik dokusu izlenmektedir. Crossmon'un üçlü boyası. Büyütme çizgisi: 250 µm.

1.5. Histomorfometrik Bulgular

İncelenen dönemlerin tamamında, boş bırakılan kontrol grubunun defekt sahası, kopuntusuz ve orta kısmı çöküntülü bir periosteumla örtülü durumdaydı. Yeni oluşan kemik dokusu, defekt tabanı ve sınırlarını kaplamış durumdaydı. Yeni oluşan kemik dokusu kalınlaşmakla birlikte, 3 aylık dönemde de defekt sahası geniş bir çukurluk halindeydi. Yumurta kabuk grefti partikülü yerleştirilen deney gruplarının defekt sahasında, küçük olanları ileri derecede, iri olanları ise kısmen rezorbe durumdaki greft partiküllerine incelenen dönemlerin tamamında rastlandı. Bir aylık dönemde grupların defekt sahasındaki partikül ve bağ dokusu oranı yüksek olduğu halde, dönemin ilerlemesiyle birlikte partikül oranı azaldı. Sahadaki kemik dokusu oranı ise bir aylık dönemde düşük olduğu halde, 3 aylık dönemde arttı. Üç aylık deney grubunun defekt sahasındaki kemik dokusu oranları 1 aylık deney

grubunkinden önemli derecede ($P<0,05$) daha yüksekti. Üç aylık dönemdeki deney grubunda partikül rezorpsiyonu 1 aylık dönemdekilere göredaha yüksek orandaydı. Deney gruplarının bir ve üç aylık dönemlerdeki kemik dokusu oranları arasında önemli fark tespit edilmedi ($P>0.05$) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Grupların defekt sahasındaki greft, bağ ve kemik dokusu oranları (%).

GRUPLAR	Greft oranı $X \pm SD$	Partikülü $X \pm SD$	Bağ Dokusu oranı $X \pm SD$		Kemik Dokusu oranı $X \pm SD$	
	1 Aylık Dönem	3 Aylık Dönem	1 Aylık Dönem	3 Aylık Dönem	1 Aylık Dönem	3 Aylık Dönem
KONTROL	0	0	93,60±0,4	85,88±0,4	6,40±0,4	14,12±0,2
DYK	45,16±0,3	38,01±0,5	38,70±0,4	25,31±0,4	16,14±0,3	36,68±0,4
CMC	44,47±0,27	39,07±0,4	39,77±0,2	27,40±0,2	15,76±0,4	33,53±0,3
JELÂTİN	44,22±0,33	38,15±0,2	40,30±0,4	28,68±0,4	15,48±0,3	33,17±0,4

Grupların aynı sütunda gösterilen farklı dönemlerdeki greft partikülü, bağ dokusu ve kemik dokusu ortalama oranları arasındaki farklar önemsizdir ($P>0.05$).

4. TARTIŞMA

Malformasyon, enfeksiyon, travma veya onkolojik bir rezeksiyon sebebiyle oral ve maksillofasiyal bölgede oluşan kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyon problemi henüz tatmin edici bir şekilde çözümlenememiş olup, modern cerrahinin en zor uğraşlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Redondo ve ark 1995, Rabie ve ark 1996).

Kemiğin içinde veya sınırlarındaki yeni yapılan kemikle dolması gereken bölgeler olarak tanımlanan kemik defektleri, kemik dokusunun kendini rejenere etme ve yeniden şekillendirme özelliğiyle iyileşmekle birlikte, bu mekanizmanın yetersiz kaldığı konjenital veya şiddetli travmalara bağlı olarak ortaya çıkan deformiteler ve kemik patolojilerinin cerrahi eksizyonuna bağlı olarak şekillenen geniş kemik defektlerinin tedavisinde, yeni kontür sağlamak ve kemik iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla kemik greftleri veya kemik yerine geçen materyallerin kullanımı gerekmektedir (Bernard 1991, Aaboe ve ark 1995).

Bu konuda yapılan yoğun çalışmaların sonucunda, günümüze dek birçok kemik greft materyali klinik ve laboratuvar aşamalarında denenmiş ve bir bölümü rutin uygulamaya konulmuştur (Pinholt ve ark 1992, Dupoirieux ve ark 1994, Rabie ve ark 1996, Helm ve ark 1997, Zhang ve ark 1997, Chesmel ve ark 1998).

Kemik defektlerinin iyileşmesi sırasında gerçekleşen kemik yapımında, kullanılan greft materyalinde osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon gibi temel 3 biyolojik olaydan biri mutlaka gerçekleşir. Osteogenezis temelde otojen süngerimsi kemik greftlerinde gerçekleşir ve osteoblast yada prekürsörlerinin grefti popüle etmeleri sonucunda yeni kemik üretmeleriyle gerçekleşir. Osteokondüksiyonda ise greft bir yandan rezorbe olurken, öte yandan da sahada konakçının progenitor hücrelerinin gerçekleştirdiği apozisyonel ossifikasyon gerçekleştiğinden, greftin rezorpsiyon ve apozisyonu eş zamanlı gerçekleşir. Osteoindüksiyon daha sonraları tanımlanan bir kemikleşme işlemi olup, ekstraselüler non kollajenöz kemik morfojenik proteinleri (BMPs) aktive olur ve sahaya konakçı mezenşimal hücrelerini çekerek onların önce kıkırdak ve takiben de kemik yapmasını sağlar (Bodner 1996). Kurutulup-dondurulan demineralize kemik matriksi (DBM) önemli BMP kaynağıdır (Dupoireieux ve ark 1994, Lew ve ark 1997, Russell ve ark 1999).

Kemik grefti kullanımında amaç, defekt sahasının morfolojik konturunun korunması, mekanik kuvvet ve fonksiyonunun kazandırılmasıdır. Graft materyalinin biyouyumlu olması, temininin ve cerrahi işlemle uygulanabilirliğinin kolay olması, kemik rejenerasyonuna yeterli derecede katkıda bulunarak güçlü bir osteointegrasyon sağlaması, ekonomik olması ve kolayca temini oldukça önemlidir (Bodner 1996). Her ne kadar otograft ve allograft bu gereklerin çoğunu karşılasa da donör dokunun sınırlı olması, vericide oluşan hasarın büyüklüğü, alıcının grefte bağışıklık tepkisi oluşturması, hastalık bulaştırma potansiyeli ve istenen şekilde greft teminindeki zorluklar gibi dezavantajları vardır (Seto ve ark 2001).

Son yıllarda, taze dondurulmuş kemik (TDK) grefti bazı avantajları nedeniyle alternatif bir yöntem olarak tercih edilmiştir. TDK greftinin otojen kemik grefti ile karşılaştırıldığında daha yavaş remodelize olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. İmplant öncesi rekonstrüktif cerrahi için kemik hacminin sağlanmasında bu özellik kullanışlı olabilir. Fakat TDK greftinin, enfeksiyon iletimi ve immunojenite gibi biyolojik özellikleri bulunmaktadır (Rodella ve ark 2015).

Kaya ve ark. (2013) rifampinle muamele edilmiş allograftleri rat tibialarında oluşturulmuş defektlere uygulamışlar ve topikal rifampinin kemik iyileşme süresini hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Piitulainen ve ark (2015) te farklı sentetik materyaller ve otojen kemik grefti ile yapılan kraniyoplasti sonuçlarını karşılaştırmışlar ve farklı sentetik materyallerle yapılan kraniyoplasti sonuçlarının umut verici olduğunu, otojen kemik grefti ile karşılaştırıldığında daha az komplikasyon görüldüğünü bildirmişlerdir.

Yukarıdaki nedenlerle son yıllarda, kanatlı yumurta kabuğundan maksillofasiyal cerrahide kullanılabilecek kemik greft materyali geliştirilmesi üzerinde bazı araştırmalar yapılmıştır (Gautron ve ark 1977, Glimcher 1989, Lindholm ve ark 1993, Dupoirieux ve ark 1995, Bodner 1996, Gautron ve ark 1996, Baliga ve ark 1998, Dupoirieux 1999, Dupoirieux ve ark 1999, Lavelin ve ark 1999, Panheleux ve ark 1999, Bauer ve Muschler 2000, Dominguez-Vera 2000, Sodek ve ark 2000, Dupoirieux ve ark 2001, Dupoirieux ve ark 2001a, Dupoirieux ve ark 2001b, Feng ve ark 2001, Fernandez ve ark 2001, Verna ve ark 2002, Durmuş ve ark 2003, Durmuş ve ark 2007). Tavuk yumurta kabuğunun mineral matriksi %97'nin

üzerindedir ve kabuk yapımı doğadaki en hızlı ve yüksek oranda kalsiyum biriktirilen biyomineralizasyon işlemidir (Lavelin ve ark 1999).Devekuşu yumurtası ise büyüklüğü, kabuğunun dayanıklılığı, kalınlığı, eğriselliği ve mükemmel yapısıyla kazanmış olduğu mükemmel mekanik özellikleri sayesinde tercih edilen bir yumurtadır (Feng ve ark 2001, Durmuş ve ark 2003, Durmuş ve ark 2007). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda (Dupoirieux ve ark 1995, Dupoirieux ve ark 1999, Dupoirieux ve ark 2001b, Durmuş ve ark 2003), bu materyalin fasiyal rekonstrüktif cerrahide kullanımı hayvan modelleri üzerinde denenmiştir. Araştırmacılar bu çalışmalarda (Dupoirieux ve ark 1995, Dupoirieux ve ark 1999, Dupoirieux ve ark 2001b, Durmuş ve ark 2003) söz konusu materyalin biyolojik davranışı, biyo uyumluluğu, alıcı kemiğe bağlanma yeteneği ve rezorpsiyon kinetiği üzerinde durmuşlardır. Bununla birlikte, söz konusu çalışmalarda (Dupoirieux ve ark 1995, Dupoirieux ve ark 1999, Dupoirieux ve ark 2001b) ağırlıklı olarak sadece kabuğun inorganik matriksinin doku iskelesi fonksiyonu dikkate alındığından, kabuktan materyal hazırlanması esnasında organik matrikste bulunan ve bazıları kemik morfogenetik protein rolü de oynayan moleküllerin korunması gereği göz önüne alınmamıştır.Hâlbuki kemik formasyonu ve remodeling işlemi, çoğunlukla kemik morfogenetik proteinler (BMPs) de denen non kollajenöz matriks proteinleri tarafından sıkı biçimde kontrol edilir. Bu düşük moleküler ağırlıklı polipeptidler, kemik ve ekstraselüler mineralize dokulardaki kristal nükleasyonunu düzenleyerek materyalin kristal yapısını ve mekanik dayanıklılığını belirler (Addadi ve Weiner 1985). Kanatlı yumurta kabuğu ekstraktlarında kemik formasyonu ve remodellinginde önemli rol oynayan osteokalsin (OCN), osteopontin (OPN), ovocleidin-17 ve sülfatlı proteoglikanlar bulunmaktadır (Dupoirieux ve ark 1995, Fernandez ve ark 2001). OPN, osteoblastların matrikse adezyonunu artırması yanında hidroksi apatite de ağırlandığından, kemik formasyonu ve remodellingde çok önemli rollere sahiptir (Gautron ve ark 1977, Glimcher 1989, Lavelin ve ark 1999, Dominguez-Vera ve ark2000). Yumurta kabuğu organik matriks proteinleri de kabuk oluşumu esnasında kalsit kristalinin morfolojisi ve presipitasyon hızını düzenleyen bioaktif moleküllerdir (Gautron ve ark 1996, Panheleux ve ark 1999, Dominguez-Vera ve ark 2000, Fernandez ve ark 2001, Nakano ve ark 2001). Bunun da ötesinde kanatlı OPN'si esansiyel organik matriks proteini olup, memeli OPN'siyle protein sekansı bakımından %35 ve nukleotid seviyesi bakımından da %65 homolojiye sahiptir (Castagrola ve ark 1991, Pines ve ark 1995, Panheleux ve ark 1999). Tavuk

yumurta kabuk tozundan transforming growth faktör $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) ve progesteronun da izole edildiği bildirilmiştir (Schaafsma ve ark 2000). Mann ve Siedler (2004) ise, devekuşu yumurta kabuğu kalsifiye katmanı matriksinde 2 farklı C-tipi lektin-benzeri proteinlerin önemli miktarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu proteinler struthiocalcin-1 (SCA-1) ve struthiocalcin-2 (SCA-2) olarak isimlendirilmiştir. Kemik yapmındaki rolleri henüz kesin değilse de hiyaluronik asit ve kondroitin sülfat–dermatan sülfat kopolimeri de kanatlı yumurta kabuğunun önemli glukozamino glikanlarıdır (Seto ve ark 2001). Ovotransferrin ve yumurta lizoziminin kalsit kristallerinin şeklini modifiye ettiği tespit edilmiştir (Durmuş ve ark 2003).

Deney hayvanlarında kafatasındaki defektlerin rejeneratif kapasiteleri insanlardakinden daha iyi olduğu bilinmektedir. Kafatası, morfolojik ve embriyolojik açıdan bir membran prosesinden gelişim gösterir ve bu nedenle de yüz bölgesinde yer alan membranöz yolla gelişmiş diğer kemiklerle benzerlik gösterir. Anatomik olarak kafatası iki kortikal tabaka içerir ve bu açıdan da mandibulaya benzerlik gösterir. Fizyolojik olarak da kafatası kortikal kemiği atrofik bir mandibulaya benzerlik gösterir. Bu nedenden dolayı bizde literatürlerle uyumlu olarak matür Yeni Zelanda tavşanlarının kafatası bölgelerinde çalışmamızı gerçekleştirdik.

Kemik metabolizması düzenlenmesinde cinsiyet hormonlarından östrojenin önemli etkisi olduğu görülmüş ve östrojen hormonu eksikliğinde kemik iyileşmesinin geciktiği gözlenmiştir (Kagel ve ark 1995). Dişi hayvanlarda kemik metabolizmasının menstrual siklus döneminde cinsiyet hormonu seviyelerinden etkilendiği göz önünde bulundurularak deney hayvanı olarak erkek Yeni Zelanda tavşanı seçilmiştir.

Deneklerin kafatası kullanılarak deney ve kontrol grubu aynı hayvanda oluşturulmuştur. Böylelikle deney hayvanı farklılığından kaynaklanacak olumsuzlukların önüne geçilmesi planlanmıştır. Develioğlu ve ark (2005) çalışmalarında aynı hayvanda oluşturulan deney ve kontrol gruplarının hayvan farklılığından doğabilecek değişiklikleri elimine ettiğini bildirmiştir.

Kemik doku defeklerinde kullanılan otograft, allograft ve sentetik kemik greft materyalinden optimal yarar sağlanabilmesi için biyolojik etkilerinin ve rezorpsiyon kinetiğinin detaylı biçimde anlaşılması gerektiği açıktır. Bu amaçla yapılan deneysel

kemik rejenerasyonu çalışmalarında en fazla kalvaryum defekt modeli tercih edilmektedir. Zira bölge, vaskülarizasyonun zayıf olması ve membranöz strüktürü nedeniyle spontan iyileşmeler için uygun değildir (Dupoirieux ve ark 2001a). Kemik defektlerinin iyileşmesini etkileyen önemli faktörlerden biri defekt sahasının genişliğidir. Kritik defekt büyüklüğü olarak tanımlanan geniş defekt sahalarında rejenerasyon gerçekleşmez. Böyle geniş defektlerde sınırlı iyileşme gerçekleştiğinden, restorasyon tam olmaz, yüzey konturu düzensizdir ve sahada kavite oluşur. Daha önce yapılan çalışmalarda (Lindholm ve Gao 1993, Bauer ve Muschler 2000) kalvaryumda oluşturulan defektlerde kritik büyüklük 6 mm olarak belirlendiğinden, bu çalışmada kalvaryumun dış kortikal ve spongiyöz katmanlarını kapsayan 6 mm çapında yarı kalınlık (half thickness) defektleri oluşturulacaktır.

Kemik doku üzerine yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesinin değerlendirme süreleri arasında ortak bir görüş yoktur (Schmidmaier ve ark 2001, Gielkens ve ark 2008). Uushalo ve ark (2001), histolojik olarak defektin yeni kemik dokuyla ilk haftada dolduğunu, aynı zamanda kortikal kemiğin kapanmasının 6 hafta sonunda gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Tavşanlarda yaptıkları kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda Miranda ve ark (2006), 7., 15., 30., 60. günlerde, Ohya ve ark (2005), 2., 4., 8. haftalarda, 1., 2., 4. aylarda, Yıldız (2006), 14., 30., 60. günlerde, Butterfield (2005), 2, 4., 8. haftalarda. Jung ve ark (2005), 4. hafta sonunda. Nagata ve ark (2009), 4. ve 12. hafta sonunda, Hatakeyama ve ark (2008) ise 2. hafta sonunda hayvanları kurban etmişlerdir. Aghaloo ve ark (2002, 2004) tavşanlarda PRF ile yaptıkları çalışmada tavşanları 4., 8. ve 16. haftalarda Pripatnanont ve ark (2013) 8 hafta sonunda kurban etmişlerdir. Yazawa ve ark (2004) tavşanlarda 1., 4. ve 8. haftalarda radyolojik ve histolojik değerlendirme yapmışlardır. Aghaloo ve ark (2004), Yazavva ve ark (2004), Butterfield ve ark (2005), Jung ve ark (2005)'ın yaptıkları çalışmalarda 1. ve 2. haftalarda kemikleşmenin başladığını 6. ve 8. haftalarda da defektlerin dolduğunu bildirmektedirler.

Duporieux ve ark (1999), devekuşu yumurta kabuğunun rezorbe olan bir materyal olduğunu ve rezorpsiyonun partikül büyüklüğüyle bağıntılı olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Durmuş ve ark(2007) kabuk zarı ve kabuk tozunun kafatası defektlerinin iyileşmesi üzerindeki etkilerinin inceledikleri çalışmada, doku reddi reaksiyonunun oluşmadığını ve 90 gün sonra küçük partiküllerin daha fazla

irilerinse daha az rezorbe edildiğini tespit etmişlerdir. Küçük partiküllerin implante edildiği defekt sahasındaki kemik doku oranı da düşük bulunmuştur. Devekuşu yumurta kabuğunun osteoprodüktif aktivitesi üzerinde çalışan Duporieux ve ark(1995), bu materyalin osteoindüktif etkisinin olmadığını ileri sürmüştür. Bununla birlikte, araştırmacılar (Gautron ve ark 1977, Duporieux ve ark1995) devekuşu yumurta kabuğu partiküllerinin maksillofasiyal cerrahideki muhtemel rolünün belirlenmesi için uzun süreli çalışmaya ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Durmuş ve ark (2003) ve (2007) ise devekuşu yumurta tozu partiküllerinin, partikül büyüklüğüne bağlı olarak değişen derecede osteoprodüktif etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılara göre (Durmuş ve ark 2003, Durmuş ve ark2007), Duporieux ve ark(1995)'nın bulgularıyla aradaki farklılığın materyal hazırlanması işlemlerinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kollajen, bağ dokusunun ekstraselüler matriksinin en önemli yapısal proteindir ve vücutta hücre tutunması için doğal bir ağ görevi yapar ve mekanik kararlılık sağlar. Kemiğin organik matriksinin çok büyük bir kısmı Tip I kollajendir. Bu nedenle kemik demineralizasyonu takiben uygulanan işlemlerle en fazla jelâtin elde edilen kaynaktır. Jelatinin kemik defekt sahasında kullanımı üzerinde oldukça sınırlı çalışma bulunmaktadır. Bayat ve ark (2010) kendi hazırladıkları kemik jelatinin, İran kedilerinde deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinin tedavisinde oldukça iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bölgede yeni oluşan kemik dokusunun sadece defekt yüzeyinde şekillenmediğini, aynı zamanda jelâtin partikülleri arasında bir ağ oluşturduğunu vurgulamışlardır. Aynı zamanda partiküllerin rezorpsiyonunun da oldukça iyi olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar (Bayat ve ark 2010) hazırladıkları materyalin içerdiği kemik morfojenik proteinlere bağlı olarak osteogenezisi uyardığı sonucuna varmışlardır. Zandi ve ark (2009), jelatini hidroksi apatit nano kristallerini kaplamakta kullanmışlardır. Araştırmacılar, (Zandi ve ark 2009) jelatinle kaplamanın, mekanik gücü artırdığı, istenen doku uyum ve biyoaktivite özelliklerine sahip olduğu, hücre tutunması ve çoğalma özelliklerinin daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır. Jelatinle kaplanan devekuşu yumurta kabuk partiküllerinin kemik defekt sahasındaki iyileşme üzerindeki etkisiyle osteoprodüktif etkisi konusunda yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır.

Karboksimetil selüloz (CMC), pek çok sanayi dalında ve özellikle de gıda endüstrisinde yaygın kullanıma sahip olan suda eriyebilen bir polimerdir. Bu madde beyaz veya beyazımtırak renkli bir tozdur ve suda çözündüğünde şeffaf, kokusuz ve koyu bir jel oluşturur. Suda eriyen CMC molekülleri arasında oluşan ağimsı ve gözenekli yapıda önemli miktarda su tutulduğundan, CMC başta gıda ve ilaç sektörü olmak üzere pek çok alanda kıvam kazandırıcı olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Doğal kaynaklardan üretildiğinden, bilinen bir yan etkisi yoktur.

CMC'nin kıvam kazandırıcı, su tutucu, süspansiyon oluşturucu ve ince film tabakası şekillendirmesi yanında kimyasal kararlılığı, fizyolojik olarak stabil olması ve toksik olmaması nedeniyle partikül halindeki kemik greftlerinin yüzeylerinin kaplanması ve bir arada tutulmasını sağlamak amacıyla pasta hazırlanmasında çok güçlü kullanım potansiyeli olan bir maddedir. Gözenekli yapıya sahip olması, bu maddenin farklı şekillerde biyomateryal olarak kullanılması potansiyeli oluşturmaktadır. Bu konuda yapılmış az sayıda klinik çalışma olmakla birlikte, Yang ve ark (2009) poliakrilamid (PAM) ve CMC kopolimeri sentezi üzerinde çalışmışlar ve bu işlemin PAM'ın viskozitesini, tuzlara ve ısıya karşı direncini önemli derecede artırdığını bildirmişlerdir. CMC ile kaplanan devekuşu yumurta kabuk partiküllerinin kemik defekt sahasındaki iyileşme üzerindeki etkisiyle osteoprodüktif etkisi konusunda yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada erkek Yeni Zellanda tavşanlarının kafatasında deneysel olarak oluşturulan kritik boyuta sahip defektlerin rekonstrüksiyonu için bir grupta devekuşu yumurta kabuğu tozundan elde edilen greft materyali, bir grupta CMC ile kaplanan devekuşu yumurta kabuğu tozu greft materyali, bir grupta jelatinle kaplanan devekuşu yumurta kabuğu tozu greft materyali yerleştirilmiştir. Diğer grupta ise defekt kontrol amacıyla boş bırakılmıştır. Tavşanlar bir ve üç aylık dönemlerin sonunda sakrifiye edilerek histolojik, radyografik ve klinik incelemeler yapılmıştır.

Bir aylık kontrol ve çalışma grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte CMC ile kaplanmış DYK uygulanan defekt bölgelerinin periferinden başlayan kemik formasyonun defekt tabanına doğru devam ederek tabanı tamamen kapladığı, sadece DYK uygulanan defektlerde de kemikleşmenin hem defektin sınırlarında hem de

partiküller arası bölgelerde daha ileri seviyelerde olduğu görülürken, jelatinle kaplanmış DYK uygulanan bir aylık deney gruplarında greft partiküllerinin zengin bir bağ dokusu ile çevrelendiği görülmüş, osteoblastik aktivitenin oldukça zayıf olduğu belirlenmiştir. Boş bırakılmış bir aylık kontrol grubunda ise periostun defekt ortasına doğru çöktüğü izlenmiştir. Greft uygulanan gruplarda bu durum gözlenmemiştir.

Üç aylık deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Fakat, DYK ve CMC ile kaplanmış DYK uygulanan üç aylık deney gruplarında kemik trabeküllerinin olgunlaştığı, lamelli kemik yapısı kazandığı görülmektedir. Bunun yanında, jelatinle kaplanmış DYK uygulanan üç aylık deney gruplarında partiküller etrafındaki osteoblastik aktivitenin zayıf ve lokalize özellik gösterdiği izlenmiş, kontrol grubunda ise defekt sınırından uzaktaki bağ dokusu içinde osteoblastik aktivite görülmemiştir. Yine bir aylık kontrol grubunda olduğu gibi üç aylık kontrol grubunda da periostta belirgin bir çökme gözlenmiştir.

Bir ve üç aylık gruplar, kullanılan greft materyaline göre kendi aralarında karşılaştırıldığında 3 aylık gruplarda daha belirgin kemikleşme, özellikle DYK ve CMC ile kaplanmış DYK gruplarında havers sistemleri daha sık görülmüştür.

Radyolojik değerlendirmede kontrol grubu deney grupları ile karşılaştırıldığında radyolusensinin kontrol grubunda üçüncü ayda devam ettiği görülmüştür. Deney gruplarında partiküllerin radyoopasitesi giderek azalmış, yerini yeni kemik dokusuna bırakmıştır.

5. SONUÇLAR

DYK greft materyali temini ve hazırlaması kolay, ucuz, kemik iyileşmesi üzerinde pek çok olumlu etkisi olan güvenli bir osteokondüktif materyaldir.

Devekuşu yumurta kabuğu yapısal özellikleri bakımından, yüzey yapısının mikroporozitesi bakımından, biyouyumluluk bakımından kemik greft materyali olarak kullanılması uygun görülmüştür.

Tavşan kafatasları üzerinde oluşturulan kemik defektlerinde, deve kuşu yumurta kabuğu tozundan elde edilen greft, karboksimetil selüloz ve jelatinle kaplanmış formlarının, yeni kemik yapımına etkileri, birbirleriyle ve kontrol örnekleriyle radyolojik ve histopatolojik yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar göz önüne alındığında üç deney grubunda da kontrol grubuna göre belirgin bir kemikleşme saptanmıştır.

İstatistiksel olarak bir fark bulunmasa da, DYK ve CMC ile kaplanan DYK gruplarında birinci ve üçüncü aylarda daha yüksek kemikleşme görülmüştür.

DYK ve CMC ile kaplanan DYK greft materyali klinik uygulama kolaylığı açısından karşılaştırıldığında ise CMC ile kaplanan DYK greft materyalinin daha kolay uygulandığı belirlenmiştir.

Jelatin, doğada serbest halde bulunmaz, hayvanların deri ve demineralize edilen kemiklerinden hazırlanan Tip I kollagenin asit veya alkaliyle termal denatürasyon veya parçalanmasıyla ortaya çıkan kısmi hidroliziyle elde edilen bir hidro kolloiddir. Domuz derisinin asit muamelesiyle elde edileni Tip A, sığır kemiğinden alkali muamelesiyle elde edileni de Tip B jelatin olarak bilinir. Yapısal, fiziksel, kimyasal, immünolojik özellikleri iyi bilinen biyobozunur, biyouyumlu, non toksik, hücre çoğalmasını destekleyen; çapraz bağlı filmler, yaprak, ağ, iplik, sünger ve boncuk tarzı ürünler hazırlanabilir bir materyaldir. Ayrıca, moleküler yapısında aromatik halka içermediğinden, non immünojenik bir maddedir. Bu yüzden tıpta, farklı ürünler halinde geniş kullanım alanı bulmuştur.

Domuz kaynaklı jelâtinin tıbbi amaçlarla kullanımı dini gerekçelerle sınırlıdır. Sığır kaynaklı jelâtinin kullanımı ize BSE (sığır spongiyoform ensefalopati) nedeniyle riskli görülebilir. Asit demineralizasyonu, riski 10 kez, alkali

muamelesi ise 100 kez azaltmakta, birleşik etki ise 1000 kez azalma şeklinde gerçekleşmektedir. UHT uygulamasının azaltıcı etkisinin ise 100, muhtemelen 1000 kez olduğu hesaplanmaktadır. Yıkama, filtrasyon, iyon değiştirme ve diğer kimyasal uygulamalar da BSE (sığır spongiyofom ensefalopati) riskini yaklaşık 100 kat daha azaltmaktadır.

Karboksimetil selüloz, günümüzde en yaygın kullanıma sahip olan suda eriyen polimerlerden biridir. Karboksi metil selüloz, beyaz veya beyazımtırak bir toz olup, suda çözündüğünde şeffaf ve kokusuz viskoz bir sıvı oluşturur. Suda eriyen karboksi metil selüloz molekülleri arasında, üç boyutlu ağ şekillendirecek tarzda yan bağlar şekillenir. Oluşan bu ağimsi ve gözenekli yapının gözeneklerinde önemli miktarda su tutulduğundan, karboksimetil selüloz başta gıda ve ilaç sektörü olmak üzere pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıdalarda kıvam arttırıcı katkı maddesi olarak kullanılan karboksimetil selüloz, gıda sektöründe E 466 olarak numaralandırılmıştır. Doğal kaynaklardan üretildiğinden, yan etkisi yoktur.

Karboksimetil selüloz sıcak veya soğuk suda çözünebilir, organik çözücülerde çözünmez ve su/alkol sistemleriyle uyumludur. karboksi metil selüloz'nin fonksiyonel özellikleri, selülozun içerdiği hidroksil gruplarına bağlıdır. karboksi metil selüloz'nin doğal pH'sı 8.25 iken, daha iyi çözünmesi amacıyla ticari ürünleri 7-7,5 pH'da üretilir. pH düştükçe, ürünün çözünürlüğü de azalır, 4'ün altındaki pH'larda suda çözünmez. Karboksimetil selüloz'nin soğuk suda hızlı çözünmesi, viskozitesinin kontrol edilebilmesi, kıvam artırması gibi nedenlerle, bu maddenin faz-emülsiyon stabilizatörü ve süspansiyon ajanı olarak kullanılmasına imkan verir. Karboksimetil selülozun kıvamlaştırıcı, su tutucu, süspansiyon oluşturucu ve ince film tabakası oluşturucu etkileri yanında kimyasal kararlılığı, fizyolojik olarak inert ve biyouyumlu olması, kokusuz ve tatsız olması yanında toksik olmaması nedeniyle kemik greft materyallerinin hazırlanmasında bağlayıcı madde olarak kullanıma oldukça uygun bir yardımcı maddedir. Karboksimetil selüloz polimerik bir bağlayıcı ve seyreltici olduğundan, greft materyalinin klinik kullanımını kolaylaştırır. Karboksimetil selüloz'nin oldukça olumlu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Karboksimetil selüloz, polimer stabilizasyonunu sağlama ve kontrollü ilaç salım sistemlerinde de oldukça fonksiyoneldir. Ayrıca, oluşturduğu 3 boyutlu ağ, iyileşmenin erken döneminde hücreler ekstraselüler matrikse benzer

destek sağlayabilir. Piyasada bol bulunan karboksi metil selüloz formu olan Sodyum-karboksimetil selüloz çok sayıda hidroksi ve karbolik gruplara sahip olduğundan, iyi su tutar ve jel oluşturur, biyobozunumu iyidir.

CMC materyalinin putty formunda greft hazırlanmasında ve uygulanmasında jelatin gibi materyallere karşı iyi bir alternatif olduğu görülmüştür.

Litaratürde konuyla ilgili klinik çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız ilerde yapılacak deneysel ve klinik çalışmalara yardımcı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Aaboe M, Pinholt Me, Hjorting Hansen E, 1995. Healing of Experimentally Created Defects: A Review. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 33, 312-8.
- Addadi L, Weiner S, 1985. Control and design principles in biological mineralization. *Angew Chem Int Ed Engl*, 31, 153-69.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG, 2004. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with anorganic bovine bone in the rabbit cranium: A Pilot Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 19, 59-65.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG 2002. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A Pilot Study. *J Oral Maxillofac Surg*, 60, 1176-81.
- AltunatmazK, 2004. Kırık iyileşmesinin biyolojisi ve biyolojik osteosentez. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 30,141-7.
- Appel TR, Pötzsch B, Müller J, von Lindern JJ, Berge SJ, Reich RH, 2002. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clin Oral Implants Res*, 13, 522-8.
- Atay MH, Yılmaz FR, 2005. İki farklı kemik greftinin histopatolojik olarak incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, 32, 172-8.
- Aybar B, Gümrü O, 2000. Oral cerrahide kemik defektlerinin onarımı. *İstTıp Fak Mecmuası*, 5, 63-73.
- Aybar B,Yalçın S, Yazar TT, Gürel A, Emes Y, Yıldırım F,Yeşildere T, 2000. Deneysel kemik defektlerinin onarımında yönlendirilmiş doku rejenerasyonu(YDR)'nın ve YDR ile birlikte değişik kemik greftlerinin birlikte uygulanmasının histopatolojik olarak araştırılması. *İst Tıp Fak Mecmuası*, 5, 63-72.
- Bafiarır S, Selek H, Yıldız, Salık Y, 2005. Ortopedik onkolojide kemik defektlerinin onarımında vaskülarize olmıyan fibula greftleri. *Acta Orthopaedica et TraumatologicaTurcica*, 39, 300-6.
- Baliga M, Davies P, Dupoirieux L, 1998. Powdered eggshell in the repair of cystic cavities of the jaw. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*,99, 86-98.
- Barnes L, Kostneuk J, Gerstenfeld C, EinhornA, 1999. Perspective: growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res*, 14,185-8.
- Bauer W, Muschler F, 2000. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res*, 371, 10-27.
- Bayat M, Momen Heravi F, Marjani M, Motaharry P, 2010. A comparison of bone reconstruction following application of bone matrix gelatin and autogenous bone grafts to alveolar defects: An animal study. *Cran Max Fac Surg*, 38, 288-92.
- Bernard G, 1991. Healing and Repair of Osseous Defects. *Dent Clin North Am*, 35, 469-77.
- Bodner L, 1996. Effect of decalcified freeze-dried bone allograft on the healing of jaw defects after cyst enucleation. *J Oral Maxillofac Surg*,54, 1282-6.
- Castagrola P, Bet P, Quarto R, Gennari M, Cancedda R, 1991. cDNA cloning and gene expression of chicken osteopontin. Expression of osteopontin mRNA in chondrocytes is enhanced by trypsin treatment of cells. *J Biol Chem*, 266, 9944-9.
- Cheng EY, Gebhardt MC, 1991. Allograft reconstructions of the shoulder after bone tumorresections. *Orthop Clin North Am*, 22, 37-48.
- Chesmel Kd, Branger J, Vvertheim H, Scarborough N, 1998. Healing response to various forms of human demineralized bone matrix in athymic rat cranial defects. *J Oral Maxillofac Surg*, 56, 857-62.
- Çetnus E, Akgümüş M, Cever İ, Atay ÇF, Bakarş S, 2000. Kırık iyileşmesi üzerine kalsitonin hormonunun etkisi.*Journal of Arthroplasty Arthroscopic Surgery*, 11, 179-83.
- De Groot, 1983. Histology of bone: A synopsis, bioceramics of calcium phosphate ed, CRC Press, Boca Ration,59-65.
- Develioglu H, Koptagel E, Gedik R, Dupoirieux L 2005. The effect of a biphasic ceramic on calvarial bone regeneration in rats. *Journal of Oral Implantology*, 31,6, 309-12.

- Dietz G, Bartholmes P, 1998. Osseous tissue cultures under the influence of oleaginous calcium hydroxide suspensions. In: Dietz, G (Ed), Calcium Hydroxide and Bone Regeneration. G Dietz, Munchen,1, 55–81.
- Dominguez Vera J, Gautron J, Garcia Ruiz JM, Nys Y, 2000. The effect of avian uterine fluid on the growth behaviour of calcite crystals. *Poult Sci*, 79, 901-7.
- Dupoirieux L, Costes V, Jammet P, Souyris F, 1994. Experimental Study on Demineralized Bone Matrix (DBM) and Coral as Bone Graft Substitutes in Maxillofacial Surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 23, 395.
- DupoirieuxL, 1999. Ostrich eggshell as a bone substitute: a preliminary report of its biological behaviour in animals a possibility in facial reconstructive surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg*,37,467– 71.
- Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M, 1999. The effect of pentosan polysulphate on bone healing of rat kalvaryal defects. *J Craniomaxillofac Surg*, 27, 314-20.
- Dupoirieux L, Pourquier D, Souyris F, 1995. Powdered eggshell: A pilot study on a new bone substitute for use in maxillofacial surgery. *J Craniomaxillofac Surg*, 23, 187-94.
- Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M, 2001. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat kalvaryal defects. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 30, 58-62.
- Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M, Téot L, 2001. Resorption kinetics of eggshell: An in vivo study. *J Craniofac Surg*, 12, 53-8.
- Dupoirieux L, Neves M, Pourquier D, 2000. Comparison of pericranium and eggshell as space fillers used in combination with guided bone regeneration: an experimental study. *J Oral Maxillofac Surg*, 58, 40-6.
- Durmus E, Celik I, Ozkan Y, Aydin MF, Ozturk A, 2003. Evaluation of the potential beneficial effects of ostrich eggshell combined with eggshell membranes in healing of calvarial defects in rabbits. *J Int Med Res*,31,223-30.
- Durmuş E, Celik I, Aydın MF, Yıldırım G, Sur E, 2007.Evaluation of the biocompatibility and osteoprodutive activity of ostrich eggshell powder in experimentally induced calvarial defects in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 12, 82-9.
- Efeoğlu A, 2002. Periodontal tedavide kemik greftleri. *Akademik Dental Dişhekimliği Dergisi*, 4, 13.
- Fedi FP, 1989. The periodontic syllabus 2nd. Ed. Philadelphia, London, p 32-8.
- Feng QL, Zhu X, Li HD, Kim TN, 2001. Crystal orientation in ostrich eggshells.*J Crystal Growth*,233, 548-54.
- Fernandez MS, Moya A, Lopez L, Arias JL, 2001. Secretion pattern, ultrastructural localization and function of extracellular matrix molecules involved in eggshell formation. *Matrix Biol*,19, 793-803.
- Gautron J, Bain M, Solomon S, Nys Y, 1996. Soluble matrix of hen's eggshell extracts changes in vitro the rate of calcium carbonate precipitation and crystal morphology. *Br Poult Sci*, 37, 853-66.
- Gautron J, Hincke MT, Garcia Ruiz JM, Dominguez J, Nys Y, 1977. Ovotransferrin and lysozyme are constituent in eggshell matrix. In *Eggs and Egg Products Quality*. J Kijowski and J Pikul Eds Proceedings VII European Symposium 66-75, Pozhaus, Poland.
- Gielkens P, Schortinghuis J, Jong J, Charlotte M, Van Leeuwen MB, Raghoobar GM 2008. A comparison of micro CT, microradiography and histomorphometry in bone research. *Archives of Oral Biology*, 53, 558-66.
- Glimcher MJ, 1989. Mechanism of calcification: Role of collagen fibrils and collagen phosphoproteins complexes in vitro and in vivo. *Anat Rec*, 224, 139-53.
- Gómez Guillen MC, López Caballero ME, López de Lacey A, Alemán A, Gimenez B, Montero P, 2010. Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. In: E Le Bihan, & N. Koueta (Eds), *Sea by products as a real material: New ways of application Kerala, India: Transworld Research Network Signpost*, 7, 89-115.

- Gómez Guillen MC, Gimenez B, López Caballero ME, Montero MP, 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25, 1813-27.
- Güven Y, 1988. Kıkırdak, Kemik ve Diş Biyokimyası. İ Ü Dişhekimliği Fak Biyokimya Bilim Dalı Ders notları, p. 14-9.
- Güven O, Saraçoğlu U, 2003. Solventlerle dehidrate olmuş kortikal kemik plakalar kullanarak osteopromotion tekniği ile kemik defektlerinin iyileşmesi: Pilot çalışma. *T Klin Diş Hek Bil*, 9, 36-41.
- Habibović P, Yuan H, Valk CM, Meijer G, Blitterswijk CA, Groot K, 2005. 3D microenvironment as essential element for osteoinduction by biomaterials. *Biomaterials*, 26, 3565-75.
- Hatakeyama M, Beletti ME, Barbosa DZ, Dechichi P 2008. Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet rich plasma obtained by 2 different methods. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 105, 13-8.
- Haug IJ, Draget KI, 2009. Handbook of hydrocolloids (Second edition) Edited by G O Phillips and P A Williams, Glyndwr University, UK. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 173, 948-52.
- Helm G, Sheehan J, Sheehan J, Jane J, Di Pierro C, Simmons N, Gillies G, Kallmes D, Sweeney T, 1997. Utilization of Type 1 Collagen Gel, Demineralized Bone Matrix, and Bone Morphogenetic Protein 2 to Enhance Autologous Bone Lumbar Spinal Fusion. *J Neurosurg*, 12, 86-93.
- Hou H, Li B, Zhao X, Zhuang Y, Ren G, Yan M, 2009. The effect of pacific cod (*Gadus macrocephalus*) skin gelatin polypeptides on UV radiation induced skin photoaging in ICR mice. *Food Chemistry*, 115, 945-50.
- Jung RE, Schmoekel HG, Zwahlen R, Kokovic V, Hammerle CHF, Weber E 2005. Platelet rich plasma and fibrin as delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Clin Oral Impl Res*, 16, 676-82.
- Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO, 1998. Temel Histoloji. 8 Baskı İstanbul: Barış Kitabevi Ltd Şti, p. 132-51.
- Kaya A, Kaya B, Aktas A, Fırat E, 2013. Effect of rifampin in combination with allogeneic, alloplastic, and heterogenous bone grafts on bone regeneration in rat tibial bone defects. *JOMSMP*, 27, 20-8.
- Kar N, 1997. Ekstremité Travmaları Acil Yaklaşım, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Eğitim Etkinlikleri Acil Hekimlik Sempozyumu, İstanbul.
- Kekilli E, Yağmur C, Ertem K, Türkbilen B, 2005. Kemik greftlerinde nükleer tıp uygulamaları. *Türkiye Klinikleri JMed Sci*, 25, 261-79.
- Kılıçoğlu SS, 2002. Mikroskopik düzeyde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp fakültesi Mecmuası*, 55, 143-50.
- Kim S, Kim Y, Byun H, Nam K, Joo D, Shahidi F, 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1984-9.
- Kim S, Mendis E, 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts a review. *Food Research International*, 39, 383-93.
- Kökden A, Türker M, 1999. Oral ve maksillofasial cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateriyaller. *Cumh Üniv Dis Fak Derg*, 2, 162-74.
- Kucukkolbasi H, Mutlu N, Isik K, Celik I, Oznurlu Y, 2009. Histological evaluation of the effects of bioglass, hidroxyapatite, or demineralized freeze-dried bone, grafted alone or as composites, on the healing of tibial defects in rabbits. *Saudi Med J*, 30, 329-33.
- Laurencin CT, Khan Y, 2005. Bone graft substitute materials. *Medicine*. Instant Access to the minds of medicine. www.emedicine.com/orthopedic.
- Lavelin I, Meiri N and Pines M, 1999. New insight in eggshell formation. *Poult Sci*, 79, 1014-7.
- Leeson T, Leeson R, Raparo A, 1988. Text and Atlas of Histology, WB Saunders Co Philadelphia.

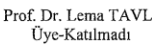
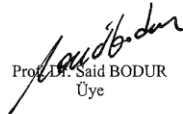
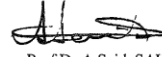
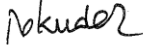
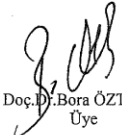
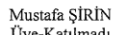
- Leonetti JA, Rambo HM, Thronsdon RR, 2000. Osteotome sinus elevation and implant placement with narrow size bioactive glass, *Implant Dentistry*, 9, 177-81.
- Lew D, Farrel B, Bardach J, Keller J, 1997. Repair craniofacial defects with hydroxyapatite cement. *J Oral Maxillofac Surg*, 55, 1441-9.
- Lin L, Li B, 2006. Radical scavenging properties of protein hydrolysates from Jumbo flying squid (*Dosidicus eschrichtii* Steenstrup) skin gelatin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2290-5.
- Lindholm TS, Gao TJ, 1993. Functional carriers for bone morphogenetic proteins. *Anal Chirur Gynaecol*, 82, 3-12.
- Loty B, Courpied JP, Tomeno B, Postel M, Forest M, Abelanet R, 1990. Bone allografts sterilised by irradiation. Biological properties, procurement and results of 150 massive allografts. *Int Orthop*, 14, 237-42.
- Marx RE, Saunders TR, 1986. Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In: Fonseca RJ, Davis, H eds *Reconstructive Preprosthetic Oral and Macsillofac Surg Philadelphia: WB Saunders*, 347-428.
- Mendis E, Rajapakse N, Byun H, Kim S, 2005. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. *Life Sciences*, 77, 2166-78.
- Miranda SR, Filho HN, Padovan EM, Daniel A, Daniela R, Mariza N 2006. Use of platelet rich plasma under autogenous onlay bone grafts. *Clin Oral Impl Res*, 17, 694-9.
- Nagata MJH, Melo LGN, Messoria MR, Bomfim SRM, Fucini SE, Garcia VG, 2009. Effect of platelet rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical size defects. *J Clin Periodontal*, 36, 775-83.
- Nakano T, Ikawa N, Ozimek L, 2001. Extraction of glycosaminoglycans form chicken eggshell. *Poult Sci*, 80, 681-4.
- Nasr HF, Aichelmam Reidy ME, Yukna RA, 1999. Bone and bone substitutes. *Periodontology* 2000, 19, 74-86.
- Nienhuijsa MEL, Walboomersb XF, Merkxa MAW, Stoelingaa PJW, Jansenb JA, 2006. Bone like tissue formation using an equine COLLOSSs E filled titanium scaffolding material. *Biomaterials*, 27, 3109-14.
- Ohya M, Yamada Y, Ozawa R, Ito K, Takahashi M, Ueda M, 2005. Sinus floor elevation applied tissue engineered bone: Comparative study between mesenchymal stem cells/platelet rich plasma (PRP) and autogenous bone with PRP complexes in rabbits. *Clin Oral ImplRes*, 16, 622-9.
- Oktar FN, Göller G, Heybel N, Varol R, 2002. İnsan dişi kullanılarak gözenekli bioseramik üretimi. *Artroplas Artrosk Cerrh Journal of Arthroplasty & Arthroscopy Surgery*, 13, 99-104.
- Okumuş Z, Yıldırım ÖS, 2005. The Cuttlefish Backbone: A New Bone Xenograft Material, *Türk J Vet Anim Sci*, 29, 1177-84.
- Paker Ş, 1993. Histoloji. Baskı 2; Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, 32 Basımevi, p. 24-58.
- Panheleux M, Bain M, Fernandez MS, Morales I, Gautron J, Arias JL, Solomon SE, Hincke M, Nys Y, 1999. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshell: a comparative study *British Poultry Science*, 40, 240-52.
- Piitulainen J M, Kauko T, Aitasalo K, Vuorinen V, Vallittu P, Posti J, 2015. Outcomes of cranioplasty with synthetic material and autologous bone grafts. *World Neurosurg*, article in press.
- Pinheiro ALB, Junior FAL, Gerbi MEM, Ramalho LMP, Marzola C, Ponzi EAC, 2003. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J*, 14, 22-9.
- Pinholt Em, Solheim E, Bang G, Sudmann E, 1992. Bone Induction by Composites of Bioresorbable Carriers and Demineralized Bone in Rats. *J Oral Maxillofac Surg*, 60, 1300-7.
- Pripatananont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K, 2013. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg*, 41, 191-200.

- Rabie A, Lie K, Jie R, 1996. Integration of Endochondral Bone Grafts in the Presence of Demineralized Bone Matrix. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 25, 311-5.
- Rabie AB, Wong RW, Hagg U, 2000. Composite autogenous bone and demineralized bone matrices used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 38, 565-70.
- Redondo L, Cantera J, Hernández A, Puerta C, 1995. Effect of Particulate Porous Hydroxyapatite on Osteoinduction of Demineralized Bone Autografts in Experimental Reconstruction of the Rat Mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 24, 445-51.
- Redondo LM, Verrier HA, Garcia JM, Torres MA, Vaquero PC, 1997. Repair of experimental mandibular defects in rats with autogenous, demineralized, frozen and fresh bone. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 35, 231-6.
- Rekow D, 2003. Informatics challenges in tissue engineering and biomaterials. *Adv Dent Res*, 17, 49-54.
- Revell PA, 1986. *Pathology of Bone*. Great Britain: Springer Verlag. Berlin Heidelberg, 30, 203-31.
- Rodella LF, Cocchi MA, Rezzani R, Procacci P, Hirtler L, Nocini P, Albanese M, 2015. Fresh frozen bone in oral and maxillofacial surgery. *Jornal of Dental Sciences*, article in press
- Russell JL, Block JE, 1999. Clinical utility of demineralized bone matrix for osseous defects, arthrodesis, and reconstruction: impact processing techniques and study methodology. *Orthopedics*, 22, 524-31.
- Sandor GKB, 2003. The Minimization of Morbidity in Cranio-Maxillofacial Osseous. Reconstruction. Bone graft harvesting and coral-derived granules as a bone graft substitute. Academic dissertation to be presented with the assent of the Faculty of Medicine, University of Oulu, for public discussion in the Auditorium of the institute of Dentistry, 128, 821-7.
- Schaafsma A, Pakan I, Hofstede GJ, Muskiet FA, Van Der Veer E, De Vries PJ, 2000. Mineral, amino acid, and hormonal composition of chicken eggshell powder and the evaluation of its use in human nutrition. *Poult Sci*, 79, 1833-8.
- Schmidmaier G, Wildemann B, Bail H, Lucke M, Fuchs T, Stemberger A, 2001. Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta 1) from a biodegradable poly (D, L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats. *Bone*, 28, 341-50.
- Schrieber R, Gareis H, 2007. *Gelatine Handbook. Theory and Industrial Practice*, Wiley VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weinheim, p. 335-42.
- Seyhan A, 2002. Defekt kapatma yöntemleri. *CBÜTF, Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi AD ders notları*, p. 8-23.
- Seto I, Asahina I, Oda M, Enomoto S, 2001. Reconstruction of primate mandible with a combination graft of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and bone marrow. *Am Assoc Oral Maxillofac Surg*, 59, 53-61.
- Shors EC, 1999. Coralline bone graft substitutes. *Orthopedic Clinics of North America*, 30, 599-613.
- Sodek J, Ganss B, McKee MD, 2000. Osteopontin. *Crit Rev Oral Biol Med*, 11, 279-303.
- Soydan N, 1992. Genel Histoloji. *İ Ü Dişhekimliği Fakültesi İstanbul: İ Ü Basımevi ve Film Merkezi*, p. 12-57.
- Şatan T, Sarban S, Hersekli MA, 1998. Osteoporoz. *Ankara*, p. 25-37.
- Thorwarth M, Rupprecht S, Falk S, Felszeghy E, Wiltfang J and Schleger KA, 2005. Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp) an immunohistochemical analysis. *Biomaterials*, 26, 2575-84.
- TofeAJ, Watson BA, Bowerman MA, 1991. Solution and cell mediated resorption of grafting materials. *J Oral Implantol*, 17, 345-52.
- Tomak Y, Dabak N, Kökçü C, Gülman B, Karaismailoğlu TN, Andaç A, 2000. Allograft kullanımı ve kemik bankası üzerinde deneyimlerimiz. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, 34, 139-46.

- Tomin E, Beksaç B, Lane ML, 2002. Amerika Bileşik Devletlerinde ortopedik girişimlerinde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış. Derleme. Journal of arthroplasty & arthroscopic surgery, 13, 114-29.
- Tuskan C, Yaltırık M, 2002. Oral ve Maksillofasiyal cerrahide kullanılan biyomateryaller. İstanbul, İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi, 408, 13-49.
- Verna C, Bosch C, Dalstra M, Wikesjö UME, Trombelli L, 2002. Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats. A micro-CT scan analysis. J Clin Periodontol, 29, 865-70.
- Yang J, Ho H, Chu Y, Chow C, 2008. Characteristic and antioxidant activity of retorted gelatin hydrolysates from cobia (*Rachycentron canadum*) skin. Food Chemistry, 110, 128-36.
- Yang F, Li G, He YG, Ren FX, Ren A, Wang G, 2009. Synthesis, characterization, and applied properties of carboxymethyl cellulose and polyacrylamide graft copolymer Carbohydrate Polymers, 78, 95–109.
- Yazawa M, Ogata H, Kimura A, Nakajima T, Mori T, Watanabe N 2004. Basic studies on the bone formation ability by platelet rich plasma in rabbits. J Craniofac Surg, 15, 439-46.
- Zandi M, Mirzadeh H, Mayer C, Urch H, Eslaminejad MB, Bagheri F, Mivehchi H, 2009. Biocompatibility evaluation of nano-rod hydroxyapatite gelatin coated with nano-HAp as a novel scaffold using mesenchymal stem cells. Wiley InterScience, 3, 1244-55.
- Zhang M, Powers Rm Jr, Vvolfinbarger L Jr, 1997. A Quantitative Assessment of Osteoinductivity of Human Demineralized Bone Matrix. J Periodontol, 68, 1076-84.

7. EKLER

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL KARARLARI

Karar Sayısı: 2011-034	Karar Tarihi: 25/04/2011		
S.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalından Prof. Dr. Ercan DURMUŞ ve Dt. Alkın ÜNSAL tarafından sunulan “Karboksimetil Selüloz ve Kollajenle Kaplanan Devekuşu Yumurta Kabuk Partiküllerinin, Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kafatası Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerinde Etkilerinin Klinik, Radyolojik ve Histomorfometrik Yöntemlerle Değerlendirilmesi” başlıklı doktora tezi projesi 8 üyenin katılımı ile değerlendirildi. Projede 2 grupta toplam 20 adet tavşanın kullanılacağı, tavşanların yüksek doz anestezi ile kurban edileceği bildirilmiştir. Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen “Etik Kurallara Uygunluk Esası” dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde “Başvuru Sahibinin Sorumlulukları” başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6da belirtilen “Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler” saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında “Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna”, çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına” sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından “uygun” olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.			
 Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK Başkan	 Prof. Dr. Lema TAVLI Üye-Katılmadı	 Prof. Dr. Said BODUR Üye	 Prof. Dr. A. Saide ŞAHİN Üye
 Doç. Dr. Nilsel OKUDAN Üye	 Doç. Dr. H. Serdar GERGERLİOĞLU Üye	 Doç. Dr. Mehmet GÜL Üye	 Doç. Dr. Bora ÖZTÜRK Üye
 Dr. M. Metin ŞENER Üye-Katılmadı	 Muammer GÜLKAYA Üye	 Mustafa ŞİRİN Üye-Katılmadı	

8. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Konya'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Konya'da tamamladım. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinden, 2006 yılında mezun oldum. 2008 yılında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dal'ında doktora öğrencisi olarak eğitimime devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.