

TC
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL KEMİK DEFİKTLERİNDE UYGULANAN ERİYEBİLEN GREFT
MATERYALİNİN BİYOLOJİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ (RAT TİBİA VE
VİSERAL ORGANLAR)**

(DOKTORA TEZİ)

CEVDET UTKU
Diş Hekimi

DANIŞMAN
Prof. Dr. İ. Hakan Özyuvacı

AĞIZ DIŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL 2006

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Ağız,Diş-Çene Hast.ve Cerrahisi
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒
Anabilim Dalı : Ağız,Diş-Çene Hast.ve Cerr.A.B.Dalı
Tez Sahibi : Dt.Cevdet UTKU
Tez Başlığı : Deneysel Kemik Defektlerinde Uygulanan Eriyebilen Greft Materyalinin Biyolojik Etkilerinin İncelenmesi.(Rat Tibia ve Viseral Organlar)
Sınav Yeri : İ.Ü.Dişhek.Fakültesi -Prof.Dr.A.Özerkan Toplantı Salonu
Sınav Tarihi : 04 / 07 / 2006

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

- 1.Prof.Dr.Hakan ÖZYUVACI (İ.Ü.Dişhek.Fak.Ağız,Diş-Çene Hast.ve Cerr.A.B.D)
- 2.Prof.Dr.Cengizhan KESKİN (İ.Ü.Dişhek.Fak.Ağız,Diş-Çene Hast.ve Cerr.A.B.D)
- 3.Prof.Dr.Selçuk BASA (M.Ü.Dişhek.Fak.Ağız,Diş-Çene Hast.ve Cerr.A.B.D)
- 4.Prof.Dr.Erhan FIRATLI (İ.Ü.Dişhek.Fak.Periodontoloji A.B.D)
- 5.Prof.Dr.Özen Doğan ONUR (İ.Ü.Dişhek.Fak.Ağız,Diş-Çene Hast.ve Cerr.A.B.D)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını,, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

İmza

Adı Soyadı

Cevdet Ulu
Cevdet Ulu

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana her zaman destek olan danışmanım ve sayın hocam
Prof. Dr. İ. Hakan Özyuvacı'ya

Tez çalışmam sırasında bana gereken anlayışı ve yardımı gösteren Prof. Dr. Özen Doğan ve Prof. Dr. Erhan Fıratlı hocalarıma

Tez konusunun belirlenmesinden itibaren beni her konuda destekleyen, ayrıca doku ve plazma numunelerimin değerlendirilmesinde emek ve yardımlarını esirgemeyen
Doç. Dr. Erol Erçağ'a ve Prof. Dr. Tanay Bilal'e

İ.Ü.Tıp Fakültesi Patoloji A.D'de tez bulgularının histopatolojik değerlendirmesinde yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Bilge Bilgiç'e

Doktora çalışmamın istatistiksel değerlendirmesini yapan
Dr. Rana Konyalıoğlu'na;

Meslek eğitimimde ve fakülte hayatımda anlayışını ve desteğini her an hissettiğim
Prof. Dr. Deniz Fırat hocama

Gösterdikleri dostluk ve yardımlardan dolayı Dr. Okhan Oral, Dt. Gülcan Kabaca
Dt. İrem Aktaş, Dt. Ahmet Abu Samra, Dt. Zeynep Sevuk
ve sevgili çalışma arkadaşlarıma;

Deneylerim sırasında vaktini ayırarak en zor zamanlarımda benden yardımını esirgemeyen
Ümmühan Şeker'e

Her türlü desteklerinden dolayı İ.Ü. Orman Fakültesin'den sayın hocalarım
Prof.Dr. Selman Uslu'ya ve Prof. Dr. Necdet Özyuvacı'ya

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve beni destekleyen aileme;
Mecbure ve İsmet Utku'ya

Üniversite ve doktora eğitimim boyunca dostluğunu her an hissettiğim
Fatih Eşki'ye

Teşekkür ederim.
Bu çalışma İ.Ü Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği tarafından desteklenmiştir.
Proje No:T235/06032003

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1.	GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.1	Giriş ve Amaç.....	2
2.	GENEL BİLGİLER.....	4
2.1	Kemik Dokusu.....	5
2.1.1	Kemik dokusunun görevleri ve genel özellikleri.....	5
2.1.2	Kemik dokusunun kimyasal yapısı.....	5
2.1.3	Kemik dokusunun morfolojik özellikleri.....	6
2.1.4	Kemik tipleri.....	7
2.1.4.1	Primer kemik dokusu.....	7
2.1.4.2	Sekonder kemik dokusu.....	7
2.1.5	Kemik hücreleri.....	9
2.1.5.1	Ostaoklastlar.....	9
2.1.5.2	Osteoblastlar.....	10
2.1.5.3	Kemik yüzeyini döşeyen hücreler.....	11
2.1.5.4	Osteositler.....	11
2.1.6	Kemik oluşumu.....	13
2.1.6.1	İntramembranöz kemik oluşumu.....	13
2.1.6.2	Endokondral kemik oluşumu.....	14
2.1.6.3	Kemik büyümesi ve gelişiminin evreleri.....	15
2.1.6.4	Şekillenme.....	15
2.1.6.5	Yeniden şekillenme.....	16
2.1.7	Kemik metabolizmasını etkileyen faktörler.....	16
2.1.8	Kemik dokudaki yara iyileşmesi.....	18
2.1.8.1	İnflamasyon.....	19
2.1.8.2	Granulasyon dokusu.....	19
2.1.8.3	Kallus fazı.....	18
2.1.8.4	Remodelling.....	21
2.2	Kemik greftleri.....	23
2.2.1	Otojen kemik greftleri.....	24
2.2.2	Allogreftler.....	25
2.2.3	Ksenogreftler.....	26
2.2.4	Alloplastlar ve Beta trikalsiyum fosfat.....	27
2.2.5	Osteoaktif moleküller.....	30
2.3	Greft materyalindeki bioelementler ve genel fonksiyonları.....	30
2.3.1	Kalsiyum ve fosfor.....	31
2.3.1.1	Kalsiyum ve fosfor metabolizması.....	31
2.3.1.2	Kalsiyum ve fosfor atılımı.....	33
2.4	Alkalen Fosfataz.....	33
2.4.1	Alkalen Fosfataz düzeyinde artışa yol açan bazı patolojiler.....	34
2.4.1.1	İskelet sistemini etkileyen hastalıklar.....	34
2.4.1.2	Hepatobiliyer hastalıklar.....	35
2.4.1.3	Diğer nedenler.....	36
2.4.2	Alkalen Fosfataz düzeyinde azalmaya yol açan bazı patolojiler.....	37

3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1	Gereç.....	40
3.2	Yöntem.....	40
3.2.1	Deney hayvanları ve gruplar.....	40
3.2.2	Cerrahi uygulamalar.....	43
3.2.3	Biyokimyasal analizler.....	50
3.2.3.1	Plazmada Ca, P, ALP ölçümleri.....	50
3.2.3.2	Organlarda Ca, P ölçümleri.....	50
3.2.3.3	İdrarda Ca, P ölçümleri.....	51
4.	BULGULAR.....	52
4.1	Histopatolojik bulgular.....	53
4.2	İstatistiksel bulgular.....	57
5.	TARTIŞMA.....	71
	KAYNAKLAR.....	85
	ÖZGEÇMİŞ.....	96

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. Cerasorb®'un içeriğinde ki eser elementler.....	28
Tablo 2. Deney hayvanlarına verilen katı yemin içeriği.....	41
Tablo 3. Deney gruplarında ortamda bulunan greft materyali miktarı.....	45
Tablo 4. Gruplardaki idrar kalsiyum seviyesine ait istatistiksel değerlendirme.....	57
Grafik 1. Gruplara göre ve aylara göre idrar kalsiyum seviyeleri.....	59
Tablo 5. Gruplardaki idrar fosfor seviyesine ait istatistiksel değerlendirme.....	59
Grafik 2. Gruplara göre ve aylara göre idrar fosfor seviyeleri.....	61
Tablo 6. Gruplardaki plazma kalsiyum seviyesine ait istatistiksel değerlendirme.....	61
Grafik 3. Gruplara göre ve aylara göre plazma kalsiyum seviyeleri.....	63
Tablo 7. Gruplardaki plazma fosfor seviyesine ait istatistiksel değerlendirme.....	63
Grafik 4. Gruplara göre ve aylara göre plazma fosfor seviyeleri.....	65
Tablo 8. Gruplardaki plazma ALP seviyesine ait istatistiksel değerlendirme.....	65
Tablo 9. Aylara göre plazma ALP seviyesi çoklu karşılaştırma testi.....	67
Tablo 10. Gruplara göre plazma ALP seviyesi çoklu karşılaştırma testi.....	68
Grafik 5. Gruplara göre ve aylara göre plazma ALP seviyeleri.....	68
Tablo 11. Böbrek Ca, P değerleri istatistiksel değerler.....	69
Tablo 12. Karaciğer Ca, P istatistiksel değerler.....	69
Grafik 6. Böbrek dokusu Ca, P değerleri grafiksel gösterimi.....	70
Grafik 7. Karaciğer dokusu Ca, P değerleri grafiksel gösterimi.....	70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1

Kemiğin ve periostun yapısı.....8

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa
Resim 1	Kemik hücreleri.....12
Resim 2	Cerasorb®'un granül ve blok formları.....29
Resim 3	Cerasorb® granüllerinin magnifikasyonlu görüntüleri.....29
Resim 4	Tibiaların medial yüzeylerinin açığa çıkartılması.....46
Resim 5	Hazırlanan defektin görünümü.....46
Resim 6	Kullanılan β -TCP esaslı greft materyali ambalajı.....47
Resim 7	Greftin kaviteye yerleştirilmiş hali.....47
Resim 8	Defekt bölgesinin 3/0 ipek dikişlerle kapatılması.....48
Resim 9	İnsizyonla sıçanın iç organlarının açığa çıkartılması.....48
Resim 10	Çıkartılan karaciğer ve böbrek.....49
Resim 11	Kuyruk veninden kan alınması.....49
Resim 12	Deney 1 grubu tibia histopatolojik kesit görüntüsü54
Resim 13	Deney 2 grubu tibia histopatolojik kesit görüntüsü54
Resim 14	Deney 3 grubu tibia histopatolojik kesit görüntüsü55
Resim 15	Kontrol 1 grubu tibia histopatolojik kesit görüntüsü55
Resim 16	Kontrol 2 grubu tibia histopatolojik kesit görüntüsü56
Resim 17	Kontrol 3 grubu tibia histopatolojik kesit görüntüsü56

KISALTMALAR

ATPaz:	Adenozin trifosfataz
ASTM:	American Society for Testing and Materials
BMP	Kemik morfogenetik protein (Bone morphogenetic protein)
β-TCP:	Beta trikalsiyum fosfat
Ca:	Kalsiyum
FGF	Fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast growth factor)
IGF:	İnsülin benzeri büyüme faktörü (Insulin-like growth factor)
OPL-G:	Osteoprotegerin ligand
ODF:	Osteoklast farklılaşma faktörü
OSA:	Osteoaktif
P:	Fosfor
PDGF:	Platelet kökenli büyüme faktörü (Platelet derived growth factor)
PTH:	Paratiroid hormon
TGF-β	Dönüştürücü büyüme faktörü (Transforming growth factor- β)
TNF:	Tümör nekrozitan faktör
VEGF	Damar endoteli büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor)

ÖZET

Utku C. 2006 Deneyisel Kemik Defektlerinde Uygulanan Eriyebilen Greft Materyalinin Biyolojik Etkilerinin İncelenmesi (Rat Tibia ve Viseral Organlar) İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2006

Oral ve maksillofasiyal cerrahide, oluşmuş olan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu amacıyla günümüzde greft materyalleri sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan biride alloplastik bir greft materyali olan beta trikalsiyum fosfattır. Saf β -TCP otojen greft kullanımının çeşitli nedenlerle mümkün olmadığı durumlarda kliniklerde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle büyük kist kavitelerinin tedavisinde ve sinüs ogmentasyonlarında fazla miktarlarda kullanılabilir. Bizde çalışmamızda saf β -TCP'in ratların karaciğer ve böbreklerinde kalsiyum ve fosfor birikimine sebep olup olmadığını, plazmada kalsiyum fosfor ve alkalen fosfataz değerlerine etkilerini, idrarda da kalsiyum ve fosfor seviyeleri üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla 1.ay sonunda, 2.ay sonunda ve 3. ay sonunda sakrifiye edilmek üzere 10'ar adet Wistar-albino sıçandan oluşan ve tibialarına bilateral defekt açılıp 0.4 mg greft uygulanan 3 adet deney grubu, ve yine 1. ay sonunda, 2.ay sonunda ve 3. ay sonunda sakrifiye edilmek üzere tibialarına defekt açılan fakat greft uygulanmayan 7'şer adet Wistar-albino sıçandan oluşan 3 adet kontrol grubu ve hiç defekt açılmayan 10 adet farklı bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Defekt açılan grupların herbirinden operasyon öncesi ve sakrifikasyon zamanına kadar her 30 günde bir kan ve idrar numuneleri alınmıştır. Sakrifikasyon esnasındada sıçanların karaciğer ve böbrekleri kalsiyum ve fosfor birikimi açısından incelenmek üzere çıkartılmıştır. Operasyon uygulanmayan gruptan ise 3. ay sonuna kadar başta ve her 30 günde bir kan ve idrar numunesi alınmıştır. 3.ay sonunda da karaciğer ve böbrekleri incelenmek üzere sakrifiye edilmiştir. Yapılan değerlendirmede plazmada, idrarda karaciğer ve böbrek dokularında kalsiyum ve fosfor değerlerinde kontrol gruplarıyla deney grupları arasında, kontrol ve deney gruplarının kendi içlerindeki aylık peryotlarında ve kontrol ve deney gruplarıyla opere edilmeyen grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

Plazma ALP değerlerinde ise deney gruplarında bazı dönemlerde artış olduğu g r lm şt r. Sonuç olarak uygulanan yüksek miktarlardaki β -TCP'in vuc tta bir mineral birikimi yapmadığı, toksisiteye neden olmadığı ve kanın biyokimyasında anormal değerlere yol amadığı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Kemik grefti, Beta trikalsiyum fosfat, Mineral birikimi

ABSTRACT

Utku C. 2006 Evaluation of Biological Effects of Resorbable Bone Graft Material Applied in Experimental Bone Defects (Rat Tibia and Viseral Organs), University of Istanbul, Institute of Science of Health, Department of Oral Surgery, PhD Thesis

Biomaterials are used usually for the reconstruction of bone defects in maxillo-facial surgery. Beta tricalcium phosphate is one of the alloplastic biomaterials. Pure beta tricalcium phosphate is used usually in many cases when it's impossible to obtain autogen bone grafts. This material is sometimes used in large amounts for the rehabilitation of large cyst cavities and sinus augmentation. The aim of this study was to evaluate the effects of β -TCP in kidneys and liver; about calcium and phosphorus deposition, in plasma; calcium, inorganic phosphorus and alcalen phosphatase levels, and in urine; calcium and inorganic phosphorus levels.

We formed 3 experimental groups each containing 10 Wistar-albino rats, experimental bone defects were prepared bilaterally on tibias and filled with 0.4 mg β -TCP and rats sacrificed in the first group; at the end of one month, in the second group; at the end of 2 months and and in the third group at the end of 3 months. We formed 3 control groups each containing 7 Wistar-albino rats experimental bone defects were prepared bilaterally but not filled with any biomaterial and rats sacrificed in the first group; at the end of one month, in the second group; at the end of 2 months and and in the third group at the end of 3 months. And the last control group which was not operated during the study contained 10 rats. Blood and urine samples were collected from every operated groups preoperatively and in every 30 days until the sacrifice time. By the sacrifice livers and kidneys of rats were extracted for the evaluation of calcium and phosphorus deposition. We also collected blood and urine samples from the non-operated control group at the beginning and every 30 days during 3 months. At the end of 3 months this group is sacrificed to extract the livers and kidneys. Consequently there was no statistical difference between control groups, experimental groups, non-operated group and these groups own monthly periods in plasma, urine, kidney and liver tissues calcium and phosphorus levels.

There was statistical difference in ALP values in monthly periods of experimental groups. As a conclusion we suggest that even high amounts of β -TCP doesn't cause mineral deposition in the body, toxicity and abnormal biochemical values in the blood.

Key words: Bone graft, Beta Tricalcium phosphate, Mineral deposition

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik dokusunun patolojik ya da fizyolojik (atrofi, travma, sistemik hastalıklar) etkenler sonucu kaybedilmesiyle genel sağlık problemlerinin yanı sıra estetik ve fonksiyonel yetersizlikler meydana gelebilmektedir. Çene - yüz bölgesinde de tumoral oluşumlara bağlı olarak yapılan farklı boyutlardaki çene rezeksiyonları, gömük diş operasyonları, enfeksiyonlar, kist enükleasyonları, periodontal hastalıklar, travma ve sistemik hastalıklara bağlı olarak kemik kayıpları görülebilmektedir. Bu durumlar kaybedilen kemik dokusunun yeniden yapılandırılmasını gerektirmektedir (1, 2, 3, 4, 5). Oral ve maksillofasiyal cerrahide en zor işlemlerden biri de bu sebeplerden dolayı meydana gelmiş geniş kemik defektlerinin onarılmasıdır. Oluşmuş olan defektlerin rekonstrüksiyonu yapılmadığı takdirde, ileride yapılacak olası bir dental implant girişimi veya başka bir protetik işlem için uygun miktarda kemik bulunamayabilmektedir. Vücudun çeşitli nedenlerle kaybedilmiş dokularının yerine konmasında, travma sonucu meydana gelmiş zarar, kayıp ve kırıkların tedavisinde alloplastik maddelerin kullanımı Eski Mısır'da başlamıştır. Önceleri, kaybedilen dokuların tedavisinde kullanılan tüm materyaller alloplast olarak adlandırılırdı. Günümüzde ise genellikle rekonstrüktif amaçla biyolojik ortama yerleştirilen ve çevre dokularla uyum içinde olacak şekilde hazırlanan gelişmiş materyallere biyomateryal denmektedir. Biyomateryal denildiğinde çeşitli nedenlerle kaybedilmiş ya da deforme olmuş organ veya dokuların onarımında ve fonksiyonlarının yerine konmasında kullanılan doğal ve yapay tüm materyaller anlaşılır (6, 7, 8). Bu defektlerin rekonstrüksiyonu amacıyla, vaskülerize otojen greftler, non vaskülerize otojen greftler, allojenik greftler ve alloplastik materyaller kullanılabilmektedir (9). Geniş kemik defektlerinin tedavisi altın standart olarak tanımlanan, verici bölgeden alınıp defekt bölgesine yerleştirilen otojen greft materyalleri ile mümkün olmaktadır.

Verici bölgenin morbiditesi ve alınan materyalin sınırlı miktarda olması araştırmacıları bu tedavinin alternatifini bulmaya yönlendirmiştir. Allogreftler, immunolojik red, infeksiyöz hastalıkların transmisyonu ve erken rezorbsiyona uğramaları nedeni ile sınırlı olarak kullanılabilirler. Peptidlerle desteklenmiş greftler (bone morfojenik proteinler), demineralize kemik tozları ise miktar olarak çoğu zaman yeterli değildir. Biyokompatibilite kemik materyalleri ise infeksiyona yatkınlıkları ve osteoindüktif etkilerinin yetersizliği neticesinde tedavinin başarısını olumsuz etkileyebilmektedirler (10, 11). Biyomateryallerin sık ve yüksek miktarlarda kullanımı araştırmacıları bu maddelerin organizmadaki uzak organ ve dokularda kan komponentlerinde etkileri olabileceği düşüncesine yöneltmiştir. Biyomateryallerin biyoyumluluğu, sitotoksitesi, vücut ağırlığı, organ-vücut ağırlığı oranı ve böbrek, karaciğer gibi iç organların fonksiyonu üzerine olan etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. 1992'de Wu H. Ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ratların femurlarına uygulanan poröz trikalsiyum fosfatın biyoyumluluğunu araştırmışlardır. Sonuç olarak kullandıkları biyomateryalin böbrek, karaciğer gibi iç organların fonksiyonu üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını, vücut organ ağırlığı oranlarında değişiklik yapmadığını fakat plazmadaki inorganik fosfor seviyesinde artışa sebep olduğunu saptamışlardır (12). 1976'da Carvalho ve ark.'larının yaptığı bir başka çalışmada ise poröz kalsiyum aluminat seramiklerinin ratlara uygulandığında kalp böbrek tiroid gibi organlarda herhangi bir patolojik etkiye sebep olmadığı fakat belirli miktarın üstünde uygulandığında serum alkalin fosfataz değerlerinde artışa sebep oldukları görülmüştür (13). Beta trikalsiyum fosfat da oral ve maksillofasial cerrahide son yıllarda sıklıkla ve yüksek miktarlarda kullanılan alloplastik ve rezorbe olabilen bir greft materyalidir. Biz bu çalışmamızda ratlarda deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerine uygulanan beta trikalsiyum fosfatın rezorbsiyon sürecinde dolaşımdan zengin olan uzak organlarda (böbrek, karaciğer), kalsiyum ve fosfor deposizyonuna sebep olup olmadığını ve plazmada, idrarda kalsiyum fosfor ve alkalin fosfataz değerlerine olan etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

2.1.1 Kemik dokusunun görevleri ve genel özellikleri

Kemik dokusu yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökeldiği ve bu sayede sağlamlık esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış olan ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusu türüdür (14, 15). Başlıca işlevleri vücudun iskelet yapısını oluşturarak dokulara destek olmak, yüzeyine tutunan kaslarla birlikte vücudun hareketliliğini sağlamak, beyin omurilik ve iç organları korumak, vücuttaki başlıca kan yapıcı doku olan kemik iliğini barındırmak ve vücuttaki birçok süreç için gerekli olan kalsiyumu depolamaktır (16). Kemiğin mineral içeriği, başta kalsiyum olmak üzere, iyonlar için bir depo görevi görmektedir. Bunun yanında ekstraselüler sıvı kompozisyonuna, özellikle iyonize kalsiyum konsantrasyonuna etki eder. Kemiğin en önemli özelliklerinden biri de dıştan gelen mekanik uyarılar doğrultusunda hacmini şeklini ve içeriğini yönlendirebilen, yapısal olarak kendini yenileyebilen bir doku olmasıdır (17, 18).

2.1.2 Kemik dokusunun kimyasal yapısı

Kemiğin % 65'i minerallerden (inorganik matris), %35'i ise organik matris, hücreler ve sudan oluşmaktadır. İnorganik matris büyük oranda saf olmayan hidroksiapatitten oluşur. Karbonat, sitrat, magnezyum, florid ve stronsiyum iyonları ise bu yapının içinde kristaller halinde tutulur. Yaşlanma ile birlikte kalsiyum ve karbonat oranı artar, fosfat ve magnezyum oranı ise azalır (15, 19). Organik matris %90 oranında tip 1 kollajenden, %10 oranında proteinlerden oluşur (20, 21). Kollajen kemiğin lifli yapısını meydana getirir.

Kollajen yapıda olmayan osteokalsin, osteonektin, osteopontin, ve kemik sialoproteinlerinin minerilazyonda rol oynadıkları düşünülmektedir. Bu proteinlerin idrarda görülmesi kemik metabolizmasıyla ilgili sorunları gösterir (19, 20, 21).

2.1.3 Kemik dokusunun morfolojik özellikleri

Femur, tibia, humerus gibi uzun kemikler kemiğin makroskopik yapısının incelenmesi için klasik bir modeldirler. Tipik bir erişkin uzun kemiği, merkezi bir silindir olan diyafiz ile, uçlarda bulunan geniş yuvarlak kısımlar olan epifizden oluşur. Epifiz ile diyafizi birleştiren konik kısımlara ise metafiz denilmektedir. Çoğu kemiklerin uçları ortasından kalındır çünkü, uçları artiküler kartilajla çevrilidir ve aynı yükü taşımak için kemikten daha fazla kartilaj dokuya ihtiyaç duyulmaktadır. Artiküler kartilajı destekleyen epifizal ve diyafizal kemik yapıları bu nedenle daha kalındır (17, 22).

Kemiklerin dış yüzeyini örten dokuya periost adı verilir. Bu doku kortikal kemik ile onu çevreleyen yumuşak dokular ya da kaslar arasındaki bağlantıyı sağlar. Eklem yüzeylerinde tendon bağlantılarında ve sesamoid kemikte periost bulunmaz. Buna karşılık femur boynunda, distal radiusta ve vertebra gibi kırılma olasılığı yüksek bölgelerde mevcuttur (23, 24, 25). Periost iki katmandan oluşur. Fibröz olan dış kısım Sharpey liflerini içerir. Sharpey lifleri periostun iç kısmından ilerleyerek çevresel lamellerin içine ilerlerler. Periostun iç katmanı kambiyum ise kemik hücreleri ve onların prekürsörlerinden ve mikrovasküler yapıdan zengindir. Burada erişkin mezenkimal ön hücreleri, farklılaşmış osteojenik ön hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, kılcal damarlar ve sempatik sinirler bulunur. Sempatik sinirler endost tabakasına göre bu kısımda daha yoğundur. Ancak bu farklılığın sebebi henüz bilinmemektedir (20,26). Damarsal içerik bakımından zengin olan periost dokusunda çok miktarda endotelial perisit hücresi bulunur. Kılcal damarların endotel hücreleri ile doğrudan temas halinde olan perisitler osteoblastlara farklılaşabilirler. Bu hücreler osteoprogenitör hücre kaynağı olarak periostal kemik oluşumuna katkıda bulunurlar. Perisitlerin kültür ortamında mineralize olarak alkalen fosfataz, osteokalsin, osteopontin ve kemik sialoproteini sentezlerini gerçekleştirebildikleri bildirilmiştir (20, 23, 27).

2.1.4 Kemik Tipleri

Mikroskopik olarak yapılan incelemeler sonucu iki farklı tip kemik bulunduğu ortaya çıkmıştır: Primer, olgunlaşmamış ya da kaba lifli kemik ve sekonder, olgun ya da lameller kemik (16, 28, 29).

2.1.4.1

Primer Kemik Dokusu (Woven Kemik)

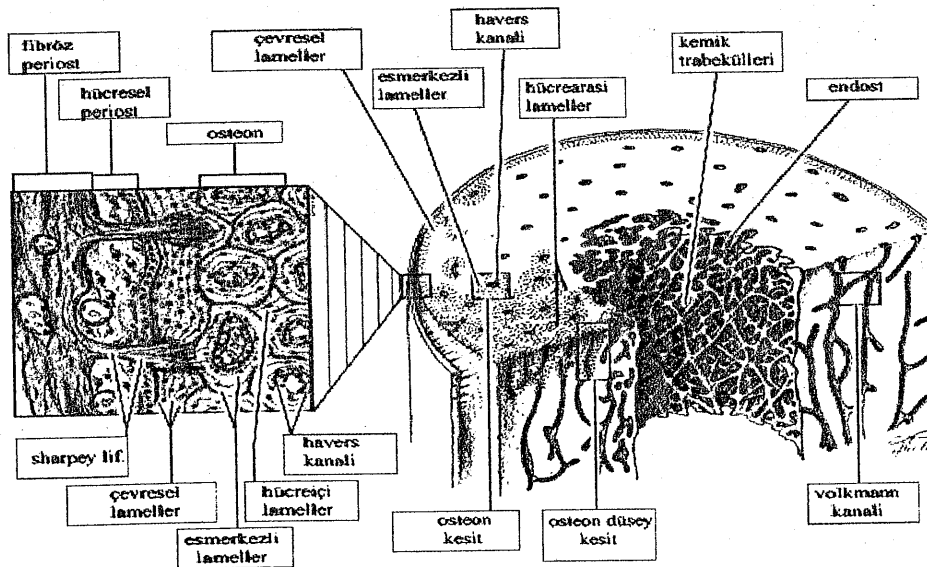
Primer kemik, kan damarlarının yakınındaki osteoprogenitör hücreler tarafından prenatal gelişme, büyüme ve kemik iyileşmesi sırasında üretilir (30). Embriyonik iskeleti oluşturur. Geçici bir kemik yapısı olup yetişkinlerde, kafadaki yassı kemik eklemleri, diş alveolleri ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini 3 yaşından sonra lameller kemiğe bırakır (16). Oldukça hızlı oluşur. Hücrece zengindir ve yeni şekillenmiş düzensiz kollajen fibriller içerir. Bu lifler çevre dokulardan kemiğe penetre olur. Woven kemik oldukça az mineral içerir ve mekanik direnci azdır. Lameller kemiğe oranla daha kısa ömürlüdür (31). Lamel içermez ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir. Olgunlaşmamış yapıdaki bu doku implant iyileşmesinin ilk safhasında oldukça önemlidir (16, 30, 31, 32).

2.1.4.2

Sekonder Kemik Dokusu

Sekonder kemik, genellikle yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. Kortikal ve kansellöz olmak üzere iki farklı yapıdadır. Kortikal kemik, uzun kemiklerin diyafizini ve metafizlerinin dış tabakasını kaplayan, solid, kompakt bir dokudur. Erişkin insan iskeletinin yaklaşık %80'i kortikal kemikten oluşur. Lamel adı verilen ve ancak mikroskopik olarak görülebilen matriks tabakaları içerir. İç içe geçmiş halkalar biçiminde konumlanan bu lameller, kemiğin uzun eksenini boyunca paralel olarak dizilen yaklaşık 50 µm çapındaki kanallar olan Havers kanalları'nın etrafında bulunurlar.

Belirli bir bölgedeki kanallar ile onu çevreleyen lamellere Havers Sistemi yada osteon adı verilir. Bu kanalların içinde damarlar ve sinir iplikleri vardır. Kemik yüzeyine dik olarak konumlanan diğer kanal sistemi ise Volkmann kanalları adını alır (Şekil 1). Bu kanallar kemiğin iç ve dış yüzlerinin birbirleriyle iletişimini sağlarlar. Volkmann kanalları içindeki damarlar Havers kanallarının içindekilerle bağlantılıdır (15, 19, 24). Kansellöz kemik ise yassı kemiklerin kortikal tabakaları arasında ve uzun kemiklerin metafizinde bulunur. Kansellöz kemiğe spongioz yada süngersi kemik de denmektedir. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20' sini teşkil eder. Spongioz kemik, kompakt kemikten mikroskopik açıdan farklılıklar gösterir. Spongioz kemikte osteon bulunmaz. Makroskopik olarak gözlenebilen trabekül adı verilen plaklar ve gözeneklerden oluşur. Bunların içinde kan damarları ve kemik iliği bulunur ve kemik iliğinde bol olarak bulunan kan damarlarından, sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin maddelerini alırlar. Trabeküllerin dizilimi rastgele ve anorganize değildir. Kemik trabekülleri gelen stresslere, uygulanan yüklere ve kemiğin yapısına göre adaptasyon gösterirler. Bu özellik kemiğin dayanıklılığını açıklayan ve fonksiyon-yapı ilişkisini kanıtlayan bir örnektir. (15, 19, 20, 21, 34)



Şekil 1 : Kemiğin ve periostun yapısı

2.1.5 Kemik Hücreleri

Kemiğin temel hücresel elemanları osteoklastlar, osteoblastlar, osteositler; kemik yüzeyini döşeyen hücreler ile kemik büyüme ve tamirini düzenleyen bağışıklık sistemine ait hücrelerden oluşur(35, 36, 37, 38) (Şekil 2)

2.1.5.1 Osteoklastlar

Kemik rezorbsiyonundan sorumlu çok çekirdekli hücrelerdir. Osteoklast oluşumunun farklı aşamalarında pek çok ajan rol oynar ancak son aşamada etkin olan 2 faktör osteoprotegerin ligand (OPL-G) / osteoklast farklılaşma faktörü (ODF) ve osteoprotegerin (OPG) / osteoklastogenesis engelleyici faktördür (OCIF). Her iki yapı, tümör nekroz faktör (TNF) reseptör üst ailesine aittir ve osteoblast karakterinde hücrelerden salgılanır (39). Çapları 20- 100 µm arasındadır. Aktif osteoklastlar çoğunlukla kemik yüzeyindeki kavitelere bulunmaktadır (Howship kovukları) Osteoklastların kaç çekirdekli olduğu ya da genişliğinin ne kadar olduğu rezorbe edilen kemik matriksinin daha önceden ne kadar iyi mineralize olduğuna bağlıdır. Yani olgunlaşmış lameller kemiğin rezorbsiyonunda, olgunlaşmamış örgü kemiğe göre osteoklastlar daha büyük boyutlardadırlar (16). Sitoplazmaları süngersi bir görünümündedir. Kemiğe komşu yüzeylerinde düzensiz bir sınırları bulunmaktadır. Bu sınırın etrafında organelsiz fakat filamentten zengin bir ektoplazmik alan vardır, bu alana filamentöz alan denir. Osteoklastlar kemik yüzeyine bu filamentöz alandan yapışırlar. Bu alan rezorbsiyon için gerekli mikro ortamı sağlamaktadır. Bu bölgeden, kemik yıkımını başlatacak ürünler salgılanır (17). Osteoklastlar aktif ya da pasif durumda bulunabilirler. Aktif dönemlerde kutuplu bir yapı alırlar ve dalgalı membran sınırları gözlenir (35,40).

Rezorbsiyon yapılacak bölgenin ne tür bir mekanizma ile seçildiği henüz kesinlik kazanmamıştır. Yüzeyi döşeyen hücrelerin büzülmesi ve koruyucu osteoid tabakayı çözmesi ile mineral yüzeyin açığa çıktığı öne sürülmüştür. İntegrin adı verilen hücre zarına ait reseptörlerin hücre dışı matriks proteinleri ile etkileşerek işlev gördüğü düşünülmektedir. Ancak yüzeyi döşeyen hücrelerin neden yalnızca bazı bölgelere giriş izni verdiği ve osteoklastların etkinlik mekanizmaları tam olarak açıklık kazanmamıştır (41). Osteoklastlar osteoblastlarla beraber kemiğin mekanik etkenlere bağlı olarak şekillenmesinde rol oynarlar. Osteoklastlar kemikte bulunan kalsiyumun açığa çıkmasını sağlarlar. Osteoklastların etkileri bifosfonatların, kalsitonin ve östrojen hormonlarının etkileriyle azalır; paratiroid, tiroksin hormonları ve D vitamini ile artar (15, 19, 20, 26).

2.1.5.2 Osteoblastlar

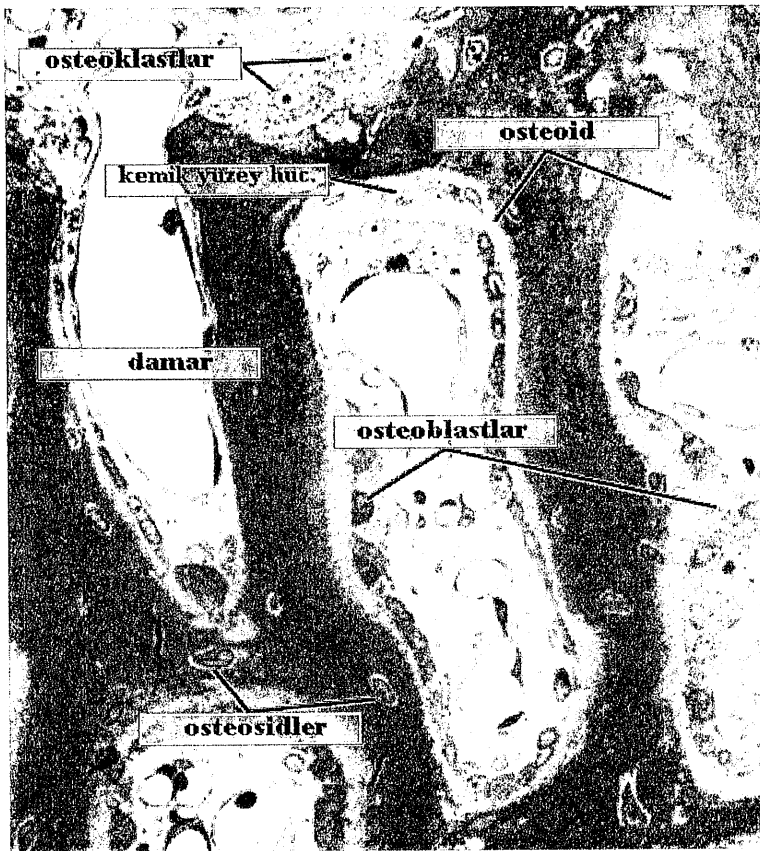
Osteoblastlar mineralize olmamış kemik matrisi (osteoid) sentezleyen ve salgılayan kemik yapıcı hücrelerdir. Osteoblastlar nadiren mitoz bölünme gösteren küp şeklinde hücrelerdir. Kemiğin kalsifikasyon ve rezorbsiyonunda da görev yaparlar, kemiğe kalsiyum ve fosfat giriş çıkışını düzenlerler. Buna ek olarak, kemik oluşumunda ve hücreler arası iletişimde görev alan, kendilerinin ve diğer kemik iliği hücrelerinin salgıladıkları sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonların işlev görmesinden sorumludur. Osteoblastlar büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, sık endoplazmik retikulum, gelişmiş golgi apareyi ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri içerirler. Mezenkim dokusundan gelişirler. Kemik matriksinin depolandığı, büyüyen kemiğin sınırlarında bulunurlar. Kemiğe özel proteinler olan osteokalsin ve kemik sialoproteinlerinin salgılanmasının yanı sıra, yüksek alkalin fosfataz aktivitesi, kollajen salgılanması ve kollajen yapıda olmayan proteinlerin sentezlenmesi, mekanik ve kimyasal uyarılara karşı yanıt geliştirilmesi osteoblastların tipik özellikleridir. Osteoklastlarla beraber kemik rezorbsiyonunun düzenlenmesinde de rol alırlar. Osteoblastlar salgıladıkları osteoid içinde gömülü olarak kalırlar bu doku kalsifiye olunca aktiviteleri azalır şekil olarak basıklaşır ve osteositlere dönüşürler. Bir kısmı ise periostta ve endostta varlıklarını sürdürürler. (15, 17, 19, 20, 26)

2.1.5.3 Kemik Yüzeyini Döşeyen Hücreler

İşlevsel olmayan osteoblastlardan ve farklılaşmış ya da aktif olmayan osteoblast ön hücrelerinden oluşan, kemik yüzeylerini kaplayan uzun ve düz görünümlü hücrelerdir. Kemik yüzeyine tutunan bu hücreler ince ve düz sitoplazmaya sahiptirler. Yeni kemik oluşturabilme yetenekleri vardır. Hem osteosit hücreleriyle hemde kendi aralarında sıkı bağlantılar kurarlar. Bu bağlantılar sayesinde dışarıdan gelen basınçları algılayarak bu etkileri sinyaller yoluyla kemik yüzeyine iletirler. Bu yolla kemik oluşumunun yada rezorbsiyonunun hangi bölgelerde olacağını belirlediği düşünülmektedir. Ayrıca kalsiyum ve fosfat giriş çıkışlarının kontrol edilmesinde rol oynarlar. (19, 20, 26, 43)

2.1.5.4 Osteositler

Osteositler olgun kemikte en bol bulunan hücre tipidirler. Normal insan kemiğinde osteosit sayısı osteoblast sayısının on katı kadardır. Kemik oluşumu esnasında, osteoblastlar yeni oluşmuş kemiğin içinde kalarak osteositleri oluştururlarken, kemik oluşumu devam eder. Lakünlerde gömülü kalan osteoblastlar organellerinin çoğunu kaybederek osteositlere farklılaşırlar. Bu sırada uzun ince uzantılar edinirler. Yeni oluşan osteositlerin bu uzantıları, lakünlü ve kanalcıklı kemik yapısı içinde bulunan önceden oluşmuş osteositlerle, osteoblastlarla, kemik döşeme hücreleriyle, periostal hücrelerle ve damar yapıları ile teması sağlarlar. Osteositler, gerilimlerin yayılım ve büyüklüğünü en iyi şekilde hissedecek şekilde dağılmışlardır. Dağılımları mekanik gerilimdeki değişimlere yanıt verecek ve sıvı akışını yayarak bunu osteoblastik yüzey hücrelerine kanalcıklar ve gap junction yapıları yoluyla iletirler. Gap junction yapıları iki komşu hücrenin sitoplazmalarının temas ederek içinden küçük intraselüller sinyal moleküllerinin geçtiği oluşumlardır ve iyonlar, hormonlar ve mekanik yüklenme ile şekillenirler (17).



Resim 1: Kemik hücreleri

2.1.6 Kemik Oluşumu

Kemik oluşumu 2 farklı şekilde gerçekleşir.

1-Intramembranöz kemik oluşumu (doğrudan kemikleşme)

2-Endokondral kemik oluşumu (dolaylı kemikleşme)

2.1.6.1 İntramembranöz kemik oluşumu:

İntramembranöz kemik oluşumunda bağ dokusu bir kalıp oluşturarak yeni kemik birikimine yardımcı olmaktadır. Mezenkim hücreleri çevrelerindeki membranda damarlanmanın artmasıyla osteoid madde sentezini gerçekleştiren osteoblastlara farklılaşırlar. Bunu osteoid maddenin kalsifikasyonu izler. Osteoid madde mineralize oldukça lakunalar içinde hapis kalan osteoblastlar osteositlere dönüşürler ve sitoplazmik uzantılarıyla birbirleriyle bağlantı kurarlar. Kemikleşme merkezlerinin yüzeyindeki hücreler mitoz bölünmeyle daha fazla osteoblast oluşturular. Yeni oluşan osteoblastlar sayesinde kemik yapımı artar. Sürekli artan kemik birikimi birbirleriyle komşu olan kemikleşme merkezlerini birleştirir. Kollajen liflerin düzensiz dağılım gösterdiği bu kemik yapı osteoklastların yıkımıyla ve osteoblastların yeni kemik oluşturmasıyla yeniden şekillenerek lamelli yapıdaki olgun kortikal ya da kansellöz kemiğe dönüşür. Bu sırada gelişmekte olan kemik dokusunun içinde kalan ilkel mezenkim dokuda kemik iliğini oluşturur. İskelet sistemindeki kafa kemiklerinin kalvaryumu yapan kısımları ve yüz kemiklerinin bir kısmı bu şekilde kemikleşir.(19, 20, 23, 44)

2.1.6.2 Endokondral kemik oluşumu:

Köprücük kemiği dışında kalan uzun kemiklerin, leğen kemiklerinin, omurganın ve kafa tabanının kemikleşmesi bu yolla gerçekleşir. Uzun kemiklerin gelişiminde önce bu kemiğin mezenkim dokudan hyalin kıkırdak yapıda küçük bir taslağı oluşur. Daha sonra bu kıkırdak taslak apozisyonel büyüme yoluyla daha uzun bir şekil alır. Perikondriumla sarılı olan diafiz ve epifizler oluşur. Kıkırdak modelin ortasında yer alan kondrositler büyüyerek onları çevreleyen kıkırdağı rezorbe ederler ve geride trabeküllü bir kıkırdak matriks kalır. Daha sonra bu kıkırdak matriks kalsifiye olur. Kondrosit hücreleri dejenere olduktan sonra geniş boşluklar meydana gelir. Periost kıkırdak taslağın üzerinde ince bir yeni tabaka kemik dokusu oluşturur. Aynı anda ilkel mezenkim dokusu ve kan damarları kıkırdak taslağın içindeki boşlukları istila ederler. Bu mezenkim dokusu daha sonra osteoblastlara ve kemik iliği hücrelerine farklılaşır. Osteoblastlar kıkırdak matriksin kalıntılarının yüzeyinde bir hücre tabakası meydana getirerek ağısı kemiği oluşturmaya başlar.(14, 23, 26)

Bu olaylar sonucunda ilk kıkırdak taslağın uç kısımları orta kısımdan primer kemikleşme merkezi adı verilen geniş bir alanla ayrılır. Buna karşılık kıkırdağın her iki ucunun çapı büyümeye devam eder. Bu sırada orta kısmın uç bölümlerindeki kıkırdak değişime uğramaya ve kemikleşmeye başlar. Bu aşamada gelişmekte olan kemik uzun bir diafiz ve bunun her iki ucunda yarım ay biçiminde halen kıkırdak dokudan meydana gelen epifizlerden oluşur. Diafiz ile her iki epifiz arasında yer alan bölgelere büyüme plağı ya da epifiz plağı adı verilir. Bunların içinde kıkırdak doku çoğalmaya devam ederek kemiğin boyunun uzamasını sağlar. Benzer şekilde, plakların diafiz tarafında kondrositler olgunlaşır ve kaybolur, dejenere olan kısımlara ise yeni kemik dokusu yerleşir. Bu sayede diafiz kısmı da uzar ve büyüme plakları daha uzağa itilir. Genel iskelet sisteminin olgunlaşmasıyla beraber hormonal etkenler daha fazla kıkırdak oluşumunu engelleyerek büyüme plaklarının kemikleşmesini ve diafiz ile epifizlerin birleşmesini sağlar.(19, 23, 25)Bu sırada gelişmekte olan epifizlerin içindeki kıkırdak dokusunun merkezinde diafize benzer şekilde yeni kemik oluşumu meydana gelir. Bunun gerçekleştiği bölgeye sekonder kemikleşme merkezi adı verilir.

Sonradan eklem kıkırdığına dönüşecek olan ince bir hyalin kıkırdak doku epifizlerin yüzeyini örtmeye devam eder.(19, 23, 25) Fonksiyonel streslerin etkisiyle, kalsifiye kıkırdak dokusu ve bunu çevreleyen düzensiz ağsı kemik yeniden şekillenerek kemiğin kompakt yapıda bir dış tabaka ve ortasında boşluk bulunan kansellöz yapıda bir iç tabakadan oluşmasını sağlarlar. Yaşlanma ile birlikte orta kısım rezorbe olarak kemik iliği ile dolu geniş bir boşluk haline gelir. (19, 23, 25, 44)

2.1.6.3 Kemik Büyümesi ve Gelişiminin Evreleri

Kemiklerin büyümesi genetik özelliklere bağlı olduğu kadar fiziksel etkenlerle de yakından ilgilidir. Kemiğin enine büyümesi yada genişlemesi yüzeyindeki periost tabakasından oluşan osteoblastlar sayesinde gerçekleşir. Kemiklerin boylarının uzaması ise kıkırdak taslağın yeni kemik dokusuyla düzenli olarak yer değiştirdiği endokondral kemikleşme sayesinde olur (20, 23, 44).

2-1-6-4 Şekillenme (Modelling)

Kemiğin büyümesi ve şekillenmesi birbirine eşlik eden olgulardır. Büyümeyi etkileyen yerel etmenler kemik şekillenmesinde de yönlendirici rol oynarlar. Şekillenme kemik yüzeylerinde rezorbsiyon ve kemik yapımı olaylarını içine alır. Büyüme sırasında yeni kemik oluşumu kemik yıkımından daha fazladır. Şekillenme olayı kemiklerin büyümesini şeklini direncini ve anatomik özelliklerini belirler. Bununla beraber şekillenme kortikal tabakanın kalınlığını artırarak ve kemik iliğinin bulunduğu boşluğun çapını genişleterek uzun kemiklerin uç kısımlarını şekillendirir. Ayrıca kafatası konturlarının değişmesinde de sorumludur. Erişkinlik dönemi ile beraber etkinliğini yitirir (20, 21, 26).

2-1-6-5 Yeniden Şekillenme (Remodelling)

Kemiğin metabolik ve biyomekanik olarak çevre şartlarında varlığını sürdürebilecek yapıda olabilmesi kemiğin yeniden şekillenmesi sayesinde olur. Metafizde oluşan olgunlaşmamış kemik yapısal olarak olgun kemikten daha kalitesizdir. Ayrıca ilerleyen yaşla beraber olgun kemiğin kalitesinde düşme görülür. Bu nedenlerden dolayı kalitesi düşen kemiğin yerine yeniden şekillenmeyle yeni lameller kemik yapımı gerçekleşir. İnsanlarda zamanla primer kemik dokusu rezorbe olarak yerini sekonder kemiğe bırakır. Primer kansellöz yapıdan sekonder kansellöz yapıya geçişte yeniden şekillenmeye bağlı olarak aşırı miktarda kemik kaybı görülür. Bu sekonder kemik sürekli olarak yok edilir ve yeni kuşak kemikle yer değiştirir. Bu süreç insan hayatı boyunca devam eder. Erişkin bir bireye ait kortikal kemiğin turnover (kendini yenileme) hızı 20 yıl iken, kansellöz kemiğin 1-4 yıldır. Kemiğin bu şekilde sürekli yenilenmesi iskelet yapının dayanıklılığını, kemik dokudaki hasarların onarımını, kan hücrelerinin üretilmesindeki devamlılığı ve kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesini sağlamaktadır (20, 44, 45).

2-1-7 Kemik metabolizmasını etkileyen faktörler

Kemik metabolizması ve hücre işlevlerinin düzenlenmesinde sistemik hormonlardan lokal faktörlere kadar birçok etken rol oynar. Bu işlevlerin düzenlenmesinde paratiroid hormon, D vitamini ve kalsitoninin önemli etkileri vardır. PTH, kemik ve böbrekler üzerinde etkili olarak plazma kalsiyum seviyesini düzenler. Osteoblastları etkilediği gibi potansiyel bir osteoklast etkili kemik yıkım uyararı olarak ta etki gösterir (46). Hücresele düzeyde PTH ilik kültürlerinde osteoklast oluşumunu artırmakta, metalloproteinaz oluşumunu uyarmakta, osteoblastik hücrelerde tip 1 kollajen açığa çıkmasını engellemektedir. (47). PTH'nın osteoblastlar üzerine etkisi, osteoblast hücresinin farklılaşmanın hangi evresinde olduğu ile doğrudan ilgilidir (48).

Kalsitonin, fizyolojik olarak etkisini göstererek kemik emilimini geçici olarak baskılar. Olgunlaşmamış osteoklastlar üzerinde, osteoklastik aktivitelerini engelleyici bir etkisi vardır.

Glukokortikoidler in vivo çalışmalarda kemik erimesini baskılamış, kemik oluşum ve yeniden şekillenme bölgelerinde işlevleri hızlandırmışlardır (49). Osteoblast ve mezenkimal hücreler üzerinde osteoblast öncül hücre farklılaşmasını sağlayıcı etki gösterirler (50). Glukokortikoidlerin, anabolik ve katabolik etkisi olan PTH ve IGF-1 gibi hormonların etkinliğini artırdığı da bilinmektedir (51,52). Östrojenler kemik yoğunluğunun korunmasında rol almaktadırlar (39,53). Androjenlerin de gelişim sırasında kemik büyümesi üzerine etkili olduğu açıklanmıştır (39,54). Östrojenlerin TGF- β üretimini uyarak osteoklast ölümünde artışa yol açtığı düşünülmektedir (39,55). Prostoglandinlerin işlevleri PTH işlevlerine benzer özellikler taşımaktadır. İn vitro çalışmalarda kemik emilimi ve osteoklast aktivitesinde artış yönünde uyaran olarak etki göstermişlerdir.

Büyüme hormonu vücutta büyüme yeteneğine sahip tüm dokuların büyümesini sağlar. Hücrelerde mitoz bölünmeyi uyarak hücre sayısının artmasına yol açar ve kemik büyüme hücreleri ile öncül kas hücreleri gibi özgün hücrelerin farklılaşmasını sağlar (56). Büyüme hormonunun en belirgin etkisi iskelet sistemi üzerinde gözlenir. Büyüme hormonu, kemik büyümesini sağlayan hücrelerde kondrosit ve osteojenik hücrelerce protein depolarının artırılmasını, kondrojenik ve osteojenik hücrelerde çoğalma hızının uyarılmasını ve kondrositlerin osteojen hücrelere dönüşümünü sağlamaktadırlar. Büyüme hormonu vücutta salgılandığı zaman karaciğerde somatomedinler diye bilinen ve kemik büyümesinin bütün evrelerinde hızlandırıcı bir etkiye sahip olan çeşitli protein yapılar oluşturmalarını sağlar (56).

BMP'ler geniş bir büyüme faktörü ailesi olan ve kültür ortamında fibroblastları dönüştürme yeteneklerinden dolayı Transforming Growth Factor- β (dönüştürücü büyüme faktörü) olarak adlandırılan gruba ait üyelerdir (57, 58, 59, 60) BMP'ler büyüme faktörleri arasında sayılan özgül yapılardır. Bağ doku hücrelerinin çoğalmasını uyaran bir mitojen olmasının yanında bütün büyüme faktörleri arasında bağ dokusu hücrelerini öncü kemik hücrelerine dönüştürme yeteneğine sahip tek morfojendir. TGF- β , IGF, FGF, PDGF ve VEGF gibi diğer büyüme faktörleri, hücre çoğalmasının uyarılması yeteneğine sahiptirler.

BMP'ler vücut sıvılarında çözünebilen bir moleküldür. Cerrahi işlem sırasında ortamda çözünmeden kalabilmeleri için uygun bir taşıyıcı aracılığı ile uygulanmaları

gerekir. Büyüme hormonu vücutta salgılandığı zaman karaciğerde somatomedinler diye bilinen ve kemik büyümesinin bütün evrelerinde hızlandırıcı bir etkiye sahip olan çeşitli protein yapılar oluşturmalarını sağlar (56).

2-1-8 Kemik dokudaki yara iyileşmesi

Kemik dokudaki iyileşme yaralanmayı takip eden bir dizi karmaşık fizyolojik süreci içerir. İçinde bir çok özelleşmiş hücre tipinin rol oynadığı bu iyileşme sürecinde yumuşan doku iyileşmesinden farklı olarak skar dokusu oluşmaz. İyileşme evreleri kesin sınırlarla birbirinden ayrılamaz ve her evre kendisinden bir önceki ya da sonraki evre içerisinde gerçekleşir. (61, 62)

Kemik dokudaki yaralanmalar genel olarak 2 şekilde iyileşir. Primer iyileşmede kırık parçalar birbirlerine temas ederler. Bu iyileşmeye doğrudan kemik iyileşmesi veya intramembranöz kemikleşme de denebilir. Bu tip kırık iyileşmesinde kırık bölgesinde herhangi bir dış kallus yapısı oluşmaz ve eksiklik intramembranöz kemikler dolar. Primer kırık iyileşmesinde kırık parçaların korteksleri boyunca gözlenen osteona ait bir tamir gerçekleşir. Bu tür iyileşme kırık bölgesinde kesin hareketsizlik gerektirdiğinden daha nadir rastlanan bir iyileşme modelidir. Klinik uygulamalarda kırık bölgesinin kompresyon tabakaları, miniplaklar, vb. Çeşitli mekanizmalarla tespitinin sağlandığı durumlarda primer kemik iyileşmesi gerçekleşir (20, 61, 62).

Dolaylı kemik oluşumu veya sekonder iyileşme olarak belirtilen endokondral kemikleşmede ise kalsifiye olarak yerini kemik dokuya bırakan bir kırıkta doku oluşumu söz konusudur.

Sekonder kırık iyileşmesi fazlarını klasik olarak kabul edilen şekilde sıralayacak olursak (63):

- İnflamasyon fazı
- Granülasyon dokusu fazı
- Kallus fazı
- Remodelasyon fazı

2.1.8.1 İnflamasyon

İnflamasyon sahası kırıktan sonra birkaç saat içinde başlar ve gelişen yumuşak kallusla yer değiştirene kadar bir kaç gün devam eder. Yumuşak dokulara esaslı hasarla birlikte periost yırtılması, kortikal kemik yer değiştirmesi ve ayrılması, kırık sahasındaki haversian kanallarındaki damarlarda kesilme ve ilik içeriğinin kırık boşluğuna akması görülür. Taşan kan, sellüler debris ve doku fragmanları kırık sahasını bir hematoma içine sarar. Oluşan hematoma, çevre yumuşak doku sahalarıyla sınırlanmış hipoksik asidik bir oluşumdur. Trombositler hızla, kan sızan hasarlı damarları tıkar ve hematoma içinde nekrotik pıhtı oluşturmak üzere fibrin depo edilir (39, 64).

Pıhtı, önce akut inflamasyon hücreleri ile, bir kaç gün içinde de kronik enfeksiyon hücreleri ve makrofajlar ile dolar. Toplanan mezenkimal hücreleri pıhtıyı organize ettikten hemen sonra, içe doğru büyüyen kapillerler ile birlikte pıhtı 3 ya da 4 gün içinde reperatif fibrovasküler granülasyon dokusu ile yer değiştirir.

Kırık sahasındaki kemiğin devaskularize uçları nekrotiktir ve osteositik aralık, hücreler otolize uğradıkça boşalmaya başlar. Bunu nekrotik kemiğin osteoklastik rezorpsiyonu takip eder (65, 66).

2.1.8.2 Granülasyon Dokusu Fazı

Granülasyon fazı iyileşme sürecinde önemli bir yer tutar. İlk adım hematomun organizasyonudur. Lokal uyaranlara cevap veren öncü hücrelerin farklılaşmaya başlaması, oluşmuş olan hemotomu organize etmeye başlar. Uyarılan prekürsör hücreler yeni damar oluşumu, fibroblast, intersellüler materyaller, destek hücreleri ve diğer hücrelere farklılaşırlar (67). Kırık iyileşmesini başlatan ve sonrasında kontrol eden lokal ve sistemik mediatörler osteoblastların, kondroblastların, kondroklastların nerede yapılacağını, miktarını, zamanını, aktivitelerini ne kadar sürdüreceklerini ve bunun için gerekli olan enerji kaynağını belirlerler.

Prekürsör hücrelerin organizasyonu ve ayrımlaşmasıyla oluşan yumuşak granülasyon dokusu kırık bölgesinde bir miktar stabilite temin eder. Bu devrede kırık bölgesi pH'sı asittir (68, 69, 70, 67). Tamir sürecinde rol oynayan hücrelerin mezenkimal orjinli olduğu bilinmektedir. Bunlar kollajen, kıkırdak ve kemik dokusunu yaparlar (56, 68, 71, 72, 73, 74).

Kırığın ikinci gününden itibaren kallusu oluşturacak hücre proliferasyonu periostun kırık hattına yakın derin tabakasında başlar. Ayrımlaşarak çoğalan osteoprogenitör hücreler periostla kemik arasında birikerek periostu kemikten bir miktar ayırırlar (56, 68).

Osteogenik hücrelerin çoğalma sürecine paralel olarak kapiller tomurcuklanma başlar. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periostal damarlar, kapiller tomurcuklanmasına yardımcı olur (56, 68, 70, 69). Fakat kapiller gelişimi osteojenik hücre gelişimi kadar hızlı olmadığından beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın derin seviyedeki hücreler osteoblastlara dönüşür (68). Kemiğe yakın olmayan granülasyon dokusu kuşağının üzerinde yerleşen hücreler dolaşım yönünden fakirdirler. Bu bölgedeki kapiller gelişim hızı hücre çoğalmasına uyum gösteremediğinden hücreler kondrositlere farklılaşır. Kuşağın dış yüzeyinde kıkırdak dokusu meydana gelir (56, 68).

Kırık bölgesinde osteoblastların bulunduğu yerde osteoid doku oluşur. Osteoblastların tüm yüzeyinde prokollajen ve organik matriksin amorf maddesi salgılanıp "kalsifikasyon frontu" denilen yerde toplanır (33, 68, 71, 75).

Proteoglikanlar, polipeptidler ve lipidler de amorf madde de özel moleküller halinde yerleşir. Organik matriks mineralizasyonuna uygun olacak şekilde özel yapılanma gösterir (33, 68, 75).

Osteoprogenitör hücreler ve fibrin matriksten kaynaklanan kıkırdak dokusu hücreleri prekondroblast, kondroblast, kondrosit ve hipertrofiye kondrosit evreleriyle çoğalıp olgunlaşır (56, 71). Kondrositler kollagen II ve proteoglikanların hakim olduğu kıkırdak matriksi yaparlar. Böylece osteoblast ve kondrositler tarafından yapılan osteoid doku ve kıkırdak matriks bir sonraki faza mineralizasyon için hazırlanır.

2.1.8.3 Kallus Fazı

Granülasyon dokusu ve kallus fazı tamir fazını oluşturmaktadır. Kallus fazındaki ana olay osteoid doku ve kırıldak matriksin mineralizasyonudur (68, 67, 71).

Osteoid doku mineralizasyonu osteoblastlar tarafından başlatılıp devam ettirilir. Hücresel düzeyde osteoblast ve kondrositlerden kaynaklanan matriks vezikülleri ile başlayıp devam eder (33, 67, 68, 71, 75, 76,). Matriks vezikülleri, lipid, yoğunlaşmış kalsiyum fosfat, alkali fosfataz, alkali adenozintrifosfat ve profosfataz enzimleri içerir (33, 67, 68, 71, 75, 76).

Olgunlaşmış matriks vezikülleri organik matrikse taşınarak parçalanır. Profosfataz enzimi kalsifikasyonu inhibe eden profosfatları parçalayarak mineralizasyon için uygun ortamı hazırlar (33, 77). Alkali fosfataz, fosfat esterlerinden fosfat iyonunu serbesleştirerek kalsiyumun lokal çökmesini sağlar (33, 77). Olgunlaşan matriks veziküllerinin taşıyıcı kalsiyum fosfat amorf fazda organik matrikste depolanmaya başlar (71).

Kalsifiye doku içinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşerek dağınık trabeküler kemik ağını yaparlar. Osteoblastlarla başlayıp devam eden kırık iyileşmesi intramembranöz kemik iyileşmesi şeklindedir (67, 68, 71, 75).

Kırıldak dokuda alkalın fosfataz salgılanarak kırıldak matriks kalsifiye olmaya başlar (67, 68, 71, 75). Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiklerinden ölmeye başlarlar ve bulundukları yerlerde lakünalar meydana gelir. Kondroklastik faaliyetle rezorbsiyon artar ve lakünalar genişler. Bu süreç devam ederken laküner boşluklara kapiller damarlar ve osteojenik hücreler invaze olmaya başlar. Kalsifikasyon olmadan vaskülarizasyon ilerleyemez (68, 71, 75). Kırıldak doku kalsifiye olmadan kapiller damarlar bu dokuya yönelmeye başlamışlardır. Laküna içine invaze olan osteojenik ve kan kaynaklı hücrelerden mikro çevre koşullarının değişimine bağlı olarak (özellikle parsiyel O₂ konsantrasyonu artışı) osteoblastlar belirir.

Rezorbe olan kalsifiye kırıkta matriks yerinde osteoblastlar tarafından osteoid doku ve fetal yeni kemik yapımı sürecine bağı olarak kırıkta doku ile kemik dokusu yer değıştirir (67, 68, 71, 75). Yaralanmadan sonra kallüs oluşması mineralizasyonu 4-16 hafta arasında zaman gerektirir (67).

2.1.8.4 Remodeling

Sert kallusun boşluk üzerinde köprü oluşturmastından sonra, kallus hacmi artmaya başlar. Kallus hacmi redüksiyonu doğruluğına ve immobilizasyon derecesine bağıdır. Fragmanlar arasındaki boşluk ve hız ne kadar fazla ise kallus o kadar geniş olur ve yeniden yapılanma süreci uzar. Bu süreç tamamlandıktan ve kallus büyümesi yavaşladıktan sonra kallusun olgunlaşması ve remodelingi başlar. Olgunlaşmamış osteoid parçaları mineralize olur, yüzey apozisyonu ile trabeküller kalınlaşır, orjinal kemik ve kallus arasındaki interdigitasyon kemiğinin, kemik uçları ve açık alanları üzerindeki Volkman ve Haversian kanalları içine doğru büyüyerek artar. Kırıkta nodülleri olgunlaşır, matriks kalsifiye olur ve kalan kırıkta endokondral ossifikasyonu gerçekleşir (78, 79, 80).

Kırık sahasında, nekrotik kemiğın rezorbsiyonu tamamlanınca, tamir dokusu dilleri açık haversian kanalları ve kansellöz kemiğın ilik boşlukları içine girer. Kalan nekrotik kemik rezorbe edilir ve yeni canlı olgunlaşan kemik ile yer değıştirir. Fragmanların uçları bu olgunlaşan kallus ile kaynaşır (78, 79).

Dokudaki devamlılık olgun kallus tarafından yeniden oluşturuldukça ve fiziksel kuvvetler ossifiye kallus köprüsünden iletildikçe, kallus stres çizgileri boyunca remodele olmaya başlar. Kallusun periferi daha çok kuvvet alır ve çabucak bir kortikal kemiğe dönüşür. Kallus trabeküllerinde yeniden dizilme ve rezopsiyon ortaya çıkar. Kallustaki mezenkimal proliferasyonlar sarı ya da kırmızı ilikle yer değıştirir. Kallusu çevreleyen periost şimdi daha incedir ve osteoblastların aktif proliferasyonu durmuştur. Zaman geçtikçe strese maruz kalan alanlar kortikal kemiğe olgunlaşırken, kallusun strese maruz kalmayan alanları rezorbe olur. Kemik zamanla, tekrar kırık öncesi şeklini almaya ve fonksiyonunu görmeye başlar (65, 78, 79).

Kırık sahasında kansellöz kırıklarda nekroz miktarı daha azdır. Çünkü kansellöz kemiğin bol anastomoza uğramış vasküler kaynağı, savunmasız izole vasküler kaynakla karşılaştırıldığında, kortikal kemiğin haversian sistemleri içinde örtülmüştür. Ek olarak, kansellöz kemik kırığında gereken güç daha azdır, böylece nekroz miktarı azalır. Kansellöz kırıkta kallusun kıkırdakla sarılması ve sonraki endokronal ossifikasyon bu kırıkların göreceli stabilitesine bağlı olarak daha azdır. Kansellöz kırıktan sonra oluşan, yaralanmamış periosteum ve çevreleyen yumuşak dokudan türeyen periferik kallus, endosteum kaynaklı kallustan daha küçüktür. Kansellöz kırıkta erken formasyon, maturasyon (olgunlaşma) ve kallusun remodelingi için gerekli süre kortikal kırıkla karşılaştırıldığında önemli ölçüde düşüktür (%50) ve komplikasyonlara karşı daha az hassastır (65, 78, 79).

2.2 Kemik Greftleri

İskelet sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi oral ve maksillofasiyal bölgenin kemiksel yapılarında da gerek atrofik maksilla ve mandibulanın rekonstrüksiyonunda gerekse konjenital, travmatik, dejeneratif, enflamatuvar, enfeksiyöz, kistik ve neoplastik orijinli deformitelerin giderilmesinde kemik greftlerine gereksinim duyulmaktadır. Günümüzde bu amaçla otojenik, allojenik ve alloplastik kemik greft materyalleri kullanılmaktadır (81). Uygulandıkları bölgede yeni kemik oluşturmaları veya yeni kemik oluşumuna destek olmaları beklenen bu materyallerin başlıca 3 etki mekanizması vardır (82).

Osteogenezis bir greft materyalinin doğrudan osteoblastlar ile yeni kemik yapabilmesi durumudur (56). Osteogenezisde greft materyalinin içinde yeni kemik oluşturma yeteneğine sahip olan canlı hücreler (osteoprogenitör hücreler) bulunmaktadır (83).

Osteoinduksiyonda greft materyalinin yapısında kemik defektinin yüzeyini döşeyen mezenkimal hücrelerin yeni kemik ve kıkırdak oluşturan hücrelere farklılaşmasını sağlayan sinyal molekülleri bulunur. Bu tür greft materyalleri kas içi ve deri altı gibi ektopik bölgelere yerleştirildiklerinde yeni kemik oluşumu başlatabilirler.

BMP'ler ve demineralize kemik matriksi ana osteoindüktif maddelerdir (56). Az miktarda da olsa allogreft ve otogreftlerde osteoindüktif etki göstermektedirler (83).

Osteokondüksiyon fiziksel bir özelliktir. Greftin canlı kemik içine konstrakte olmasını sağlar, kemik defektini çevreleyen yumuşak dokuların defektin içine girmesini engeller. Ayrıca mikroskobik olarak boşluklar ve kanallar içeren yapısı defekt bölgesinden gelecek olan damarlanmayı ve hücre göçünü kolaylaştırır.

Kemik greftleri elde edildikleri dokulara yada üretildikleri maddelere göre 5 grupta incelenebilirler.

1-Otojen greftler

2-Allogreftler

3-Ksenogreftler

4-Alloplastlar

5-Osteoaktif moleküller (84).

2.2.1 Otojen kemik greftleri:

Kemik greftleri arasında aynı anda hem osteojenik hem osteoindüktif hemde osteokondüktif etkiye sahip tek greft türüdür. İçlerinde canlı kemik hücreleri bulunur ve immunolojik reaksiyonlara sebep olmazlar. Alındıkları bölgeye göre kortikal, kansellöz ve kortiko-kansellöz olarak alt gruplara ayrılırlar. İçerikleri bakımından da damarlı veya damarsız olarak elde edilebilirler. Greftin damarlı yada damarsız yapısının seçimi yerleştirileceği kemik defektinin boyutları ile ilgilidir. Ancak damarlı greftlerin yerleştirilecekleri bölgedeki damrlarla anastomoz yapmaları gerekir. Bunun için uygulanan mikrocerrahi işlemler operasyon süresini uzatabilir (82,85,86). Kortikal yapıdaki greftler yerleştirildikleri bölgede dayanıklı sert bir yapı oluştururlar ama osteogenez yetenekleri sınırlıdır. Ağız içinde semfizden, ramusdan, ağız dışında ise fibuladan kostalardan ve ilak kristadan elde edilebilirler (85,86).

Kansellöz greftlerin ise osteojenik potansiyelleri yüksektir. Kolayca revaskularizasyon gösterirler ve konakla uyum sağlarlar. Fiziksel etkilere karşı dayanıksızdırlar. Ağız içinde; tuber bölgesinden dişsiz bölgelerden, ekzostozlardan, köklerin arasındaki alveol kemiğinden ve iyileşmekte olan diş çekim bölgelerinden alınabilirler. Ağız dışında iliak kristadan, tibiadan ve kostalardan elde edilebilirler (82, 85, 86).

Kortiko-kansellöz kemik greftleri ise hem canlı hücreler içermeleri hemde yapısal dayanıklılıkları nedeniyle sıklıkla kullanılırlar. Ağız içinde en sık semfiz bölgesinden, ağız dışında ise kostalardan yada iliak kristadan elde edilebilirler (3, 82, 85, 86). Otojen greftlerin operasyon süresinin uzun olması, elde edilebilecek kemik miktarının sınırlı olması, verici bölge morbiditesi gibi nedenlerle kullanımının dezavantajları ortaya çıkmaktadır. Özellikle verici bölgede yara komplikasyonları, yerel duyu kaybı ve kronik ağrı gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (87).

2.2.2 Allogreftler:

Bir segmental kemik defektinin tedavisinde tercih edilecek ilk materyal osteoindüktif özelliğinden dolayı otojen kemik greftidir. Fakat bu materyallerin miktarlarının az olması ve alınan bölgenin morbiditesi otojen kemik greftlerinin en büyük dezavantajıdır. Grefte fonksiyonel bir şekil verilirken oluşan materyal kaybından dolayı defektin uygun bir şekilde dolduramaması problemi ile karşı karşıya kalınabilir. Bu gibi problemleri çözmek için kemik materyalleri ve kemik allogreftleri geliştirilmiştir (88). Allogreftler alıcı ile aynı türden olan ancak genetik olarak farklı bireylerden elde edilen kemik dokularıdır. Taze dondurulmuş kemik, dendirulmuş kurutulmuş kemik ve demineralize edilmiş kemik matriksi olarak sınıflanabilirler (89). Günümüzde kullanılan kemik allogreftlerinden biri olan dondurularak kurutulmuş kemik greftleri osteokondüksiyonla iyileşirler, ayrıca bu kemik allogreftlerinin osteoindüktif potansiyeli yoktur (90). Bu tip greftler kadavradan elde edilen kemiğin -80 C'de dondurularak aşamalı olarak kurutulmasıyla ve materyalin yaklaşık 2 hafta süre ile dehidratasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilmektedir. Kemiğin içindeki su miktarı %5 'in altına düştüğünden greft materyalinin mekanik özellikleride zayıflamaktadır. Virüs taşıma olasılıkları düşük olmasına rağmen hücrel immunolojik reaksiyonlara sebep olabilmektedir (91). Demineralize kemik allogreftleri kullanıldığında iyileşme bir osteoindüksiyon süreci ile gerçekleşmektedir (92, 93, 94, 95, 96). Demineralize kemik matriksi kemikte mevcut olan mineral yapının ortadan kaldırılmasıyla elde edilir. Bu işlem sırasında mekanik özelliklerde zayıflama görülür. Ancak kemik matriksinde

mevcut olan BMP gibi proteinler meydana çıkar. Bir diğer kemik allogrefti olan taze dondurulmuş kemik sadece dondurma işlemi ile hazırlandığı için osteoindüktif proteinleri korunmaktadır. Viral hastalıklara neden olan mikroorganizmaları taşıyabilecekleri için oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanımları sınırlıdır. Allojenik greftlerde en sık karşılaşılan sorunlar, kırılma, dokuya kaynamama ve enfeksiyondur (97). Allogreft uygulamalarında %19 a varan greft fraktürü oranları bildirilmiştir. Allogreftlerin bir dezavantajı da, greft yoluyla viral enfeksiyon geçişidir (98). Bu dezavantajlarının yanında, allogreftlerin, istenilen miktarda bulunma gibi avantajları da bulunmaktadır. Ayrıca otojen greftlerde ortaya çıkan verici bölge komplikasyonları da allogreftlerde bulunmamaktadır (97, 98).

2.2.3 Ksenogreftler

Bu tür kemik greftlerinde alıcı ile vericinin türleri birbirinden farklıdır. Memeli hayvanlardan at, sığır ve domuz sıklıkla greft kaynağı olarak kullanılırlar. Bu kemikler etilen diamin gibi organik çözücülerde bekletilerek organik bileşenlerinden arındırılırlar. Daha sonra geride kalan inorganik matriks sterilize edilerek kullanıma hazırlanır. Böylece greft materyalinin immun yanıt meydana getirmesi engellenir. İnorganik ve proteinsiz olan bu yapı doymamış kalsiyum apatit krisatallerinden oluşur (82, 89, 99). Ksenogreftlerin yapısı sadece inorganik matriksten oluştuğu için osteokondüktif özellik gösterirler. İç yapılarının doğal kemiğe çok benzemesi sebebiyle konak kemikten gelecek damarlanmayı kolaylaştırdığı bildirilmiştir ve yerleştirildikleri bölgede kemik dokusuyla kaynaşan bu materyaller osteoklastlar tarafından yıkılarak ortamdan çekilirler (82, 100).

2.2.4 Alloplastlar ve Beta trikalsiyum fosfat

Alloplastik kemik greftleri canlı dokulardan elde edilmeyen sentetik olarak üretilen maddelerdir. Bu amaçla çeşitli materyaller kullanılmaktadır. Bunlar:

- . Biyoaktif camlar
- . Cam iyonomerler
- . Alüminyum oksitler
- . Kalsiyum sülfatlar
- . kalsiyum fosfatlar
- . Beta trikalsiyum fosfatlar
- . Sentetik hidroksilapatitler
- . Koralin hidroksilapatitler

Kalsiyum fosfat simanları'dır (101).

Osteoinduktif etki gösterirler. İdeal bir alloplastik greft materyali şu özelliklere sahip olmalıdır.

- 1-Doku uyumlu olmalıdır.
- 2-Uygulandığı bölgede doğal kemik oluşana kadar bütünlüğünü korumalıdır.
- 3-Doğal kemik oluşumuna izin verecek şekilde rezorbe olmalıdır.
- 4-Kolay steril edilebilmelidir
- 5-Kemiğe mekanik destek sağlayabilmelidir.
- 6-Doku geçişine izin verecek yapıda olmalıdır.
- 7-Diğer biyolojik moleküllerle beraber uygulanabilmelidir.

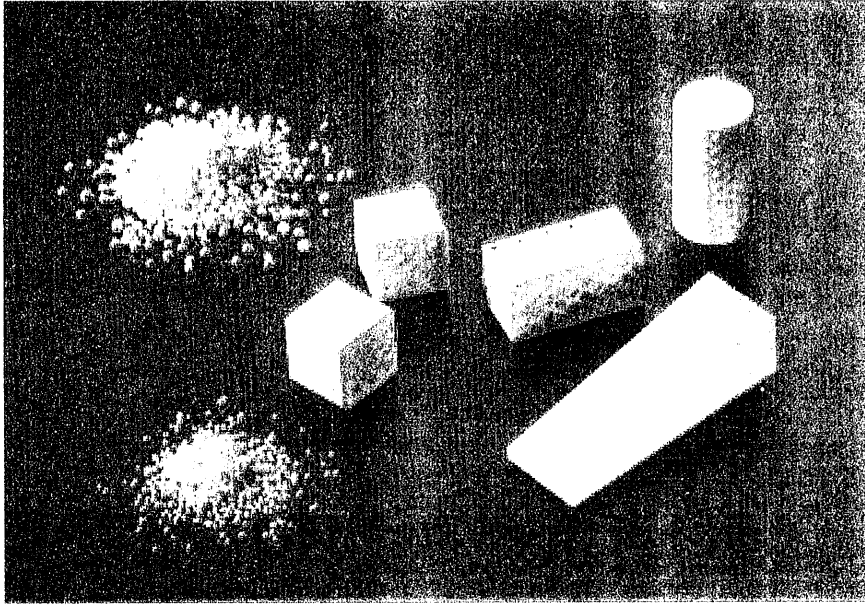
Alloplastik kemik grefti materyallerinin klinikte sıklıkla kullanılan türleri olan kalsiyum fosfat bileşiklerinin kimyasal yapısı kemiğin mineral kısmına benzer. Genel olarak kemiğin kalsiyum / fosfat atomları oranı 1.67 : 1'dir. Kalsiyum fosfat bileşiklerinde bu oran 1.3 : 1 ile 3 : 1 arasında değişir. Trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatit seramikleri kristalli yapıda olduklarından dokularda eriyebilirler. Ancak erime hızları birbirinden farklıdır. Bu durum termodinamik özelliklerinden kaynaklanır. Osteokondüktif özellikte olan bu maddelerden trikalsiyum fosfat yerleştirildiği bölgede yeni kemik oluşumu meydana gelirken düzenli olarak rezorbe olur.

Fakat HA kristallerinin erimesi daha uzun bir zaman alır. Bu yüzden iki maddenin endikasyonları farklı olabilmektedir. Trikalsiyum fosfat implant çevrelerine ya da maksiller sinüs yükseltilmesi işlemlerinde geçici olarak kemik dokusunun yerine yerleştirilir. Bunun aksine HA eklem protezlerinin ve kemik içi implantların yapımında kullanılır (82, 102, 103).

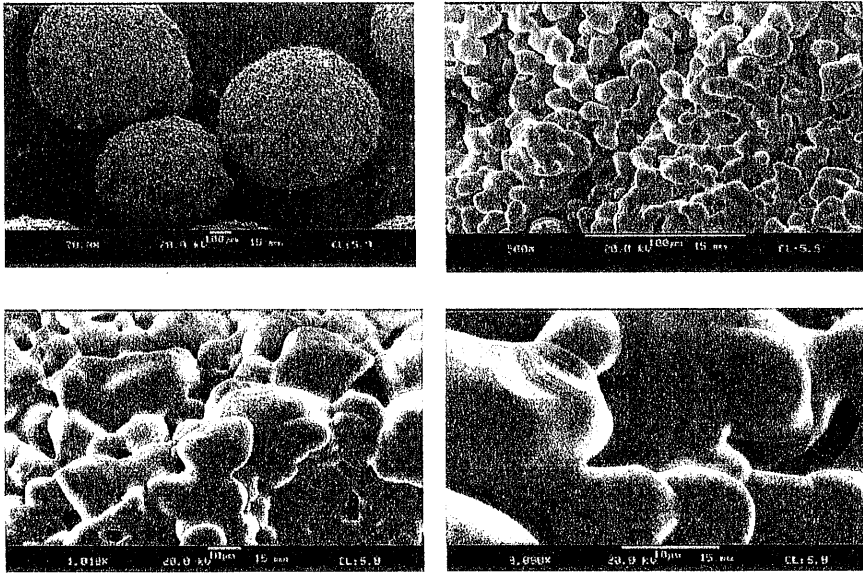
Beta trikalsiyum fosfat seramikleri yaklaşık 1000 C derece sıcaklıkta, alfa fazı ise daha yüksek sıcaklıklarda elde edilirler. Bu şekilde materyal mikroorganizmalardan arındırılmış olmaktadır. Beta fazının rezorbsiyonu, alfa fazına göre daha hızlıdır. Beta trikalsiyum fosfat seramikleri farklı granül boyutlarında veya bloklar halinde piyasada bulunurlar (Resim 2) (Resim 3). Kemikte tolere edilmeyen iltihap yada fibröz doku enkapsülasyonu meydana getirmezler. Rezorbsiyon hızı bu maddenin saflığına ve poröz yapısına bağlıdır. Defekt bölgesine yerleştirildiklerinde çevre dokudan gelen damarlanmayı ve hücre göçünü kolaylaştırırlar (82, 103, 104, 105). Greft materyalinde fazdaki saflık oranının düşmesi yabancı cisim reaksiyonlarına sebep olabilmektedir. Bu sebepten American Society for Testing and Materials (ASTM) faz saflık değerini % 95 olarak belirlemiştir (106). Çalışmamızda kullanılan beta trikalsiyum fosfat esaslı greft materyalinde bu oran % 99' dur (Tablo 1).

Metal İçeriği	ASTM Kriterleri	Cerasorb® İçeriği
Kurşun	<30ppm	<5ppm
Civa	<5ppm	<0.1ppm
Arsenik	<3ppm	<0.5ppm
Kadmiyum	<5ppm	<1ppm

Tablo 1: Cerasorb®'un içeriğinde ki eser elementler



Resim 2: Cerasorb®'un granül ve blok formları



Resim 3: Cerasorb granüllerinin sırasıyla 70X, 500X, 1010X ve 3000X magnifikasyonla çekilmiş görüntüleri

2.2.5 Osteoaktif moleküller

Osteoaktif moleküller kemik birikimini stimüle eden maddelerdir. Urist ve ark.'nın osteoindüksiyon kavramı öne sürerek BMP sentezini gerçekleştirmelerinin ardından kemik iyileşmesi üzerine etkili birçok molekül tanımlanmıştır. Bunlar osteoindüktif, osteopromotor maddeler ve biyoaktif peptidler olarak sınıflanabilirler. Osteoindüktif ve osteopromotor özellikler gösteren maddeler genel olarak büyüme faktörlerini içerirler. Reseptör sinyal mekanizması, DNA sentezi ve hücre bölünmesi gibi süreçleri düzenlerler. Biyoaktif peptidler ise kemik iyileşmesini hızlandıran yada düzenleyen polipeptid molekülleridir. P-15 polipeptid molekülünün, osteoblast hücrelerinin kemik greftine bağlanmasını kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Osteoporoz tedavisi ile ilgili çalışmalar sırasında kemiğin yüksek stres altında kalan bölgelerinde OSA molekülü konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. Bu özellik sayesinde, OSA molekülünün demineralize kemik matriksinin osteoindüktif özelliklerini arttırabileceği öne sürülmektedir (84).

2.3 Greft Materyalindeki Bioelementler ve Genel Fonksiyonları:

İnsan hayvan ve bitki organizmasını oluşturan organik ve anorganik maddeler belirli bazı elementlerden yapılmıştır, ki bunlara Bioelementler adı verilir. Başlıca bioelementler şunlardır. C, H, O, N, S, P, Na, K, Ca, Mg, Fe, I, Co, Mn, Mo, Br, F, Zn, Cu.

Bütün bu elementlerin ilk ve esas kaynağı, doğadaki anorganik maddelerin elementleridir. Anorganik elementler vücutta türlerine göre:

- a) İyonlar (Elektrolitler)
- b) Anorganik Bileşikler (eriyen, erimeyen)
- c) Kompleksler

oluşturmuş haldedirler. İyonların en önemli görevi organizma sıvılarında fizikokimyasal ortamı meydana getirmek ve özel farmakolojik ve biyokimyasal etkiler göstermektir. Erimeyen anorganik bileşikler kemik ve diş gibi destek dokuları oluştururlar.

Komplekslerin hemoglobindeki oksijen bağlama, enzimlerin prostetik grubu olarak kataliz yapma gibi önemli görevleri vardır (107). Kullandığımız saf beta trikalsiyum fosfat greft materyali başlıca kalsiyum ve fosfor elementlerini içermektedir.

2.3.1 Kalsiyum ve fosfor

2.3.1.1 Kalsiyum ve fosfor metabolizması

Kalsiyum ve fosfor metabolizmaları birbirleriyle yakından ilişkilidirler. Kalsiyumun % 99'undan fazlası ve fosforun % 80'i kemiklerde kalsiyum florofosfat apatit olarak bulunurlar. Geri kalan kalsiyum kaslarda ve sinir sisteminde, fosfor ise karbonhidrat, lipid ve proteinler halinde doku ve sıvılara dağılmış halde bulunmaktadır. Geri kalan kalsiyum ve fosforun vücutta çeşitli önemli fonksiyonları vardır. Örneğin kalsiyum iyonları uyaranlara karşı aşırı nöromüsküler hassasiyeti azaltır, kan pıhtılaşmasında rol oynar, süksinat dehidrojenaz ve ATP gibi enzimlerin aktivasyonunu sağlar. Bunlardan başka, kalsiyum kapiller ve hücre duvarı geçirgenliği üzerine de etkilidir. Diğer taraftan fosfor, karbonhidrat metabolizmasında ve kemiğin mineralizasyonunda önemli rolü oynar. Ayrıca organik fosfat esterleri, fosfolipitler, nükleik asitler ve nükleotidler gibi fizyolojik olarak önemli maddelerin yapısında bulunur. Kalsiyum ve fosfor ince bağırsaklardan emilirler. Kalsiyum maksimal olarak duodenumdan emilirken fosfor, jujenumdan emilmektedir. D vitamini kalsiyum emilimi için oldukça önemlidir. Artmış seviyelerdeki D vitamini kalsiyum emilimini arttırırken, düşük seviyeleri emilimi azaltmaktadır. Kan kalsiyumunun tümü serumda bulunmaktadır.

Buna karşılık fosfor organik fosfat olarak daha çok hücre içinde bulunur. Fosforun az ama belirgin bir miktarı da serumda inorganik fosfat olarak bulunmaktadır. Serumdaki inorganik fosfat kimi patolojik durumlarda artış ve eksilmeler gösterir. Serumdaki kalsiyum ve fosfor ters orantılı bir ilişki gösterirler. Serumdaki inorganik fosfor seviyesindeki herhangi bir artış serum kalsiyumunun düşmesiyle bağlantılıdır.

Buna en iyi örnek üremi tablosunda görülen böbrekteki fosfor tutulumuna bağlı olarak artan serum fosfor seviyesinin, serum kalsiyum seviyesinin düşmesiyle birlikte görülmesidir. Bu durum kronik böbrek hastalıklarında D vitamini sentezinin düşmesi böylece bağırsaktaki kalsiyum geri emiliminin azalmasıyla açıklanmıştır. Kalsiyum serumda iki ayrı formda bulunur. Bunlardan birincisi total serum kalsiyumunun % 40'ını oluşturan proteine bağlı kalsiyum, ikincisi ise % 60'ını oluşturan serbest kalsiyumdur. Serbest kalsiyum da kendi içinde kompleks kalsiyum (sitrat, fosfat, bikarbonat, sülfat) ve fizyolojik olarak aktif form olan iyonize kalsiyum (% 50), olarak alt gruplara ayrılır. Serumdaki iyonize kalsiyumun azalması tetani'ye, artması ise kalp ve solunum sistemi sorunlarına yol açar. Serum kalsiyum seviyesini etkileyen en önemli faktörler şunlardır:

Paratiroid hormon:

PTH paratiroid bezdeki ana hücreler tarafından serumdaki iyonize kalsiyum seviyesinde düşüşe cevap olarak sentezlenir ve salgılanır. Bu hormon kemikten kana kalsiyum seferber ederek ve bir D vitamini türevi olan ve kemik rezorbsiyonunu ve ince bağırsaklardan kalsiyum emilimini arttıran 1,25-dihidroksi kolekalsiferol sentezlenmesini arttırarak etkili olur. Ayrıca böbreklerden kalsiyum atılımını azaltır bir başka deyişle kalsiyumun reabsorbsiyonunu arttırır. Paratiroid hormonun artması kandaki kalsiyum seviyesini arttırırken fosfat konsantrasyonunu düşürmektedir. Fosfat konsantrasyonunun düşmesi PTH'ın böbrekten fosfat atılmasını arttıran etkisine dayanır. Bu etki kemikten fosfat seferberliğinin artmasından daha baskındır. Bu etki, fosfat iyonlarının proksimal tubuluslarda reabsorbsiyonunun azalması ile ortaya çıkar.

Kalsitonin:

Bu hormon tiroid bezinden salgılanır ve kemik rezorbsiyonunu osteoklast sayısını ve aktivitesini düzenleyerek inhibe eder. PTH' a antagonist olarak görev yapar. Bu hormon yüksek serum kalsiyum seviyelerine cevap olarak salgılanır ve vücut kalsiyumunun aşırı miktarlardaki kaybını önler.

D vitamini:

D vitamini aslında inaktif kalsiferol (vitamin D2) ve kolekalsiferol (vitamin D3) gibi bir takım pro-vitamin ve aktif vitaminler için kullanılan bir terimdir.

Kolekalsiferol'un karaciğerde 25. karbonu hidroksillendikten sonra böbrekte de 1. karbonu hidroksillenir. 1,25 -dihidroksi kalsiferol meydana gelir. Vitamin D2 içinde aynı sürecin işlediği düşünülmektedir. Bu böbrek hormonu bağırsaktan kalsiyum ve fosfat emilimini artırarak ve kemikten kana kalsiyum seferber ederek etki gösterir.

2.3.1.2 Kalsiyum ve fosfor atılımı:

Alınan günlük kalsiyumun altıda beşi feçesle, kalan altıda birlik kısımda idrarla vücuttan atılır. Kan kalsiyum düzeyi düşükse hemen hemen idrarda hiç kalsiyum çıkmayacak şekilde tümü rezorbe olur. Öte yandan kalsiyum iyon konsantrasyonundaki çok küçük artışlar bile kalsiyum atılmasını belirgin olarak yükseltir. Kalsiyum atılım hızını PTH düzenlemektedir.

Kalsiyumla birleşerek feçesle atılan bölümü dışında diyetdeki fosfatın tümü bağırsaklardan kana emilir ve daha sonra idrarla atılır. Fosfat eşikli bir maddedir. İnsan vücudunda plazma konsantrasyonu kritik değer olan yaklaşık 1 milimol / litre olduğu zaman idrarla fosfat kaybı tamamen durur; fakat bu kritik değer üzerinde, artan miktarla doğru orantılı olarak atılır. Böylece böbrekler plazma fosfat konsantrasyonuna göre fosfatın atılımını ayarlayarak, ekstrasellüler fosfat konsantrasyonunu düzenler. Bununla beraber fosfatın böbreklerle atılması PTH etkisiyle oldukça artabilir (108).

2.4 Alkalen Fosfataz:

Serumdaki alkalen fosfataz, kemik oluşumunu gösteren sistemik bir indikatördür (109). Optimal aktivitelerini ortam Ph değerinin yaklaşık 10 olduğu durumlarda gösteren izoenzimlerdir. 8 veya daha fazla farklı izoenzim formları bulunabilmekle beraber bir serum örneğinde 3 veya 4' ten daha fazla formda görülmeleri nadirdir. Serum izoenzimleri, bağırsak, karaciğer, kemik, plesanta, böbrek dokularında ki özel izoenzim formlarının özelliklerini taşımaktadırlar. Fakat hala serumdaki dominant formların kaynağının neresi olduğu kesinlik kazanmamıştır. Alkalen fosfataz çok çeşitli fizyolojik ve non-fizyolojik substratlar üzerine etki eder fakat vücutta etki ettiği doğal substratlar tam olarak bilinmemektedir. Bu enzim vücudun bütün dokularında, özellikle hücre membranlarında, bağırsak epitelinde, böbrek tübüllerinde, kemikte, karaciğerde ve

presentada yüksek seviyede bulunmaktadır. Tam olarak anlaşılamamakla beraber enzimin metabolitlerin hücre membranından geçişinde, lipid taşınmasında ve kemiğin kalsifikasyon sürecinde etkili olduğu düşünülmektedir. Serumdaki alkalen fosfataz 56 C derecede hızlı bir şekilde denatüre olur. Fakat düşük ısılarda oldukça stabildir. Serum alkalen fosfatazının teşhiste iki durumda önemi vardır. Bunlar karaciğer hastalıkları ve osteoblastik aktivitenin arttığı kemik hastalıklarıdır. Extrahepatik tıkanmalarda ya da pankreas başı kanserlerinde serum enzim aktivitesi normal değerlerin 10 ila 12 katına çıkabilmektedir. Kemik hastalıkları arasında ise en yüksek ALP aktivitesi, osteoklastların kontrolsüzce yıktığı kemiği yeniden oluşturmaya çalışan osteoblastik hücrelerin bulunduğu Paget's hastalığında görülmektedir. Üst limitin 10 ila 25 katı çıkan değerler görülebilmektedir. Osteomalazi hastalığında şiddetli yükselmeler görülebilmekle beraber D vitamini tedavisiyle yüksek değerler yavaş yavaş düşmektedir. Osteoporoz da ALP değerleri normaldir. Fanconi sendromu, primer hiperparatiroidizm ve sekonder hiperparatiroidizmde de aşırı olmayan yüksek ALP değerleri görülmektedir. Fakat kemik kanserlerinde çok yüksek enzim değerleriyle karşılaşılmaktadır. Kırık iyileşmesi sırasında ALP aktivitesinde geçici yükselmeler görülebilmektedir. Fizyolojik kemik büyümesi de ALP değerini arttırmaktadır. Bu yüzden çocuklarda ki serum ALP değeri yetişkinlerden 1.5 ila 2.5 kat daha yüksek olabilmektedir. Ayrıca gebelik 3. trimesterde ALP yükselmiş olabilir. Aşağıdaki listede ALP değerinin yükseldiği ve düştüğü durumlar belirtilmiştir.

2.4.1 Alkalen fosfataz düzeyinde artmaya yol açan bazı patolojiler:

2.4.1.1. İskelet sistemini etkileyen hastalıklar:

1) Primer hiperparatiroidi: Paratiroidler cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra, serum alkalen fosfatazdaki artış devam eder. Kemik onarımı tamamlanana kadar, yavaş olarak normale döner.

2) Sekonder hiperparatiroidi.

3) Kırığın iyileşmesi sırasında.

4) Paget hastalığı: Serum düzeyi hastalığın ilerlemesi ile yavaş olarak artar. Osteojenik sarkom gelişirse hızlı bir artış gözlenir.

5) Osteomalazi: Erken dönemde ve hipofosfatazlı nadir hastalar dışında alkalen fosfataz artmaktadır.

6) Ankilozan spondilitis.

7) Cushing sendromu.

8) Herediter hiperfosfatazemi.

9) Neoplastik hastalıklar:

-Osteojenik sarkoma

-Multiple myeloma.

-Kemik metastazları.

10)Gauher hastalığı.

2.4.1.2 Hepatobiliyer Hastalıklar:

1) Kolelitiyazis ile tıkanma

2) Karaciğer apsesi.

3) Biliyer siroz.

4) Primer ya da metastatik karaciğer tümörü.

5) Viral hepatit.

- 6) Sarkoidozis.
- 7) Amiloidozis.
- 8) Alkolik hepatit.
- 9) Pankreatit.
- 10) Enfeksiyöz mononükleozis.
- 11) Kist hidatik
- 12) CMV enfeksiyonu.
- 13) İlaçlara bağlı karaciğer hastalığı.

2.4.1.3 Diğer nedenler:

- 1) Sepsis.
- 2) Böbrek yetmezliği.
- 3) Diabetes Mellitus
- 4) Hipertiroidizm.
- 5) Lösemiler.
- 6) Renal karsinoma.

7) Meme karsinomu ve metastazları.

8) Konjestif kalp yetmezliği.

9) Renal rikets.

10) İlaçlar: Asetoheksamid, allopürinol, karbamazepim, sefaloridin, klorpropamid, furasemid, metildopa, oral kontraseptifler, fenotiyazin, tolazamid, tolbutamid gibi (110).

2.4.2 Alkalen fosfataz düzeyinde azalmaya yol açan bazı patolojiler:

1) Hipotiroidi.

2) Herediter hipofosfatazemi: Serum kalsiyumu ve plazma inorganik fosforu normaldir. Kemik ve serum alkalen fosfataz aktivitesi çok düşüktür.

3) Anemiler.

4) Akondroplazi: Çocuklarda, büyümedeki durma sonrasında, hızla yetişkinlerdeki düzeye düşer.

5) Kretenizm: Büyümedeki durma sonrasında, serum düzeyi hızla yetişkin düzeyine düşer.

6) Kwashiokor: Tedaviyi takiben iki haftada düşüklük artar, daha sonra normal düzeye yükselir.

7) C vitamini eksikliği.

8) Klofibrat tedavisi.

9) Kemiklerde radyoaktif maddelerin toplanması, osteoblastlarda yıkıma neden olduğundan serum alkalen fosfataz düzeyi düşebilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 GEREÇ

Çalışmamızda kullanılan gereçlerin listesi aşağıda verilmiştir.

- 8 kutu Cerasorb® kemik grefti (0.5-1.0 mikron parçacık çapında Beta trikalsiyum fosfat seramiği, Curasan, Almanya)
- 61 adet 4 aylık erkek Wistar-Albino cinsi 250 ± 20 g ağırlığında erkek sıçan
- 4 adet Ketanest® flakon (Ketamin HCl, Parke Davis, Almanya)
- İnsulin enjektörleri, ependorf tüpler, santrifüj tüpleri,
- Ameliyat seti
- 3.0 ipek dikiş ipliği
- Metabolik kafesler
- Santrifüj cihazı
- Tur motoru ve piyasemen
- 1 mm çapında yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frez.
- Derin dondurucu
- Atomik Absorbsiyon spektrofotometresi
- Roche Moduler Sistem DPP

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Deney Hayvanları ve Grupları

Çalışmamızda deney hayvanlarının ameliyatlarını İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı laboratuvarında, kemik dokuların histopatolojik incelemelerini İ.Ü Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında, plazma

numunelerinin Ca, P, ALP incelemelerini İ.Ü Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya laboratuvarında, idrar numunelerinin Ca, P incelemelerini yine İ.Ü Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya laboratuvarında, organ numunelerinin fosfor incelemelerini İ.Ü Veterinerlik Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında, organ numunelerinin kalsiyum incelemeleri İ. Ü Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim dalı laboratuvarında yapılmıştır. Bu çalışma İ. Ü Bilimsel Araştırma Projeleri'nce Desteklenmiştir. Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri İ.Ü Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurul onayı almıştır.

Çalışmamızda kullanılan 61 adet Wistar-Albino cinsi 250 ± 20 g ağırlığında 4 aylık erkek sıçanlar 21°C sıcaklıkta deney süreleri boyunca metal kafesler içerisinde muhafaza edilmişlerdir. Deney hayvanları İstanbul Yem Sanayii tarafından üretilen sıçan yemi (Tablo 2) ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir.

Tablo 2- Deney hayvanlarına verilen katı yemin içeriği.

Ham protein	En az	% 24
Ham selüloz	En az	% 7
HCl de çözülmeyen kül	En çok	% 2
Kalsiyum	En az-en çok	% 1- % 2.8
Fosfor	En az	% 0.9
Sodyum	En az	% 0.5- % 0.7
Sodyum klorür	En çok	% 1
Lizin		% 1
Metiyonin	En az	% 0.6
Enerji	2650 kcal/kg	

Çalışmamızda hiç işlem uygulanmayan 10 sıçanlık bir grup, herbiri 10 sıçandan oluşan 1., 2. ve 3. deney grupları ve herbiri 7 sıçandan oluşan 1., 2. ve 3. kontrol grupları kullanılmıştır.

Gruplar ve uygulanan işlemler aşağıda belirtilmiştir.

İşlem yapılmayan grup: Herhangi bir operasyon uygulanmayan, çalışmaya alındıkları gün ve sonraki 1., 2., ve 3. ay sonunda kan ve idrar alınan, 3.ay sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

1.deney grubu: operasyondan önce kan ve idrar alınan, sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp 0.4 mg β -TCP uygulanan ve 1 ay sonra tekrar kan ve idrar alınan ve 1.ayın sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

2.deney grubu: Operasyondan önce kan ve idrar alınan sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp 0.4 mg β -TCP uygulanan,operasyon sonrası 1. ve 2. aylarda tekrar kan ve idrar alınan 2 ay sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

3. deney grubu: Operasyondan önce kan ve idrar alınan, sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp 0.4 mg β -TCP uygulanan, operasyon sonrası 1., 2., ve 3. aylarda tekrar kan ve idrar alınan 3. ay sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

1. kontrol grubu: Operasyon öncesi kan ve idrar alınan, sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp, 1 ay sonra tekrar kan ve idrar alınan ve 1.ayın sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

2.kontrol grubu: Operasyondan önce kan ve idrar alınan sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp, operasyon sonrası 1. ve 2. aylarda tekrar kan ve idrar alınan 2 ay sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

3.kontrol grubu: Operasyondan önce kan ve idrar alınan, sağ ve sol tibialarına kemik defekti açılıp, operasyon sonrası 1., 2., ve 3. aylarda tekrar kan ve idrar alınan 3. ay sonunda karaciğer ve böbrekleri çıkartılıp sakrifiye edilen grup.

3.2.2 Cerrahi uygulamalar:

Sıçanlar 24 saatlik idrar numunelerinin alınması için opere edilmeden 1 gün önce metabolik kafeslerde beklemeye alındı. İdrar numuneleri alındıktan sonra operasyon için sıçanlara 100mg/kg İ.M ketamin HCl enjeksiyonuyla genel anestezi uygulandı. Kuyruk veninden kan almak için sıçanların kuyrukları 1/3 uç kısımdan bistüriyle kesildi (Resim 11). Kan alma işlemi sonrası 3.0 ipek dikiş ipliğiyle kuyruklar uç kısımlarından hemoraji kontrolü için dikildi. Sıçanlardan elde edilen 4 ± 1 ml kanlar santrifüj tüpüne alındıktan sonra santrifüj cihazında 3500 devir/dk hızla 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan 2 ± 0.5 ml plazmalar kalın uçlu enjektörlerle çekilerek ependorf tüplere aktarıldı. Plazmaları içeren ependorf tüpler ve idrar numunelerinin muhafaza edildiği deney tüpleri, ilgili labotuvarlarda analiz edilecekleri zamana kadar -20°C de deep freezede muhafaza edildiler. Standart pozisyona getirilen ratların sağ ve sol bacaklarının medial yüzleri traşlanıp, iyot solüsyonuyla dezenfekte edildikten sonra, tibiaların medial yüzlerine ulaşmak amacıyla 20 mm uzunluğunda longitudinal cilt disseksiyonu yapıldı. Künt disseksiyonla tibiaların medial yüzüne ulaşıldı (Resim 4). Serum fizyolojik irrigasyonu altında tur motoru piyasemenine takılı 1 mm çapındaki paslanmaz çelik yuvarlak uçlu cerrahi frez ile 8mm uzunluğunda 3mm genişliğinde korteks ve medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturuldu (Resim 5). 1.,2.,3. deney gruplarındaki sıçanlarda bilateral olarak açılan defektlere yaklaşık 0.4 mg β -TCP esaslı greft materyali yerleştirildi (Resim 6-7). 1.,2., 3. kontrol gruplarında ise yine bilateral olarak açılan defektlere herhangi bir materyal uygulanmadı. Bu işlemler tamamlandıktan sonra operasyon sahası 3.0 ipek dikişlerle kapatıldı (Resim 8). Yara bakımı yapıldıktan sonra sıçanlar kafeslerine yerleştirildi. Hayvanların belirlenen prosedüre uygun şekilde ilgili peryotlarda kan ve idrar numuneleri alındı. 1.deney ve kontrol grubunun 30. gün sonunda, 2. deney ve kontrol grubunun 60. gün sonunda 3. deney ve kontrol grubunun 90. gün sonunda kan ve idrar numuneleri toplanıp yüksek dozda dietil eter anestezisi altında karaciğer, böbrek ve çift taraflı tibiaları çıkartılarak sakrifikasyon işlemleri tamamlandı (Resim9-10). Herbir sıçan, grupları içinde ayrıca

numaralandırıldı. Tibialar % 10' luk tamponlanmış formole yerleştirildi. Çıkarılan böbrek ve karaciğerlerde numaralandırılıp etiketlendikten sonra analiz edilecekleri zamana kadar -20°C de muhafaza edildi. Histopatolojik değerlendirme öncesi % 10' luk formolde bekletilen tibiaların üzerindeki yumuşak dokular temizlenerek defekt sahaları ortaya çıkartıldı. Kemik parçaların formik asit – sodyum nitrat çözeltisinde dekalsifikasyonundan sonra defekt sahalarını içine alabilecek şekilde küçültülen parçalar rutin takip yöntemleriyle işlem gördükten sonra enine kesit alınabilecek şekilde parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5-7 µ kalınlığında seri kesitler alınarak lam üzerine yerleştirildi ve 70° C sıcaklıktaki etüvde deparafinize edildi. Daha sonra hematoksilen & eosin boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda farklı büyütmelemler ile incelendi. İşlem yapılmayan grup haricindeki operasyon yapılmış olan tüm deney ve kontrol gruplarından elde edilen kesitlerin değerlendirilmesi esnasında aşağıdaki kriterler temel alındı.

Ortamda bulunan greft materyali;

% 5 - % 30 arası alanda görülüyorsa (+)

% 30- % 60 arası alanda görülüyorsa (++)

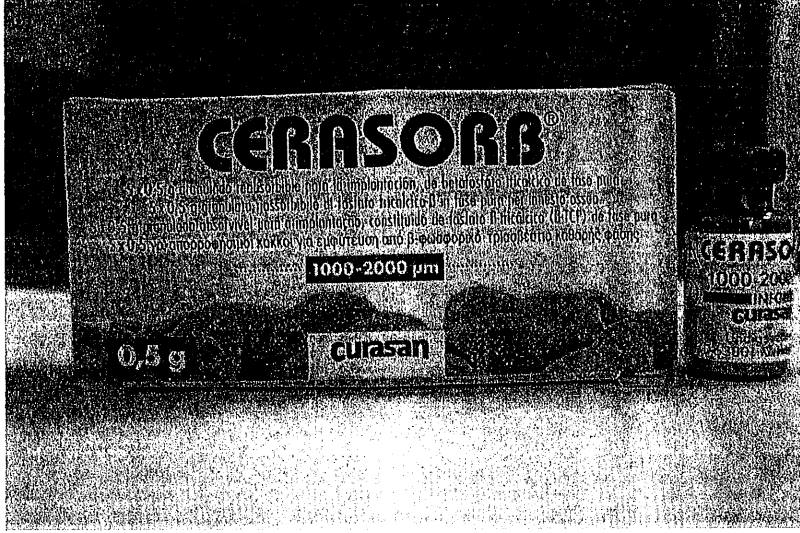
% 60' tan fazla alanda görülüyorsa (+++) olarak değerlendirildi.



Resim 4: Tibiaların medial yüzeylerinin açığa çıkartılması



Resim 5: Hazırlanan defektin görünümü



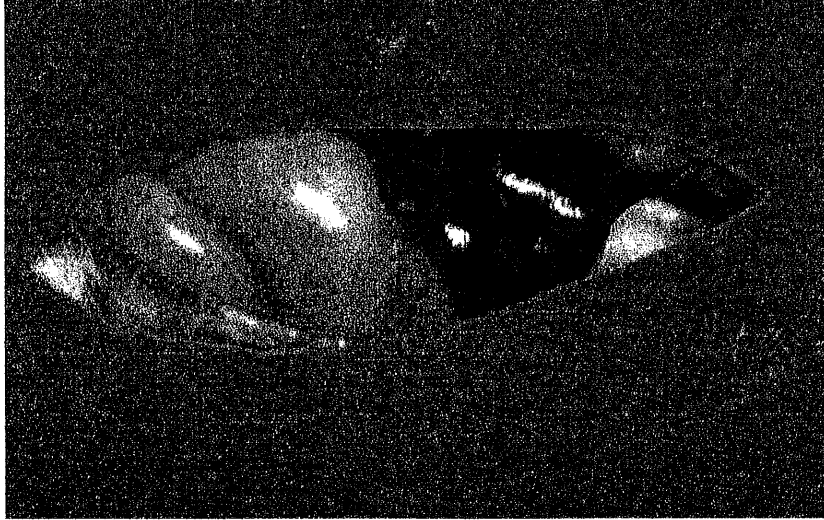
Resim 6: Kullanılan β -TCP esaslı greft materyali



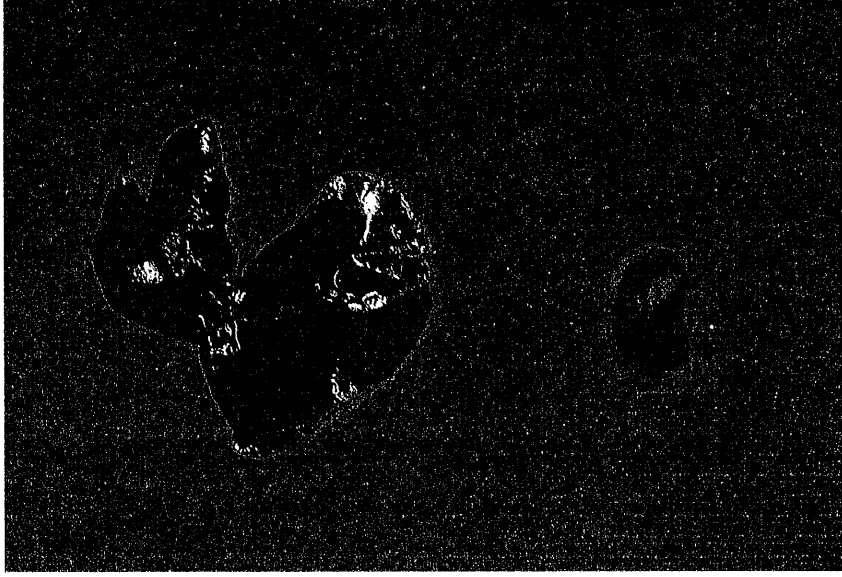
Resim 7: Greftin kaviteye yerleştirilmiş hali



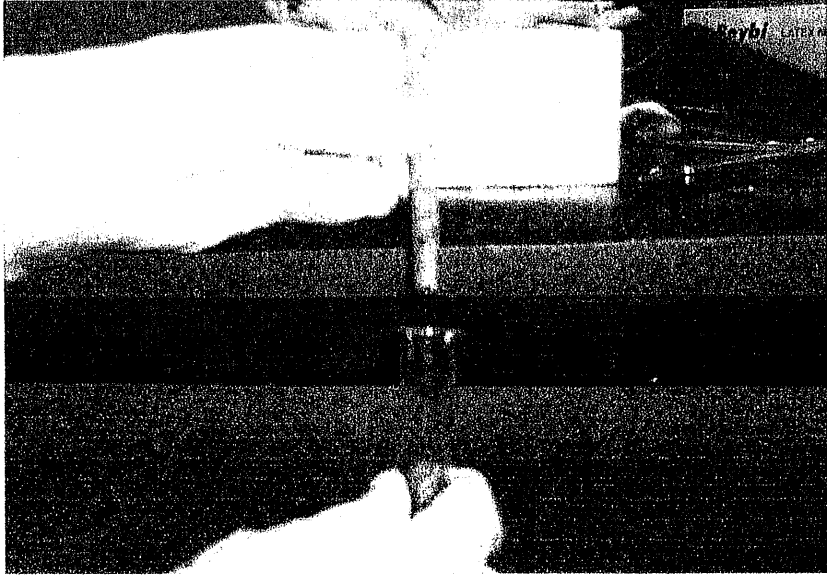
Resim 8: Defekt bölgesinin 3/0 ipek dikişlerle kapatılması.



Resim 9: İnsizyonla sıçanın iç organlarının açığa çıkartılması



Resim 10: Çıkartılan karaciğer ve böbrek



Resim 11: Kuyruk veninden kan alınması

3.2.3 Biyokimyasal Analizler

3.2.3.1 Plazmada Ca, P, ALP ölçümleri:

Sıçanlardan her operasyon öncesi ve daha sonra 30 günde bir alınan kan örnekleri 3500 devir/ dakikada 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra üstte kalan plazmalar kalın uçlu enjektörlerle alınıp ependorf tüplere aktarıldı. Daha sonra İ.Ü Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya laboratuvarında “Roche Moduler Sistem DPP” modüllü cihazında plazmalardaki Ca, P ve ALP değerleri tespit edildi. Ca ve P değerleri mg / dl, ALP değerleri ise U / lt olarak tespit edilmiştir.

3.2.3.2 Organlarda Ca, P ölçümleri:

Sıçanların sakrifikasyonu esnasında alınan karaciğer ve böbrekler derin dondurucuda -20° C’ de muhafaza edildikten sonra dokulardaki fosfor miktarı ölçümü İ.Ü Veterinerlik Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında, kalsiyum ölçümü ise İ.Ü Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim dalı laboratuvarında yapılmıştır. Fosfor incelemesi için yaklaşık 1gr örnek (karaciğer-böbrek) alınmıştır. 20 ml sülfirik asit ilave edilip, kjeldahl’da yaş yakmaya işlemi uygulanmıştır. 20 dakika sonra soğutulup, 2.5 ml nitrik asit ilave edildikten sonra, yeniden yakılmıştır. Bu işlem bir kere daha tekrarlanmış ve en sonunda yarım saat daha yakılmıştır.. Soğuduktan sonra 100 ml’lik balonlarda distile su ile sulandırılmıştır.. Biraz dinlendirildikten sonra, çizgiye kadar su ilave edilmiş ve 100 ml’lik balon jojeye süzgeç kağıdıyla süzölmüştür. Daha sonra örnekler çeşitli işlemlerden geçirilerek Shimadzu UV-120-01 spektrofotometresinde, cihaz yarım saat ısıtılıp, dalga boyu 430 nm’ ye ayarlandıktan sonra okunmuş ve dokulardaki fosfor miktarı ppm cinsinden elde edilmiştir.

Organlardaki Ca değerleri de numuneler çeşitli kimyasal işlemlerle okunmak üzere hazır hale getirildikten sonra atomik absorbsiyon spektrofotometrisiyle tespit edilmiştir. Dokulardaki Ca miktarı ppm cinsinden elde edilmiştir.

3.2.3.3 İdrarda Ca ve P lmleri:

Sıçanlardan her operasyon öncesi ve daha sonra 30 günde bir metabolik kafeslerde toplanarak alınan 24 saatlik idrar rnekleri İ. Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya laboratuvarında “Roche Moduler Sistem DPP” modüllü cihazında okunarak kalsiyum ve fosfor ölçümleri yapılmıştır. İdrardaki kalsiyum ve fosfor miktarları mg/24 saat cinsinden elde edilmiştir.



Resim 16: Kontrol 2 grubu: 2. ay sonunda tibial defektte kemik iyileşmesi



Resim 17: Kontrol 3 grubu: 3. ay sonunda tibial defektte kemik iyileşmesi

4.2 İSTATİSTİKSEL BULGULAR

İstatistiksel Değerlendirme:

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra grupların tekrarlayan ölçümlerinde Friedman testi, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Dunn's çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların tekrarlayan ölçümlerinin karşılaştırmasında Wilcoxon testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

TABLO 4

İdrar Ca	Operasyon				Fr	p
	Öncesi	1.Ay	2.Ay	3.Ay		
İşlemsiz Grup	1,51±0,11	1,53±0,09	1,6±0,11	1,66±0,18	5,28	0,151
Kontrol Grubu 1	1,55±0,13	1,58±0,09	±	±	Z:0,79	0,457
Kontrol Grubu 2	1,56±0,21	1,7±0,19	1,76±0,16	±	5,38	0,124
Kontrol Grubu 3	1,53±0,22	1,55±0,15	1,67±0,18	1,69±0,15	4,96	0,396
Deney Grubu 1	1,59±0,10	1,53±0,16	±	±	Z:0,89	0,393
Deney Grubu 2	1,65±0,13	1,57±0,28	1,68±0,17	±	5,46	0,126
Deney Grubu 3	1,63±0,13	1,61±0,24	1,76±0,19	1,79±0,13	7,18	0,098
KW	6,54	6,45	8,2	4,13		
p	0,365	0,373	0,127	0,126		

İşlemsiz grubun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:5,28 p=0,151).

Kontrol 1 grubun operasyon öncesi,1.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: 0,79 p=0,457).

Kontrol 2 grubun perasyon öncesi,1.Ay, 2.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:5,38 p=0,124).

Kontrol 3 grubun operasyon öncesi,1.Ay, 2.Ay, 3.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:4,96 p=0,396).

Deney 1 grubun operasyon öncesi,1.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: 0,89 p=0,393).

Deney 2 grubunun operasyon öncesi,1.Ay, 2.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:5,46 p=0,126).

Deney 3 grubunun operasyon öncesi,1.Ay, 2.Ay, 3.Ay idrarda Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:7,18 p=0,098).

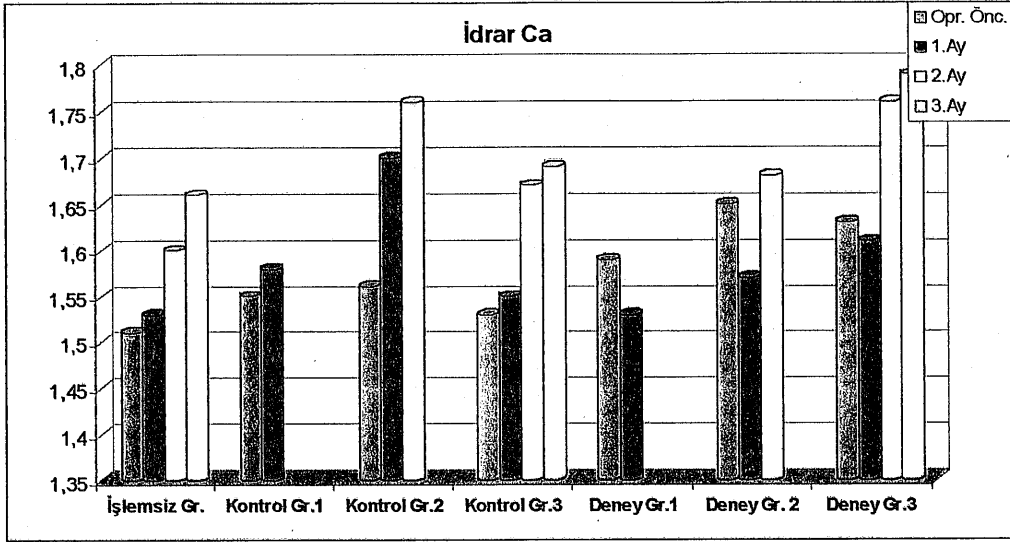
Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının idrarda Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:6,54 p=0,365).

1.Ay İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının idrarda Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:6,45 p=0,373).

2.Ay İşlemsiz, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 2, Deney 3 gruplarının idrarda Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:8,2 p=0,127).

3.Ay İşlemsiz, Kontrol 3, Deney 3 gruplarının idrarda Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:4,13 p=0,126) (Tablo 4) (Grafik 1).

GRAFİK 1



TABLO 5

İdrar P	Operasyon				Fr	p
	Öncesi	1.Ay	2.Ay	3.Ay		
İşlemsiz Grup	12,83±0,53	13,1±0,88	13,4±0,82	13,34±0,52	6,64	0,116
Kontrol Grubu 1	12,87±0,85	13,29±0,66	±	±	Z:2,03	0,092
Kontrol Grubu 2	12,73±0,68	13,1±0,71	13,4±0,58	±	7,85	0,134
Kontrol Grubu 3	13,04±0,82	13,47±0,68	13,56±0,47	13,64±0,52	7,10	0,106
Deney Grubu 1	13±0,49	13,26±0,5	±	±	Z:1,79	0,105
Deney Grubu 2	12,89±0,46	13,03±0,48	13,24±0,48	±	6,48	0,097
Deney Grubu 3	12,58±0,42	12,78±0,39	12,86±0,41	12,88±0,42	6,98	0,117
KW	4,67	7,36	8,73	6,64		
p	0,586	0,288	0,108	0,097		

İşlemsiz grubun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:6,64 p=0,116).

Kontrol 1 grubun operasyon öncesi, 1.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: 2,03, p=0,092).

Kontrol 2 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:7,85 p=0,134).

Kontrol 3 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:7,10 p=0,106).

Deney 1 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: 1,79 p=0,105).

Deney 2 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:6,48 p=0,097).

Deney 3 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay idrarda P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:6,98 p=0,117).

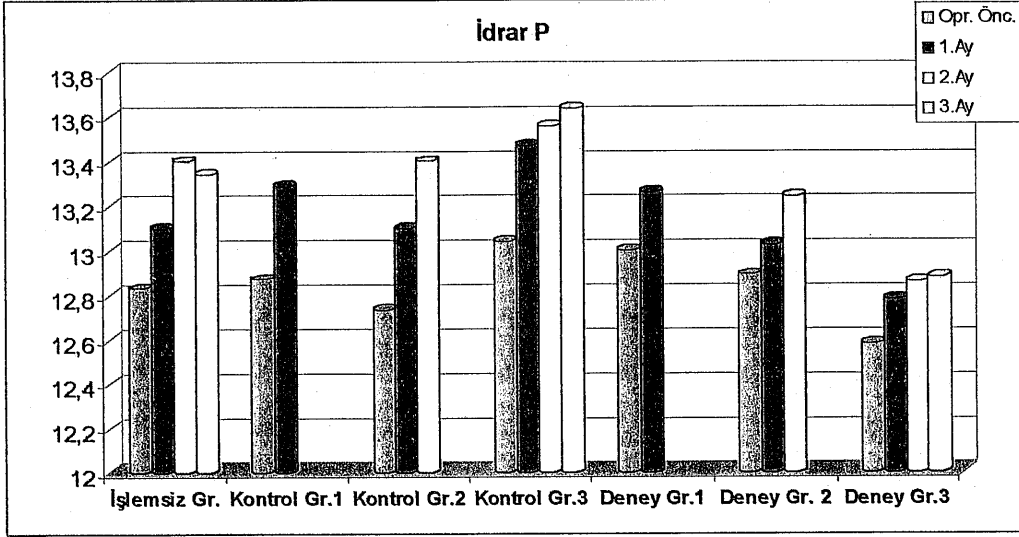
Operasyon öncesi işlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının idrarda P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:4,67 p=0,586).

1.Ay İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının idrarda P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:7,36 p=0,288).

2.Ay İşlemsiz, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 2, Deney 3 gruplarının idrarda P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:8,73 p=0,108).

3.Ay İşlemsiz, Kontrol 3, Deney 3 gruplarının idrarda P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:6,64 p=0,097) (Tablo 5) (Grafik 2).

GRAFİK 2



TABLO 6

Operasyon						
Plazma Ca	Öncesi	1.Ay	2.Ay	3.Ay	Fr	p
İşlemsiz Grup	9,57±0,28	9,51±0,24	9,37±0,19	9,31±0,15	6,23	0,107
Kontrol Grubu 1	9,73±0,3	9,83±0,15	±	±	Z:1,08	0,321
Kontrol Grubu 2	9,16±0,21	9,23±0,21	9,23±0,26	±	1,13	0,619
Kontrol Grubu 3	9,63±0,30	9,66±0,27	9,67±0,35	9,75±0,3	2,34	0,504
Deney Grubu 1	9,11±0,14	9,27±0,27	±	±	2,05	0,069
Deney Grubu 2	9,27±0,36	9,39±0,42	9,53±0,46	±	5,91	0,098
Deney Grubu 3	9,82±0,16	9,9±0,19	9,7±0,29	10,23±3,06	5,92	0,115
KW	2,67	1,96	1,88	1,81		
p	0,575	0,597	0,593	0,612		

İşlemsiz grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:6,23 $p=0,107$).

Kontrol 1 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z:1,08 $p=0,321$).

Kontrol 2 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:1,13 $p=0,619$).

Kontrol 3 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:2,34 $p=0,504$).

Deney 1 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: 2,05 $p=0,069$).

Deney 2 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:5,91 $p=0,098$).

Deney 3 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay plazmada Ca ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:5,92 $p=0,115$).

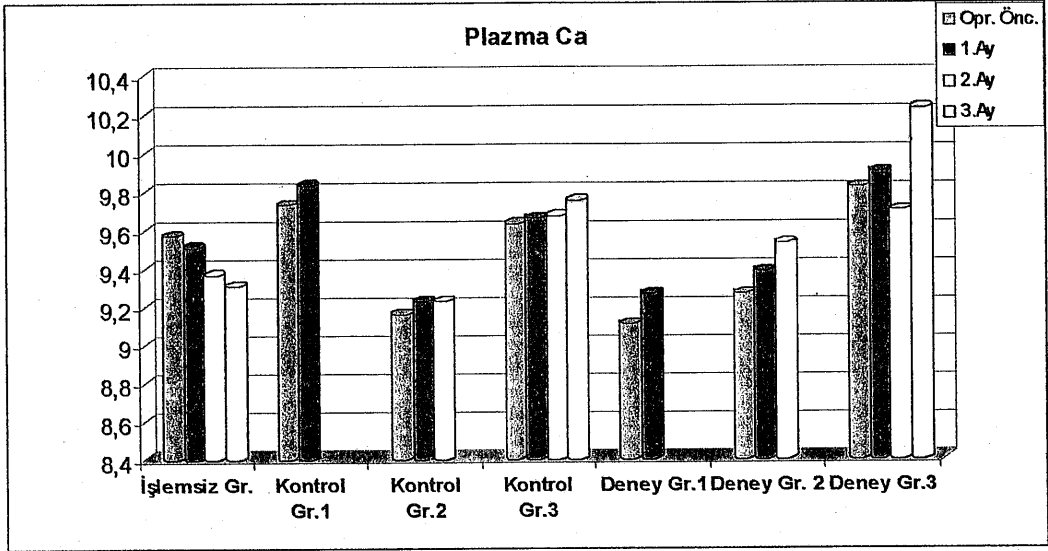
Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının plazmada Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:2,67 $p=0,575$).

1.Ay İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının plazmada Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:1,96 $p=0,597$).

2.Ay İşlemsiz, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 2, Deney 3 gruplarının plazmada Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:1,88 $p=0,593$).

3.Ay İşlemsiz, Kontrol 3, Deney 3 gruplarının plazmada Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:1,81 $p=0,612$) (Tablo 6) (Grafik 3).

GRAFİK 3



TABLO 7

Operasyon						
Plazma P	Öncesi	1.Ay	2.Ay	3.Ay	Fr	P
İşlemsiz Grup	4,83±0,48	5,06±0,76	5,11±0,72	5,19±0,41	3,25	0,354
Kontrol Grubu 1	5,73±1,38	5,70±0,4	±	±	Z:0,35	0,735
Kontrol Grubu 2	5,56±0,54	5,86±0,65	5,69±1,11	±	1,85	0,486
Kontrol Grubu 3	4,83±0,44	5,11±0,5	5,28±0,47	5,41±0,12	4,68	0,196
Deney Grubu 1	5,76±1,24	5,89±1,07	±	±	1,99	0,077
Deney Grubu 2	5,48±0,35	5,74±0,39	5,81±0,39	±	3,65	0,160
Deney Grubu 3	5±0,64	5,26±0,63	5,37±0,54	5,52±0,72	3,16	0,367
KW	4,67	3,96	6,88	3,81		
p	0,575	0,797	0,493	0,712		

İşlemsiz grubun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:3,25 p=0,354).

Kontrol 1 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z:0,35 p=0,735).

Kontrol 2 grubunun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:1,85 p=0,486).

Kontrol 3 grubun operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:4,68 p=0,196).

Deney 1 grubunun Operasyon öncesi, 1.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: 1,99 p=0,077).

Deney 2 grubunun Operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:3,65 p=0,160).

Deney 3 grubunun Operasyon öncesi, 1.Ay, 2.Ay, 3.Ay plazmada P ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr:3,16 p=0,367).

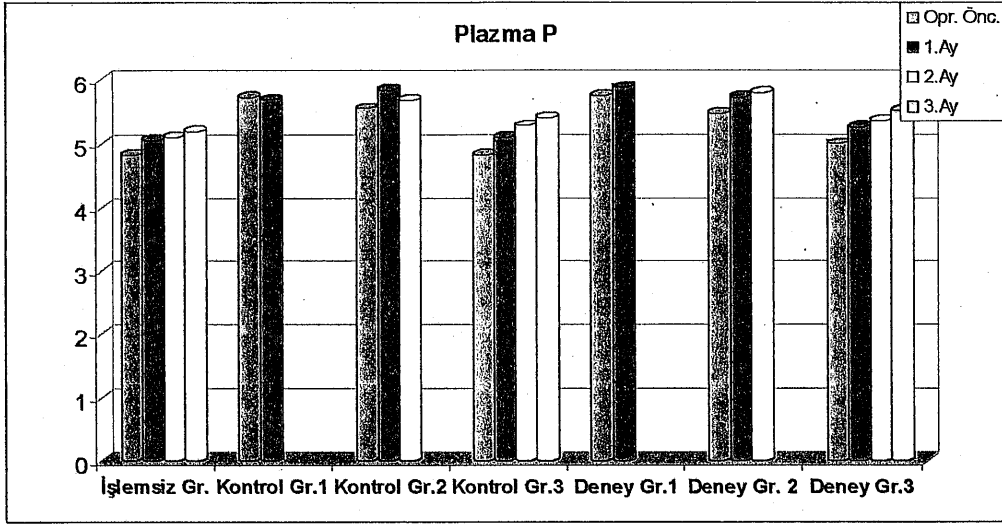
Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının plazmada P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:4,67 p=0,575).

1.Ay İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının plazmada P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:3,96 p=0,797).

2.Ay İşlemsiz, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 2, Deney 3 gruplarının plazmada P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:6,88 p=0,493).

3.Ay İşlemsiz, Kontrol 3, Deney 3 gruplarının plazmada P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:3,81 p=0,712) (Tablo 7) (Grafik 4).

GRAFİK 4



TABLO 8

Operasyon						
Plazma ALP	Öncesi	1.Ay	2.Ay	3.Ay	Fr	p
İşlemsiz Grup	417,5±39,1	454,3±26,46	465,5±44,7	457,8±54,53	6,60	0,08
Kontrol Grubu 1	411,4±38,07	417,9±78,78			Z:-0,87	0,386
Kontrol Grubu 2	575,5±69,32	592,1±72,84	640,2±144,69		5,60	0,06
Kontrol Grubu 3	488,57±95,29	461,71±39,6	460,71±32,08	480,43±35,77	2,31	0,509
Deney Grubu 1	570,14±38,92	619,57±74,46			Z:-2,03	0,043
Deney Grubu 2	505,29±61,75	593,71±83,1	701±214,07		14	0,0001
Deney Grubu 3	445,7±36,31	461,3±26,84	463±42,78	504,4±80,65	8,76	0,03
KW	35,50	35,55	18,35	1,97		
p	0,0001	0,0001	0,0011	0,371		

İşlemsiz grubun Operasyon öncesi, 1. Ay, 2. Ay, 3. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr: 6,60 $p=0,08$).

Kontrol 1 grubun Operasyon öncesi, 1. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Z: -0,87 $p=0,386$).

Kontrol 2 grubun Operasyon öncesi, 1. Ay, 2. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr: 5,60 $p=0,06$).

Kontrol 3 grubun Operasyon öncesi, 1. Ay, 2. Ay, 3. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (Fr: 2,31 $p=0,509$).

Deney 1 grubunun 1. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede artış göstermiştir (Z: -2,03 $p=0,043$).

Deney 2 grubunun Operasyon öncesi, 1. Ay, 2. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (Fr: 14 $p=0,0001$). 2. Ay plazma ALP değerleri, operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p<0,001$), diğer zamanlar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Deney 3 grubunun Operasyon öncesi, 1. Ay, 2. Ay, 3. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (Fr: 8,76 $p=0,03$). 3. Ay plazma ALP değerleri, operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p<0,05$), diğer zamanlar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının Plazma ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (KW: 35,5 $p=0,0001$). İşlemsiz grubunun plazma ALP ortalama değerleri Kontrol 2 ve Deney 1 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,001$, $p<0,05$), Deney 1 grubunun plazma ALP ortalama değerleri Deney 2 ve Deney 3 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$), deney 2 grubunun plazma ALP ortalama değerleri deney 3 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Deney 1 grubunun plazma ALP ortalama değerleri Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 8) (Grafik 5).

1.Ay İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının Plazma ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (KW:35,55 $p=0,0001$).

İşlemsiz grubunun plazma ALP ortalama değerleri Deney 1 ve kontrol 1 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$, $p<0,01$). Deney1 grubunun plazma ALP ortalama değerleri Deney 3 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,01$), deney 2 grubunun plazma ALP ortalama değerleri deney 3 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$), Deney 1 grubunun plazma ALP ortalama değerleri Kontrol 1 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,01$), Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 9)

2.Ay İşlemsiz, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 2, Deney 3 gruplarının Plazma ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir (KW:18,35 $p=0,0011$). İşlemsiz grubunun plazma ALP ortalama değerleri Deney 1 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$), Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

3.Ay İşlemsiz, Kontrol 3, Deney 3 gruplarının Plazma ALP ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:1,97 $p=0,371$) (Tablo 10)

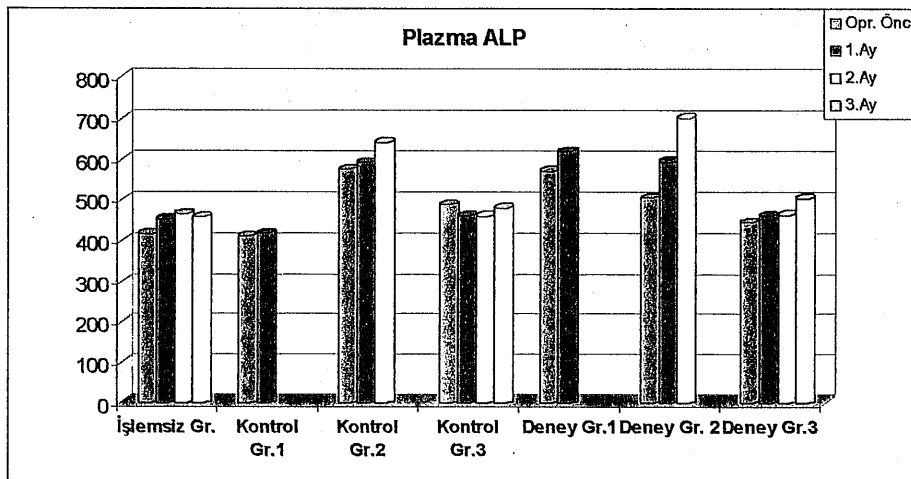
TABLO 9

Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi		
Plazma ALP	D2	D3
Op.Öncesi / 1.Ay	$P > 0.05$	$P > 0.05$
Op.Öncesi / 2.Ay	$P < 0.001$	$P > 0.05$
Op.Öncesi / 3.Ay	-	$P < 0.05$
1.Ay / 2.Ay	$P > 0.05$	$P > 0.05$
1.Ay / 3.Ay	-	$P > 0.05$
2.Ay / 3.Ay	-	$P > 0.05$

TABLO 10

Dunn's Çoklu			
Karşılaştırma Testi	Operasyon		2.Ay
Plazma ALP	Öncesi	1.Ay	
İşlemsiz / D1	P < 0.001	P < 0.05	-
İşlemsiz / D2	P > 0,05	P > 0.05	P < 0.05
İşlemsiz / D3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
İşlemsiz / K1	P > 0.05	P < 0.01	-
İşlemsiz / K2	P < 0.05	P > 0.05	P > 0.05
İşlemsiz / K3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
D1 / D2	P < 0.001	P > 0.05	-
D1 / D3	P < 0.05	P < 0.01	-
D2 / D3	P < 0.05	P < 0.05	P > 0.05
D1 / K1	P < 0.01	P < 0.01	-
D2 / K2	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
D3 / K3	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

GRAFİK 5



TABLO 11

Böbrek Doku	Ca	P
İşlemsiz Grup	102,93±32,59	30,3±21,59
Kontrol Grubu 1	95,76±21,92	46,4±16,08
Kontrol Grubu 2	94,36±18,08	52,9±14,47
Kontrol Grubu 3	91,51±8,83	44,8±15,32
Deney Grubu 1	87,52±13,89	46,86±23,55
Deney Grubu 2	80,56±23,56	50,14±20,24
Deney Grubu 3	111,74±100,28	35,86±19,39
KW	8,17	8,79
p	0,225	0,185

Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının Böbrek dokusunda Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:8,17 p=0,225) (Tablo 11) (Grafik 6).

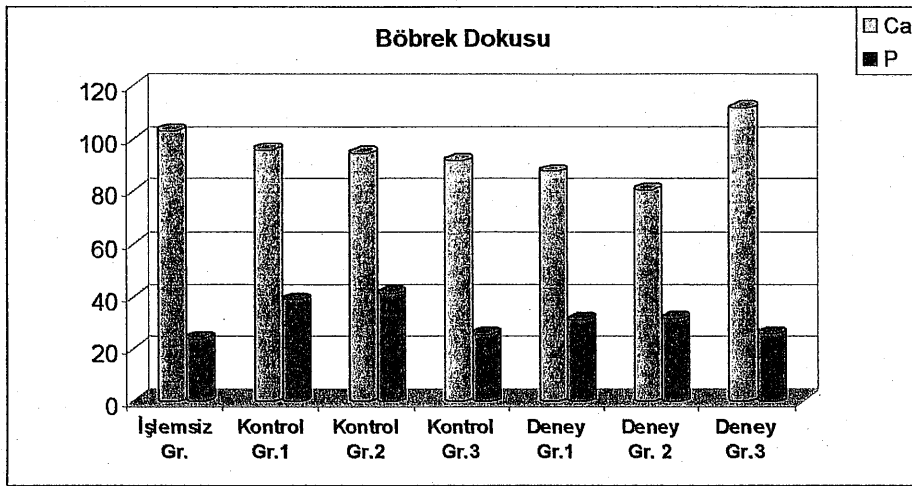
Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının Böbrek dokusunda P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:7,08 p=0,313) (Tablo 11) (Grafik 6).

TABLO 12

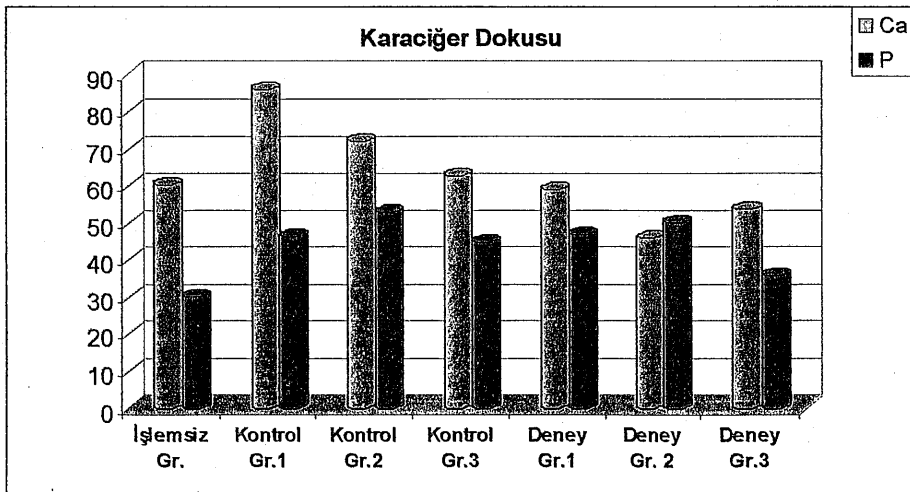
Karaciğer Doku	Ca	P
İşlemsiz Grup	60,35±18,88	23,9±19,76
Kontrol Grubu 1	86,1±21,34	38,71±20,3
Kontrol Grubu 2	72,24±16,33	41,14±21,03
Kontrol Grubu 3	62,84±18,07	25,71±15,94
Deney Grubu 1	59,02±11,87	30,9±16,59
Deney Grubu 2	45,95±8,48	31,6±12,79
Deney Grubu 3	53,73±23,88	25,8±12,87
KW	9,85	7,08
p	0,098	0,313

Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının Karaciğer dokusunda Ca ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:9,85 p=0,098). Operasyon öncesi İşlemsiz, Kontrol 1, Kontrol 2, Kontrol 3, Deney 1, Deney 2, Deney 3 gruplarının Karaciğer dokusunda P ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (KW:8,79 p=0,185) (Tablo 12) (Grafik 7).

GRAFİK 6



GRAFİK 7



5. TARTIŞMA

Kemik, sağlamlık ve katılığını organik bileşenlerinden esneklik, sürekli kemik yapımı ve tamir yeteneğini ise inorganik bileşenlerinden alan bir yapıdır (39). Sert doku defekt bölgelerinde uygulandıkları alanlarda uzun süre fiziksel yapılarını koruyan ve son yıllarda kemik greft materyali olarak önemi artan saf β -trikalsiyum fosfat esaslı greft malzemeleri klinikte yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Bu materyal özellikle maksillo-fasiyal preprostetik cerrahi, implant cerrahisi, travmatoloji ve el cerrahisinde kullanım alanları bulmuştur. Saf β -trikalsiyum fosfatın maksillo-fasiyal cerrahideki tedavi modelleri içerisinde büyük kistlerin doldurulması, sinus lifting, kemik ogmentasyonları ve periodontal lezyonlar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda β -trikalsiyum fosfatın tam olarak rezorbsiyonunun 12 ile 18 ay arasında olduğu gösterilmiştir ve bu süre içerisinde fonksiyonel ve anatomik olarak orijinal kemikle aynı özellikte olan kemikle yer değiştirdiği görölmüştür (111). Kemik greft uygulamalarında rezorpsiyon hız ve mekanizmasının anlaşılmaması büyük önem taşımaktadır. Uygulanacak olan malzeme yeni kemik yapımında osteoindüktif ve osteokondüktif etki gösterirken zaman içerisinde ortamdan tamamen uzaklaştırılarak yeni kemikle yer değiştirebilmelidir. Uygulanan belli başlı greft malzemelerinin incelendiği klinik ve deneysel çalışmalarda farklı miktarlarda yeni kemik yapımı gösterilmiştir. Greft malzemesinin ortamda 6-42 ay süreyle varlığının tespit edildiği çeşitli çalışmalar literatürde bulunmaktadır (112).

Kalsiyum fosfat (hidroksiapatit) esaslı yapılar, kemiğin doğal mineral bileşenlerinden olmalarına karşın kemik morfogenezinin baskılanması yönünde etki gösterir ve defekt bölgesinin doğal kemikle dolmasını geciktirirler (113). Uygulandıkları bölgede bir çatı görevi gören ve uzun dönemde ortamda yerlerini doğal kemik yapısına bırakması hedeflenerek üretilen ve geliştirilen TCP (trikalsiyum fosfat)'ler literatürde pek çok klinik ve deneysel çalışmada kullanılmışlardır.

Poröz küre tanecik yapısında olan saf evre β -trikalsiyum fosfat greft malzemelerden klinikte yaygın kullanımda olanları 500-1500 μ çapındadır.

Uzun dönem doku örneklerinin incelendiği pekçok klinik ve deneysel araştırmada kalsiyum fosfat yapısındaki greft malzemelerinin ortamda varlıklarını korudukları ve defekt bölgesinin doğal kemik ile dolmasının geciktiği bildirilmiştir.

Burger ve ark. β -TCP'nin kemik yapımı üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 1000-2000 μ çapında β -TCP malzemesini iki ayrı bireyde mandibulada kist enükleasyonu nedeniyle oluşan cerrahi defekte ve sinüs tabanı yükseltilmesi işleminde greft malzemesi olarak kullanmışlardır (k-129). Graft yerleştirilmesini izleyen 8 ve 9,5 ay sonraki dönemde operasyon sahalarına implant yerleştirilmiş ve implant yuvalarından elde edilen dokular incelenmiştir. 9,5 ay sonra mandibulaya ait incelenen kesitte %34 mineralize kemik dokusu ve %29 oranında artık β -TCP izlenmiştir. Sinüs tabanı yükseltilen alandan 8 ay sonra elde edilen biyopsi örneklerinde %20 mineralize kemik dokusu ve %44 artık β -TCP gözlemlenmiştir (114).

β -TCP uygulanan bölgelerde kemik yapımı mekanizması temelde osteokondüksiyon yoluyla olmaktadır. Bu olguda greft malzemesi içerisine komşu canlı kemikten osteojen karakterde hücreler gelerek yeni kemik yapımını gerçekleştirirler. Bu osteojen karakterinde hücreler osteoblastlara dönüşerek greft tanecikleri arasında kemik yapımını gerçekleştirirler. Aynı zamanda greft taneciklerinin geliştirilmeleriyle edilen boşluklu yapının içerisinde kemik ve kemik benzeri madde yapımı olmaktadır. Taneciklerin boşluk çapı, tanecik içerisine osteoblast veya öncül hücre göçüne izin verecek boyutlarda olacak şekilde tasarlanmıştır. Burger ve ark., çalışmalarında kullandıkları β -TCP greft malzemesinin yapısındaki boşlukların yukarıda bahsedilen mekanizmayla birlikte osteoid çökmesine olanak tanıyarak kemik yapımına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (114). Otojen kemik greftlerinin yeni kemik yapımı sonuçları üzerinde etkilerine ait yakın sayısal değerler içeren bir çalışma Groeneveld ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir (115). Sinüs tabanı yükseltilmesi işleminde greft malzemesi olarak otojen kemik grefti kullanılmış ve 6 ay sonra operasyon sahasından elde edilen dokuların incelemesinde %26 oranında kemik hacmi izlenmiştir. Kontrol gruplarında bu oranın %24 ile %61 arasında değiştiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir

(115). Burger ve arkadaşları, çalışmalarında sonuç olarak β -TCP esaslı greft malzemesinin uzun dönemde biyoemiliminin yan etkiye yol açmadan gerçekleştiğini ve bu malzemenin özellikle sinüs tabanı yükseltilmesi işlemlerinde kullanılabilecek bir greft malzemesi olduğunu bildirmişlerdir (39). Doğal kemiği oluşturan karbonat esaslı apatit yapının %35'i kalsiyum ve %15'i fosfordan oluşur. Bu nedenle β -TCP mineral bileşimleri açısından doğal kemiğe yakın benzerlik gösterirken, geleneksel TCP bileşimlerine belirgin üstünlükleri yapısında içerir. Canlı konak kemiğe komşu bölgelere uygulandığında, β -TCP içinde damardan zengin bir mikroortam oluşumunu sağlayacak bir çatı görevi görerek kemik yapımına katkıda bulunur (116). Bu olguda ortamda öncelikle osteoklastların gerçekleştirdiği rezorbsiyonu osteoblastların kemik yapımı izler.

Doku mühendisliğindeki çalışmalar izole edilen osteoindüktif özelliği olan protein yapıları mineral esaslı malzemeler ile birleştirilerek en uygun kemik dolgu maddesini üretme üzerine odaklanmıştır. Dong ve ark., kemik iliğinden elde ettikleri osteoprogenitör hücreler ile poröz yapılu β -TCP bloklarını birleştirmişler ve osteojenik olan ve olmayan kültür ortamlarına tabi tutmuşlardır (117). 2 hafta süreyle kültür ortamında bırakılan bileşimler daha sonra ratlarda cilt altı bölgelere uygulanmışlar ve 24 haftalık süreçte meydana gelen doku değişimlerini izlemişlerdir. Osteojenik kültür ortamında elde edilen kemik iliği osteoprogenitör hücre/ β -TCP bileşiminin uygulandığı bölgelerde damarlanmada artış ve ortamda olgun kemik gözlemişlerdir. Standart kültür ortamında hazırlanan kemik iliği hücresi/ β -TCP bileşiminin, uygulandığı bölgelerde yeni kemik oluşumuna olumlu bir katkısının olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında elde ettikleri bulgular sonucunda β -TCP'nin kemik yapımında osteokondüktif etkisinin olduğunu ve osteoindüktif etkisinin bulunmadığını açıklamışlardır. TCP yapı, organizmada hücrel veya sıvısal olarak yönlendirilen iki farklı yolla emilebilir. Erken kemik yapımının bileşke greftle uyarılması kristal boşlukların ve greft çevresinin sarılarak doku içerisinde sıvısal işlevə maruz kalmasını azaltacak ve emilim süreci uzayacaktır. Kurashina ve ark. TCP'nin içinde ve tanecikler arasında, yumuşak doku sınırında konumlandığında kemik doku komşuluğunda olduğuna oranla damarlanmanın daha iyi olması nedeniyle daha fazla rezorbe olduğunu kanıtlamışlardır (118).

TCP yapı, organizmada hücresel veya sıvısal olarak yönlendirilen iki farklı yolla emilebilir. Erken kemik yapımının bileşke greftle uyarılması kristal boşlukların ve greft çevresinin sarılarak doku içerisinde sıvısal işleve maruz kalmasını azaltacak ve emilim süreci uzayacaktır.

Kurashina ve ark. TCP'nin içinde ve tanecikler arasında, yumuşak doku sınırında konumlandığında kemik doku komşuluğunda olduğuna oranla damarlanmanın daha iyi olması nedeniyle daha fazla rezorbe olduğunu kanıtlamışlardır (118).

Günümüze kadar biyomateriyallerin biyouyumluluğu, sitotoksitesi, vücut ağırlığı, organ-vücut ağırlığı oranı ve böbrek, karaciğer gibi iç organların fonksiyonu üzerine olan etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan deney hayvanlarının vücut sıvılarında ki biyokimyasal değişiklikler de biyomateriyallerin içerdiği elementlere göre incelenmiştir. Bizde çalışmamızda klinikte yaygın olarak kullanılan ve ratların tibialarına yerleştirilen β -TCP esaslı greft materyalinin ratların bazı viseral organları ile plazma ve idrarlarında ki Ca ve P konsantrasyonu ve plazma alkalin fosfataz değeri üzerine olan etkilerini inceledik.

Bu çalışma modelinin tercih edilmesinde:

- Deney hayvanlarının yeterli sayıda temin edilebilme kolaylığı,
- Deneklerin tibiasında cerrahi çalışma yapabilmenin diğer bölgelere oranla göreceli olarak kolay olması,
- Bölgede çalışma ve inceleme zorluğu yaratacak anatomik yapıların (majör damarsal ve sinir yapıları) bulunmaması,
- Numune temininin kolay olması,

- Planlanan parametrelerin basit ve hassas bir şekilde değerlendirilebilir olması önemli rol oynamıştır.

D. R. Mattie ve arkadaşları yaptıkları çalışmada rat femurlarına yerleştirilen alüminyum, kalsiyum ve fosfor oksitlerinden (ALCAP) oluşan seramiklerin 1 aylık bir süre zarfında biyouyumluluğunu ve sistemik toksisitesini değerlendirmişlerdir.

Çalışmada ALCAP seramiklerinin vücut ağırlığı, organ-vücut ağırlığı oranı, kas, kemik, kan ve böbrek fonksiyonu üzerine olan etkileri incelenmiştir. 30 gün sonunda ALCAP seramik uygulanan gruplarda otojen greft uygulanan gruplara göre 24 saatlik idrar numunelerinde Al konsantrasyonu belirgin derecede yüksek bulunmuştur.(119). Aynı süre içerisinde idrarla atılan Ca ve inorganik fosfor konsantrasyonlarında ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmemiştir. Çalışmamızda da 1 ay sonunda 1 aylık deney ve kontrol grupları arasında idrarda Ca ve P konsantrasyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Yine Matti ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada operasyon öncesi ve 1 ay sonrasında deney grubundaki ratların plazmalarındaki alüminyum, kalsiyum ve inorganik fosfor değerleri ile kontrol grubundaki hayvanların alüminyum, kalsiyum ve inorganik fosfor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda da 1. ay sonunda deney grubundaki ratların plazma kalsiyum ve fosfor değerleriyle kontrol grubundaki ratların plazma kalsiyum fosfor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ayrıca 1 aylık deney grubundaki ratların 1. ay sonundaki plazma kalsiyum ve fosfor değerleriyle operasyon öncesi plazma kalsiyum ve fosfor değerleri arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Yapılan başka bir çalışmada ALCAP seramikleri uygulanan ratların 1., 4., 8, 12. haftalarda plazma ve idrarlarında ki alüminyum, kalsiyum ve inorganik fosfor seviyeleri incelenmiştir. Plazma alüminyum değerleri ve atılan yüksek miktardaki alüminyum rezorbe olan alüminyumun plazmayla böbrekler tarafından organizmadan uzaklaştırıldığını göstermiştir. Plazma kalsiyum ve inorganik fosfor değerleri ise fizyolojik sınırlar içerisinde kalmıştır. Bu çalışma sonucunda seramiklerden rezorbe olan kalsiyum ve fosfatın ekstrasellüler sıvının kalsiyum ve inorganik fosfor seviyesini etkileyemeyecek kadar az miktarda olduğu düşünülmüştür (120). Bu sonuçlara benzer

olarak çalışmamızda 1, 2 ve 3 aylık deney gruplarıyla kontrol grupları arasında karşılaştırma yapılan hiç bir dönemde plazma ve idrardaki kalsiyum ve fosfor seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ayrıca 1 aylık, 2 aylık ve 3 aylık deney gruplarıyla hiç işlem uygulanmamış grup arasında 1. , 2., ve 3. aylarda plazma ve idrar kalsiyum ve fosfor seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Serumdaki Alkalın fosfataz, kemik oluşumunu gösteren sistemik bir indikatördür. Alkalın fosfataz çözülebilen ve çözilemeyen formlarda osteoblastlardan salgılanır.(121) Yeni kemiğin oluşumunda ve kalsifikasyonunda rol oynar (119). Alkalen fosfatazın endokondral kalsifikasyon esnasındaki asıl görevi tam olarak açıklanamamakla birlikte alkalen fosfatazın buradaki rolü üzerine çeşitli teoriler vardır. Birçok yazar ALP'nin fosfat esterlerinin hidrolizinden sorumlu olduğunu ve böylece fosfat iyonlarının konsantrasyonunu artırarak organik matrise kalsiyum fosfat deposizyonu sağladığını belirtmişlerdir (122).

Tatsuhumi ve ark.ları yaptıkları çalışmada kırık iyileşmesi sırasındaki kemik oluşumunun serum markerlerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada kırık oluşumundan sonra serumda ki ALP düzeylerinde birkaç vaka hariç hemen hemen tüm vakalarda artış görmüşlerdir. Ayrıca bu çalışmada serumda ki osteokalsin ve ALP düzeyinin kırıktan sonraki birkaç ayda normalin üstünde seyrettiği görülmüştür. Yazarlar bunun kemik iyileşmesi esnasında süregelen osteoblastik aktiviteye bağlı olduğunu belirtmişlerdir(123).

Matti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ALCAP seramikleri uygulanan ratlarda alkalen fosfataz aktivitesi otogreft uygulanan ratlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu da ALCAP seramik uygulanan ratlarda yeni kemik oluşumu ve mineralizasyonun daha yüksek oranda olduğunu göstermiştir. Bajpai ve arkadaşları fosfor pentoksit içeren kalsiyum alüminat seramiklerinde yüksek alkalen fosfataz aktivitesinin erkek ratlarda 120 gün boyunca sürdüğünü bildirmişlerdir (119). Bizim çalışmamızdada deney 1 grubunun 1.Ay Plazmada

ALP ortalama değerleri operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede artış göstermiştir (Z:-2,03 **p=0,043**). Ayrıca deney 2 grubunun Operasyon öncesi, 1.ay ve 2.ay plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (Fr:14 **p=0,0001**). 2.Ay plazma ALP

değerleri, operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p<0,001$), diğer zamanlar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Deney 3 grubunun Operasyon öncesi, 1. Ay, 2. Ay, 3. Ay Plazmada ALP ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir (Fr: 8,76 $p=0,03$). 3. Ay plazma ALP değerleri, operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p<0,05$), diğer zamanlar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Bazı durumlarda normal kırık iyileşme süreci bile serum ALP seviyesini arttırabilirken kontrol gruplarımızda gerek kendi içlerindeki dönemlerde gerekse işlem görmemiş gruba göre ALP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Kalsiyum fosfat gibi kalsiyum tuzlarının vücutta depo edilmesi genelde iskelette gerçekleşir. Bu durum alışıl gelmiş şeklinin dışında yumuşak dokuda oluştuğunda heterotopik kalsifikasyon adını alır. Bu yumuşak doku mineralizasyonu bir çok ilgisiz hastalığın ve dejeneratif prosesin eşliğinde gerçekleşebilir. Ca tuzları radyopak olduğundan bu kalsifikasyonlar röntgende radyopak görüntü verir. Organize iyi oluşmuş kemik şeklinde minerallerin yumuşak dokuda depo edilmesi heterotopik ossifikasyon olarak bilinir. Heterotopik terimi kemiğin anormal (iskelet dışı) lokalizasyon ile oluştuğunu gösterir. Heterotopik kemik tamamen kompakt veya kısmen trabeküler ya da yağdan oluşan iliğe sahip olabilir (124).

Heterotopik kalsifikasyon 3 bölümde incelenebilir.

- Distrofik kalsifikasyon
- İdiopatik kalsifikasyon
- Metastatik kalsifikasyon

DİSTROFİK KALSİFİKASYON

Distrofik kalsifikasyon normal serum kalsiyum ve fosfat seviyelerine rağmen dejenere, hastalıklı ve ölü dokularda görülen kalsifikasyon şeklidir. Yumuşak doku künt travma, enfeksiyon, injeksiyon, parazitlerin varlığı, hastalıklara bağlı değişiklikler ve diğer faktörler sebebiyle zarar görebilir. Kalsifikasyon genelde bu yaralanma sahası ile lokalizedir. Uzun süre kronik olarak enfekte olan kistler distrofik kalsifikasyonun en sık görüldüğü yerdir. Distrofik kalsifikasyon da alttaki yumuşak dokuda ülserasyon ya da genişleme oluşabilir, bazen kalsiyum tuzları sert kitle şeklinde palpe edilebilir ya da hiç bir belirti göstermeyebilir (124).

İDİOPATİK KALSİFİKASYON

İdiopatik kalsifikasyon normal serum kalsiyum seviyelerine rağmen normal dokuda kalsiyum depolanması ile oluşur. Kondrokalsinozis ve flebolit idiyopatik kalsifikasyona birer örnektir. İdiopatik kalsifikasyonun en sık görülme şekli tükürük taşlarıdır. Tükürük taşları tükürük akış hızının yavaşlaması ve bez salgısının fizyokimyasal özellikleri bir odağın oluşmasına ve bu odak üzerine kalsiyum ve fosfat tuzlarının çökmesi ile bez kanalında bazen de bezin içinde görülür. Çoğunlukla orta yaş ve üstü erkeklerde submandibular bezde görülür. % 70-80 oranında tekdir. Hastalar bazen asemptomatik iken bazende ağrı ve ağız tabanında ilgili bez bölgesinde şiş şikayetlerinde bulunur. Bu şikayetler akış hızı arttığından özellikle yemek yeme esnasında görülür. Taşın tükürük akışını kesme oranında şikayetlerin derecesi değişir. Hastaların %10'unda da böbrek taşı ile beraber görülürken % 9'unda residiv görülür (124)

METASTATİK KALSİFİKASYON

Metastatik kalsifikasyon normalden yüksek seviyede kalsiyum ve fosfat seviyesi ile minerallerin normal dokulara çökmesi ile görülür. (örn: hiperparatiroidizm, hiperkalsemi, kronik böbrek yetmezliği) Metastatik kalsifikasyon genelde bilateral ve simetrik görülür.

Hiperparatiroidizm veya hiperkalseminin sonucu serum kalsiyum ve fosfat seviyelerinin yüksek olması ile oral bölgede metastatik yumuşak doku kalsifikasyonları görülür. Seyrek olarak da renal osteodistrofide görülen yüksek fosfat seviyesi de hazırlayıcı bir faktördür. Yayılmış osteolitik metastatik karsinom ve multiple myelom sonucu da metastatik kalsifikasyona rastlanabilir (124).

Kasaboğlu ve arkadaşları 15 adet erkek Wistar-albino sıçanı üzerinde yaptıkları bir çalışmada kalsiyum karbonat yapısında olan Biosfer® piyasa isimli eriyebilen greft materyalinin karaciğer, böbrek, dalak, beyin gibi dolaşımın zengin olduğu organlarda herhangi bir doku dejenerasyonuna veya distrofik ossifikasyona sebep olup olmadığını araştırmışlardır. 15 adet sıçanın sırtlarında insizyon yapılarak subkutan dokuya 4mm çapındaki bir adet Biosfer® granülü yerleştirmişlerdir. Sıçanlar 30. 60 ve 90. günlerde sakrifiye edilmek üzere beş'er hayvandan oluşan 3 gruba ayrılmışlardır. Sakrifikasyondan sonra hayvanların bahsedilen organları çıkartılmış ve histopatolojik inceleme sonucu karaciğer, böbrek ve beyinde normal morfolojik özellikler izlenmiştir, herhangi bir kalsifikasyon odağına rastlanmamıştır. Tüm vakalarda dalakta hiperemi görülmüştür. Elde edilen histopatolojik bulgular sonrası kalsiyum karbonat esaslı bu greft materyalinin doku dostu olduğu ve vücutta birikim yapmadığı farklı bir yönden incelenmiştir (125).

Wu H. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 10 erkek ve 10 dişi Wistar-albino sıçanın femurlarına 15.3 mg manyetik poröz beta trikalsiyum fosfat yerleştirip greft maddesinin biyouyumluluğunu ve sistemik toksisitesini araştırmışlardır. Elde edilen bulgularda MPTCP'nin vücut ağırlığı, organ/vücut ağırlığı oranı, kan, böbrek ve karaciğer fonksiyonları üzerine herhangi bir zararlı etkisinin bulunmadığını görmüşlerdir. MPTCP uygulanan ratların plasmadaki inorganik fosfor seviyesinde kontrol gruplarına göre artış görülmüştür. Serum ALP değerlerinde de kontrol grubuna göre herhangi bir artış görülmemiştir (12).

Carvalho BA. ve arkadaşları iyon salınımı yapan seramiklerin toksik olabileceğini düşünmüşler ve sıçanlara kalsiyum alüminat seramikleri implante etmişlerdir. 300 günlük bir süre içinde 0.172 g, 0.302 g, ve 0.504 g, greft maddesi uygulanan sıçanların kalp karaciğer, böbrek, tiroit gibi organlarında makroskopik ve mikroskopik incelemeler yapılmış herhangi bir patolojik değişime rastlanmamıştır. Serum kalsiyum ve inorganik fosfor değerlerinde kontrol gruplarına göre artış

görülmemiştir. Serum ALP değerlerinde ise 0.332 g greft kullanılan grupta kontrol gruplarına göre artış tespit edilmiştir.

D.R. Matti ve arkadaşları yaptıkları çalışmada rat femurlarına alüminyum, kalsiyum, fosfor oksitlerinden oluşan bir biyomateryal yerleştirmişlerdir. Operasyondan sonra ki 30. günde ratların vücut ağırlıkları ölçülüp sakrifiye edilmişlerdir. Ratların adrenal bezleri, böbrekleri ve karaciğerleri çıkartılmıştır. Elde edilen bulgulara göre deney grubundaki ratların vücut ağırlıkları, organ ağırlıkları ve organ/vücut ağırlığı oranı kontrol grubundaki ratlarla anlamlı bir farklılık göstermemiştir (119). Biz de çalışmamızda işlemsiz grubun karaciğer ve böbreklerini 3. ay sonunda , 1. deney ve 1. kontrol grubunun karaciğer ve böbreklerini 1. ay sonunda 2. deney ve 2. kontrol grubunun karaciğer ve böbreklerini 2. ay sonunda, 3. deney ve 3. kontrol grubunun karaciğer ve böbreklerini 3. ay sonunda sakrifikasyon esnasında çıkarttık ve organların yaklaşık 1 g'lık kesitlerinde ki kalsiyum ve fosfor değerlerini saptadık. Elde edilen bulgularda gerek aynı aylık deney ve kontrol gruplarında gerekse deney ve kontrol gruplarıyla işlemsiz grup arasında herhangi bir anlamlı farklılığa rastlamadık.

Kalsiyum vücut ağırlığının % 1-2' sini oluşturan kemiğin, dişlerin yumuşak dokuların yapısında bulunan ve metabolik işlevlerde önemli rolü olan bir elementtir. Biyolojik öneminden dolayı kalsiyum vücutta birçok mekanizma tarafından sıkı şekilde kontrol edilir. Bunlardan en önemlileri paratiroid hormon, vitamin D ve kalsitonindir. PTH kandaki düşük kalsiyum seviyesine cevap olarak boyundaki paratiroid bezlerden salgılanır. PTH'ın başlıca 3 işlevi,

- 1-Gastrointestinal sistem vasıtasıyla yiyeceklerden kalsiyum emilimini arttırmak,
- 2-Kemiğin kana kalsiyum serbestlemesini sağlamak,
- 3-Böbreklerden fosfor atılımını arttırarak indirek olarak kalsiyum seviyesini arttırmaktır.

Kalsiyum toksisitesi sık rastlanılan bir durum değildir. Bunun sebebi gastrointestinal sistemin emilen kalsiyum miktarını sınırlamasıdır. Bu yüzden kısa dönemde yüksek doz kalsiyum alımı böbrek taşı oluşumu riskini arttırmak dışında

genellikle herhangi bir yan etki göstermez. Kalsiyum toksisitesi genellikle uzun süre boyunca yüksek miktarlarda kalsiyum alan kişilerde veya kalsiyumla birlikte yüksek dozlarda vitamin D kullanan kişilerde görülür. Yüksek dozda intravenöz kalsiyum uygulamasıda toksisiteye sebep olabilmektedir.

Toksisite sonucu dokularda aşırı miktarda kalsiyum depolanması ve yüksek seviyede kan kalsiyum değerleri görülür (hiperkalsemi). Fakat hiperkalsemi genellikle PTH'nin yüksek olmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Bunun sonucunda da kemik yoğunlunda azalma, böbrek taşları ve şiddetli batın ağrıları görülür (126).

Fosfor da vücudun her hücresinin normal fonksiyonlarını yerine getirmesi için hayati önem taşıyan bir elementtir (127). Vücutta başlıca fosfat iyonu halinde bulunur. Fosforun % 85 i kemiklerde depolanmaktadır Emilimi ince bağırsaklardan yapılır ve atılımı böbrek tarafından sağlanır. Kanda ki fosfor seviyesinin düzenlenmesinde de PTH ve vitamin D rol oynar. Kan kalsiyum seviyesinde ki az miktarda bir düşüş PTH salınımının artmasına, PTH'nin vitamin D'nin aktif formu olan kalsitriole dönüşümünü stimüle etmesine ve yükselen kalsitriol seviyesi sonucu ince bağırsaklardan kalsiyum ve fosfor emiliminin artmasına yol açar. PTH ve vitamin D kemik rezorbsiyonunu arttırarak kana kalsiyum ve fosfat serbestlenmesine sebep olurlar. PTH idrarla atılan kalsiyum seviyesini düşürmesine rağmen atılan fosfor seviyesini arttırır. İdrarla atılan fosforun artmasının kan kalsiyumunun normal seviyeye gelmesinde önemli rolü vardır çünkü kanda yüksek seviyede ki fosfat vitamin D'nin böbreklerde aktif hali olan kalsitriole dönüşümünü baskılamaktadır. Vücutta fosfor metabolizması kalsiyumda olduğu kadar sıkı kontrol altında değildir. Yüksek fosfor içeren besinlerden sonra kandaki fosfor seviyesinde hafif artışlar görülebilmektedir. Kandaki yüksek fosfat seviyeleri böbreklerde kalsitriol oluşumunun azalmasına, kan kalsiyum seviyesinin düşmesine ve PTH salınımının artmasına ve idrarla atılan kalsiyum miktarının azalmasına yol açar (128). Kandaki yüksek fosfor seviyesi yani hiperfosfataminin en önemli zararlı etkisi iskelet dışı olan dokularda özellikle böbreklerdeki kalsifikasyonlardır. Bu tip kalsiyum fosfat birikimleri organ hasarına özellikle de böbrek fonksiyon bozukluklarına yol açabilmektedir (127).

Sonuç:

Deneysel olarak oluşturulan kemik defektlerinde uyguladığımız saf faz beta trikalsiyum fosfat esaslı greft materyalinin ratların plazma, idrar, karaciğer, böbrek ve tibialarında ki kısa ve orta dönem etkilerini histopatolojik ve istatistiksel olarak değerlendirdiğimiz çalışmamızın sonuçlarını kısaca özetleyecek olursak;

Tüm kontrol gruplarındaki ratların tibialarına açılan defektlerin normal iyileşme sürecine uygun şekilde iyileştiğini gördük.

1. deney grubundaki ratların %90'ında defekt bölgelerinde ki greft materyalinin ortamda %60' dan fazla oranda bulunduğunu gözlemledik. Geri kalanlarda ise ortamda %30-%60 arası bulunduğunu gözlemledik

2. deney grubundaki ratların %80'inde defekt bölgelerinde ki greft materyalinin ortamda %60' dan fazla oranda geri kalanlarda ise ortamda %30-%60 arası bulunduğunu gözlemledik.

3. deney grubundaki ratların %70' inde defekt bölgelerinde ki greft materyalinin ortamda %60'dan fazla oranda, geri kalanlarda ise ortamda %30-%60 arası bulunduğunu gözlemledik.

Plazma kalsiyum değerlerinde kontrol gruplarıyla deney grupları arasında, kontrol ve deney gruplarının kendi içlerindeki aylık peryotlarında ve kontrol ve deney gruplarıyla işlem uygulanmayan grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır. Plazma fosfor değerlerinde kontrol gruplarıyla deney grupları arasında, kontrol ve deney gruplarının kendi içlerindeki aylık peryotlarında ve kontrol ve deney gruplarıyla işlem uygulanmayan grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

Plazma alkalin fosfataz değerlerine bakacak olursak deney 1 grubunun 1.ay plazmada ALP ortalama değerleri operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede artış göstermiştir. (Z:-2,03 p=0,043)

Deney 2 grubunda 2.ay plazma ALP değerleri ,operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (p<0,001)

Deney 3 grubunda 3.ay plazma ALP değerleri ,operasyon öncesi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p<0,05$)

İdrarda ki kalsiyum değerlerinde kontrol gruplarıyla deney grupları arasında, kontrol ve deney gruplarının kendi içlerindeki aylık peryotlarında ve kontrol ve deney gruplarıyla işlem uygulanmayan grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

İdrarda ki fosfor değerlerinde kontrol gruplarıyla deney grupları arasında, kontrol ve deney gruplarının kendi içlerindeki aylık peryotlarında ve kontrol ve deney gruplarıyla işlem uygulanmayan grup arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

Böbrek ve karaciğer dokularından elde ettiğimiz verileri değerlendirdiğimizde aynı aylık deney ve kontrol gruplarında ve deney ve kontrol gruplarıyla işlemsiz grup arasında herhangi bir anlamlı farklılığa rastlamadık. Sonuç olarak ratlarda uygulanan 0.4 mg saf beta trikalsiyum fosfat greft materyalinin organizmada herhangi bir toksisiteye veya kalsiyum ve fosfor birikimine sebep olmadığı ve uygulanan greft materyallerinin miktarının resorbsiyon sürecinin de yavaş olduğunu göz önüne alırsak vücuttaki kalsiyum-fosfor metabolizmasını düzenleyen sistemler tarafından kolayca tolere edilebildiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Archer WH. Oral and Maxillofacial Surgery. W.B. Saunders Publishing, Philadelphia, 1975; 1427-1453
2. Lindqvist C. Mandibular reconstruction with free bone grafts. Cuff Opin Dent 1992; 2 :25-37.
3. Stellingsma C, Vissink A, Meijer HJ, Kuiper C, Raghoobar GM. Implantology and the severely resorbed edentulous mandible. Crit Rev Oral Biol Med 2004; 15 :240-248.
4. Carlsson GE. Responses of jawbone to pressure. Gerodontology 2004; 21:65-70.
5. Carranza FA. Bone Loss and Patterns of Bone Destruction. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA (eds). Carranza's Clinical Periodontology. 9.ed. W.B. Saunders Publishing, Philadelphia, 2002; 354-358.
6. Martinez, S.A., Walker, T., Bone grafts. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1999; 29: 1207
7. Çağlar, Ö., Darbeli görüntüleme tarzındaki elektromagnetik alanın taze kırıklarda kırık iyileşmesi üzerine etkileri (Deneysel Araştırma) Uzmanlık Tezi İstanbul: 1991
8. The Orthoteers Orthopedic Education Resource, 10 January 2001. Bone & fracture mechanics, Bone-structure & function. Available at : <http://www.orthoteers.co.uk> Giriş tarihi 24 Şubat 2004.
9. Nather A, Thambyah A, Goh JCH. Biomechanical strength of deep-frozen versus lyophilized large cortical allografts. Clin Biomech; 19: 5 2004, 526-533.
10. Gustav.O.Kruger, Second Edition, Textbook of Oral Surgery, The C.V Mosby Company, Saint Louis ,1961, 481-499
11. Ikeuchi, M., Dohi, Y., Horiuchi, K., Ohgushi, H., Noshi, T., Yoshikawa, T., Yamamoto, K., Sugimura, M., Recombinant human bone morphogenetic protein-2 promotes osteogenesis within atelopeptide type I collagen solution by combination with rat cultured marrow cells. Biomed Mater Res 60: 61-69, 2002
12. Wu H., Zhu T.B , Du J.Y , Hong G.X., Sun SZ, Xu X.H. J Tongji Med Univ. 1992;12(2):111-5

13. Carvalho B.A, Bajpai P.K, Graves G.A. Effect of resorbable calcium aluminate ceramics on regulation of calcium and phosphorus in rats *Biomedicine* 1976 Jun;25(4):130-3.
14. Sikavitsas VI. Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials* 2001; 22 :2581-2593.
15. Duthie RB. Bone and Joint Tissues. In : Kyle J, Karey LC (eds). *Scientific Foundations of Surgery* 4.ed. Heinemann Medical Books, Londra, 1989: 150 -166.
16. Junguera L.C, Carneiro J.,Kelly R.O., Temel Histoloji 8. Baskı İstanbul : Barış Kitabevi Ltd. Şti. 1998; 132-151.
17. Jee WSS. Integrated bone tissue physiology: Anatomy and physiology. Cowin SC editörlüğünde, *Bone Mechanics*, CRC press Boca Raton. 2001
18. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am* 1991; 35 :469-477
19. Soydan N. Genel Histoloji. İ.Ü. Basimevi ve Film Merkezi, İstanbul, 1985: 100-119
20. Jee WSS. Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook*. 2. ed. CRC Press, Florida, 2001; 1- 68.
21. Gorski JP. Is all bone the same. Distinctive distributions and properties of non collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9:201-223
22. Jee, W S S, The skeletal tissues in *Cell and Tissue Biology*, A textbook of Histology, Weiss L., Ed. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, 1988
23. Erimoglu C. İnsan Anatomisi. İÜ. Basimevi ve Film Merkezi .İstanbul, 1990; 6-7.
24. Hollinshead HW, Rosse C. *Textbook of Anatomy*. 4.ed. Harper & Row Publishing, Philadelphia, 1985 :24-30.
25. Young B, Heath JW. *Wheather's Functional Histology* 4.ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000 :142-151.
26. Meade JB, Cowin SC, Kiawitter JJ, Van Buskirk WC, Skinner HB. Bone remodeling due to continuously applied loads. *Calcif. Tissue int* 1984; 36, 25-30.
27. Hussar P. Piirsoo A, Martson A, Toom A, Haviko T, Hussar U. Bone healing models in rat tibia'~ifter different injuries. *Ann Chir Gynaecol* 2001; 90 :271-279.
28. Revell PA. *Pathology of Bone*. Great Britain : Springer - Verlag. Berlin Heidelberg : 1986; 1-30, 203-231

29. Ballı B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi. İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul; 2004.
30. Bölükbaşı N. Alveol kemiği implant ilişkisi. İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Oral Implantoloji Anabilim Dalı. Seminer çalışması. 2004.
31. Martin, R.B. and Burr, D.B., mechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation Of Compact Bone, Raven Press, New York, 1989, chaps.2,4,7 and 8
32. The Orthoteers Orthopedic Education Resource, 10 January 2001. Bone & fracture mechanics, Bone-structure & function. Available at : <http://www.orthoteers.co.uk>
Giriş tarihi 24 Şubat 2004.
33. Turek SL. Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları. Florida - Miami : Mount Sina Tıp Merkezi ve Miami Kardiyoloji Enstitüsü. 1980; 32-151.
34. Gehron-Robey, P. and Boskey, A.L., The biochemistry of bone, in Osteoporosis, Marcus, E., Feldman, D., and Kelsey, J., Eds., Academic Pres, San Diego, 1996, chap.4.
35. Rodan ,G.A. and Rodan S.B., The cells of bone, in Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management, 2nd ed., Riggs, B.L. and Melton III, L.I. Eds., Lippincott-Raven ,Philadelphia, 1995. chap.1
36. Racifici, R., Aging and cytokine production, Calcif Tissue mt., 65, 345, 1999
37. Lian, J.B., and Stein, G.S., Osteoblast biology, in Osteoporosis, Marcus, R., Feldman, D., and Kelsey , I., Eds., Academic Pres, San Diego, 1996, chap.2
38. Marie ,P.J., Cellular and molecular alterations of osteoblasts in human disorders of bone formation. Histol. Histopathol, 1999; 14, 525.
39. Dedeoğlu R.K., DBM (Demineralize kemik matriksi) ve β -trikalsiyum fosfat'ın deneysel kemik defektlerinde ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarında iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi . İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul 2004.
40. Puzas F.J., and Lewis, G.D., Biology of osteoclasts and osteoblasts, in Orthopaedics. Principles of Basic and Clinical Science, Bronner, F., and Worrell, R.V., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap.3.
41. Baron R., Anatomy and ultrastructure of bone, in Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism, 4.ed., Favus, M.I., Ed., Lippincottwilliams&Wilkins, 1999, chap.1

42. Themistocleous GS, Katopodis H, Sourla A, Lembessis P, Doillon CJ, Soucacos PN, Koutsilieris M. Three-dimensional type I collagen cell culture systems for the study of bone pathophysiology. *In Vivo* 2004; 18 :687-696.
43. Miller SC, Bowman BM, Smith JM, Jee WS. Characterization of endosteal bone-lining cells from fatty marrow bone sites in adult beagles. *AnatRec* 1980; 198 :163-173.
44. Schenk RK. Bone Regeneration: Biological Basis. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK (eds) *Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*. Quintessence publishing, Hong Kong, 1994 :49 — 100
45. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat Rec* 1990; 226 :414-22.
46. Dempster D.W., Cosman, F., Parisien, M., Shen, V., and Lindsay, R., Anabolic actions of parathyroid hormone on bone, *Endocr. Rev.*, 14, 690-708, 1993
47. Takashi, N., Yamana, H., Yoshiki, S., Goodman, GD., Mundy, G.R., Jones, S.J., Boyde, A., and Suda, T., Osteoclast-like cell formation and its regulation by osteotropic hormones in mouse bone marrow cultures, *Endocrinology*, 122, 1373-1382, 1988
48. Isogai Y., Akatsu, T., Ishizuya, T., Yamaguchi, A., Hon, M., Takahashi, N., and Suda, T., Parathyroid hormone regulates osteoblast differentiation positively or negatively depending on the differentiation stages, *J Bone Miner. Res.*, 11, 1384-1393, 1996
49. Lukert B.P. and Kream, B.E., Clinical and basic aspects of glucocorticoids on bone, in *Principles of Bone Biology*, Bilezikian, J.P., Raisz, L.G., and Rodan, G.A., Eds., Academic Press, San Diego, 1996, chap.38.
50. Boden, S.D., Hair, G., Titus, L., Racine, M., McKaig, K., Wozney, J.M., and Nanes, M.S., Glucocorticoids-induced differentiation of fetal rat calvarial osteoblasts is mediated by bone morphogenetic protein-6, *Endocrinology*, 138, 2820-2828, 1997
51. Kream B.E., Petersen, D.N., and Raisz, L.G., Cortisol enhances the anabolic effect of insulin-like growth factor I on collagen synthesis and procollagen messenger ribonucleic acid levels in cultured 21 day fetal rat calvariae, *Endocrinology* 126, 1576-1583, 1990.

52. Rodan S.B., Fischer, M.K., Egan, J.J., Epstein, P.M., and Rodan, G.A., The effect of dexamethasone on parathyroid hormone stimulation of adenylate cyclase in ROS 17/2.8 cells, *Endocrinology* 115, 951-958, 1984
53. Palumbo C., Palazzini, S., and Marrotti, G., Morphological study of intercellular junctions during osteocyte differentiation, *Bone*, 11, 401-406, 1990.
54. Horowitz M.C., Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects, *Science*, 260, 626-627, 1993.
55. Yang N.N., Byrant, H.U., Hardikar, S., Sato, M., Galvin, R.J.S., Glasebrook, A.1., and Termine, J.D., Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor -3 gene expression in rat bone: a potential mechanism for estrogen- or raloxifene- mediated bone maintenance, *Endocrinology* 137, 2075-2084, 1996
56. Oral O. L-Dopa'nın (Allajenik greft uygulanan ve uygulanmayan) kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel araştırılması - Doktora tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul : 2000; 4-22.
57. Elima K. Osteoinductive proteins. *Ann Med* 25:395-402, 1993
58. Hoffman A, Weich H.A., Gross G, et al: Perspectives in the biological function, the technical and therapeutic application of bone morphogenetic proteins. *Appl Microbiol Biotechnol* 57: 294-308, 2001
59. Ducy P., Karsenty G. The family of bone morphogenetic proteins. *Kidney Int.* 57: 2207-2214.
60. Wozney JM: The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *Eur J Oral Sci* 106 (Suppl 1):160-166, 1998.
61. Kılıçoğlu SS. Mikroskopik Düzeyde Kırık İyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002; 2 :143-150.
62. Brond AR, Rubin TC. Fracture Healing. In: *Surgery of the Musculoskeletal System* 2.ed. Churchill Livingstone, New York, 1990; 93-114.
63. Aykın Bali, T.: Lokomotor sistem patolojisi (teksir)
64. Kabisch WT, De Bruyn PP, Pabuwal SN. Quantitative characteristics of phagocytic organs. *Anat Rec.* 1968 Jun;161(2):197-210.
65. Güven Y.; Kıkırdak, Kemik ve Diş Biyokimyası. İ.Ü. Dişhekim. Fak. Biyokimya Bilim Dalı Ders notları, Mart 1988

66. Parfitt, A. M., The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data, in Bone Histomorphometry: Techniques and Interpretation, Recker, R. R., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 1983, 143.
67. Frost H.M.: The biology of fracture healing on over viewfor clinicians part I. Clin Orthop Rel Res. 1989;248:283-293
68. Arthur W. Ham , M.D., David H. Cormack, Ph.D.: Histophysiology of Cartilage Bone and joints J.B. Lippincott Company, Philadelphia and Toronto , 1979.
69. Weber B.G., Cech O.: Pseudoarthrosen, Verlag Hans Huber, Bern, 1973
70. Rockwood and Green: Fractures: 97-105, Lippincot Company, Philadelphia, Toronto; copyright, 1975
71. Sandy C. Marks, J.R. and Steven N. Popoff: Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. The American Journal Of Anatomy. 1988;183:1-44
72. Waisman B.N.W., Sledge C.B.: Orthopaedic radiology: W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1986
73. Bassett, C.A.L,: Biomedizinische und biophysikalische Wirkung pulsierender elektromagnetischer Felder (PEMF). Orthopade, 1984;13:64-77
74. Grumbach, M.M.: Growth hormone therapy and the short end of the stick. N. Engl J Med. 1988;319:238-240
75. Robert B., Duty and George Bently: Mercer's Orthopaedic Surgery. London, 1983; 8th ed. :p27-65
76. Gross D., Williams W.S.: Streaming potential and electromechanical response of physiologically-moist bone. J Biomech. 1982;15:277-295
77. Scott J.H.: The mechanical basis of bone formation. J Bone Joint Surg. 1957;39-B:134
78. Ericksen, E. F., Axelrod, D. W., and Melsen, F., Bone Histomorphology, Raven Press, New York, 1994.
79. Lanyon, L. E., Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling, Calcif. Tissue Int., 53(Suppl), 102, 1993
80. Mundy, F. R., Bone remodeling, in Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, 4th ed., Favus, M. J., Ed., Lippincott/Williams & Wilkins, 1999, chap. 4.
81. Akal Ü.K., Cambazoğlu M.: Kistektomi, kronik enfeksiyon bölgelerinin küretajı ve apikal rezeksiyon operasyonları sonucunda oluşan kemik defektlerinde solventlerle

- dehidrate edilmiş spongioz kemik çipslerinin kullanılması. A.Ü.Diş Hek. Fak. Derg. 1995;22(2):103-108
82. Sàndor GKB,. Lindholm TC, Clokie CML. Bone regeneration of the craniomaxillofacial and dento-alveolar skeletons in the framework of tissue engineering. In: Ashammakhi N, Ferretti P (eds). Topics in Tissue Engineering 2003; 1-46.
83. *Kemik İyileşmesinin Temelleri* [web page on the internet], 02.01.2006, http://meds.ktu.edu.tr/~sbaykal/kemik_fuz.htm
84. Şirin Y. Deneysel Olarak Meydana Getirilen Kemik Defektlerine Yerleştirilen Farklı Tipteki Yapay Kaynaklı Greft Materyallerinin Kemikleşmesinde Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul:2005
85. Marx RE. Clinical application of bone biology to mandibular and reconstruction. Clin Plast Surg 1994; 21:377 -382.
86. Bonutti PM, Cremens MJ, Miller BG. Formation of structural grafts from cancellous bonefragments. Am J Orthop 1998; 27:499-502.
87. Kurtz LT, Garfin SR, Booth JH. Harvesting autogeneous iliac bone grafts: A review of complications and techniques. Spine 1989; 14: 1324-31
88. Louisia, S., Stromboni, M., Meunier, A., Sedel, L., Petite,H., Coral grafting supplemented with bone marrow. J Bone Joint Surg (Br) 1999;81-B:719-24
89. Garg A.K. Grafting Materials in Repair and Restoration. In : Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). Tissue Engineering : Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Publishing, Illinois 1999; 83 -102.
90. Marx R.E., Kline SN., Johnson RP., Malinin TI., Mathews JG., Gambil V.: The use of freeze-deried allogenic bone in oral and maxillofacial surgery. J Oral Syrg 1981;39:264-274
91. Tuskan C, Yaltirik M. Oral ye Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateriyaller. İstanbul Üniversitesi DişHekimliği Fakültesi Yayınları, İstanbul, 2002; 17-52.
92. Güzelsu N.:Electromechanical properties and electromagnetic stimulation of bone. Bağıziçi Üniversitesi Biomedikal Mühendisliği Enstitüsü Yayınları 1985;5
93. Petri III WH.: Evaluation of antibiotic-supplemented bone allograft in a rabbit model. J Oral Maxillofac Surg 1991;49:392-396
94. Pinholt EM., Solheim E., Bang G., Sudman E.: Bone induction by composites of bioresorbable carriers demineralized bone in rats: A comparative study of fibrin-

- collagen paste, fibrin sealant and polyorthoester with gentamicin. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:1300-1304
95. Stevenson S., Li XQ., Martin B.: The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue antigen matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J Bone J Surg* 1991;73-A:1143-1156
 96. Takano-Yamamoto T., Kawakami M., Sakuda M.: Effect of a pulsing electromagnetic field on demineralized bone matrix induced bone formation in a bony defect in the premaxilla of rats. *J Dent Res* 1992;71:1920-1925
 97. Mankin H. J., Gebhardt MC. Long term Results of allograft replacement in the management of bone tumors. *Clin Orthop.* 1996; 324: 86-97
 98. Smonds R.J., Holmberg SD, Hurwitz LD et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from sero negative organ and tissue donor. *N. Engl J Med.* 1992; 326: 726-32.
 99. Fulmer NL, Bussard GM, Gampper TJ, Edlich RF. Anorganic bovine bone and analogs of bone mineral as implants for craniofacial surgery: A literature review. *J Long Term Eff Med Implants* 1998; 8 :69-78.
 100. Merckx MAW, Maltha J.C., Stoelinga PJW. Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: A review of clinical reports. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32 :1-6.95.
 101. Moore W.R. Graves S.E., Bain G.I.. Synthetic bone graft substitutes. *Aust N Z J Surg.* 71 (6) 2001),
 102. Mors W, Kaminski E. Osteogenic replacement of tricalcium phosphate ceramic implants in the dog palate. *Arch Oral Biol* 1975; 20: 365-367
 103. Rosen HM. Definitive surgical correction of vertical maxillary deficiency. *Plast Reconstr Surg.* 1990; 85:215-221
 104. Harris C.T., Cooper LF. Comparison of bone graft matrices for human mesenchymal stem cell-directed osteogenesis. *J Biomed Mater Res A.* 2004; 68 : 747-755
 105. Ohgushi H, Okumura M, Tamai S. Marrow induced osteogenesis in porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate: A comparative histomorphometric study of ectopic bone formation. *J Biomed Mater Res* 1991; 24 : 1563-1570
 106. Data Sheet Cerasorb, Version 3, November 2003.
 107. Yenson M. İnsan Biyokimyası. İstanbul : Çeliker Matbaacılık 1981
 108. Guyton A.C. Textbook of Medical Physiology 7th edition. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1986

109. Cowin S. C. Bone Mechanics Handbook 2nd edition. Boca, Raton, London, Newyork, Washington. CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2 : 1-24
110. *Alkalen Fosfataz Düzeyinde Artmaya Yol Açan Bazı Patolojiler* [Web page on the internet], 19.04.2005, <http://www.mc.metu.edu.tr/testler/k-alkalenfosfataz.html>
111. Nemeth Z, Suba Z, Hrabak K, Barabas J, Szabo G. Autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevations (2-3D CT, histologic and histomorphometric evaluations. Orv Hetil. 2002;143(25):1533-1538
112. Artzi Z., Tal H., Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets . Part 1 : Histomorphometric evaluations at 9 months. J. of Periodontology. 2000; 71: 1015-1023
113. Wiltfang J., Schlegel K.A., Schlitz-Mosgau S., Nkenke E., Zimmermann R., Kessler P. Sinus floor augmentation with β -TCP: does platelet rich plasma promote its osseous integration and degradation. Clin. Oral Impl. Res. 14, 2003: 213-218
114. Burger E.H., van Beek G.J.Zerbo I.R.,Bronckers A.L.J.J., de Lange G.L Clin. Oral Impl. Res.12,2001: 379-387
115. Groeneveld E.H.J., van den Bergh JPA, Holzmann P, ten Bruggenkate CM, Bram Tuinzing D, Burger EH. Histomorfometrical analysis of bone formed in human maxillary sinus floor elevations grafted with OP-1 device, demineralized bone matrix or autogenous bone. Comparison with non-grafted sites in a series of case reports. Clin. Oral Impl. Res. 1999; 10: 499-509.).
116. Kasten,R.Luginbühl,M.vanGriensvenT., Barkhausen C.Krettek, M.Bohner, U.Bosch comparison of human bone marrow stromal cells seeded on calcium-deficient hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate and demineralized bone matrix. European Cells and Materials Vol.5.Suppl.2,2003 (sayfa: 72-73)
- 117.Dong J., Uemura T., Shirasaki Y., Tateishi T.Promotion of bone formation using highly pure porous β -TCP with bone marrow-derived osteoprogenitor cells.Biomaterials, Vol.23 No.23:4493-4502;2002
- 118.Kurashina. TCP (A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics. Biomaterials 1999 20: 1799-1806.

- 119.Mattie D.R., Bajpai P.K., Analysis of the biocompatibility of ALCAP ceramics in rat femurs. J Biomed Mater Res. 1988 Dec;22(12):1101-26.
- 120.McFall F.B., Bajpai P.K., Fate of resorbable Alumino-calcium-phosphorous-oxide (ALCAP) ceramic implants in rats. Trans. 10th Annual Meeting Society for Biomaterials,7,354 (1984)
- 121.Tanyel. C. Ksenogreft Kemik Esaslı Greft Materyalinin Deneysel Kemik Defektlerine Kemik İliği ve Mononükleer Hücre ile Birlikte Uygulanmasının İyileşme Üzerine olan Etkilerinin Karşılaştırılmalı Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi . İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul 2005.
- 122.Volpin, G., Rees J.A. , Ali S.Y., Bentley G. Distrubution of Alkaline Phosphatase Activity in Experimentally Produced Callus in Rats. British Editorial Society of Bone and Joint Surgery. 1986:68-B No.4
- 123.Taniguchi T., Matsumoto T., Shindo H. Changes of serum levels of osteocalcin, alkaline phosphatase, IGF-1 and IGF-binding protein-3 during fracture healing. Injury, Int. J. Care Injured 34 (2003) 477-479
- 124.Erkut S. Baş ve Boyun Bölgesinde Görülen Yumuşak Doku Kalsifikasyon ve Ossifikasyonları. İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Seminer çalışması. 2005
- 125.Kasaboğlu Ç., Ozyuvaci H., Koçak H., Gürkan B., Kapran Y., Demiryont M. Subkutan Yerleştirilen Kalsiyum Karbonatın (Biosfer®) Hemopoetik Organlar, Böbrek ve Beyin Dokularının Distrofik Ossifikasyonu Açısından Değerlendirilmesi. Türk Patoloji Dergisi. 1996:12-1;28-30
- 126.Nutrition and Well-Being A to Z: Calcium [Web page on the internet], Food and Nutrition Board (1999). *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorous, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, DC: National Academy Press. Available from <<http://www.nap.edu>>
- 127.Knochel, J.P. Phosphorus. In Shils, M. et al. Eds. Nutrition in Health and Disease, 9th Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999: pages 157-167.
- 128.Micronutrient information center, Phosphorus, [Web page on the internet], 04/15/2003, <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/phosphorus/>

ÖZGEÇMİŞ

1976 Yılı İstanbul doğumluyum. T.C vatandaşıyım. İlköğrenimimi Kurtuluş İlkokulunda; Ortaöğrenimimi 1994 yılında Beşiktaş Atatürk Anadolu Lisesi'nde tamamladım.

1994 Yılında girdiğim İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi'nden 1999 Yılında dişhekimi olarak mezun oldum. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladım.

Halen İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. İyi derecede ingilizce okur yazar ve konuşurum. KPDS' den 69, ÜDS'den 88 puan elde ettim. LES puanım 64. İyi derecede Microsoft Office programları kullanıyorum. Özel ilgi alanlarım arasında en başta internet, futbol, seyahat ve sinema gelmektedir.

Tel: 0532 6243002

Email:cevdetutku@hotmail.com