

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**DENEYSEL KEMİK DEFECTLERİNDE
ATELOKOLLAJEN TİP 1 İÇERİKLİ LİYOFİLİZE
KSENOGREFT MATERYALİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

MERT ATIKLER

**DANIŞMAN
PROF. DR. HAKKI TANYERİ**

**AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE HASTALIKLARI PROGRAMI**

İSTANBUL-2015

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programında Mert Atıklar tarafından hazırlanan DENEYSEL KEMİK DEFECTLERİNDE ATELOKOLLAJEN TİP 1 İÇERİKLİ LİYOFİLİZE KSENOGREFT MATERYALİNİN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

15 / 12 / 2015

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Prof. Dr. Hakkı Tanyeri (Tez Danışmanı) (İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı)



2.Doç. Dr. Sertan Ergun (Tez İzleme Komitesi) (İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı)



3.Doç. Dr. Merva Soluk Tekkeşin (Tez İzleme Komitesi) (İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi Bilim Dalı)



4.Prof. Dr. Sina Uçkan (Medipol Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı)



5.Doç. Dr. Ceyda Özçakır Tomruk (Yeditepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı)



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.

Mert Atikler (İmza)



İTHAF

Değerli eşim Dt. Özge Atikler ve Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim dönemim süresince bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen danışmanım ve sayın hocam Prof. Dr. Hakkı Tanyeri'ye,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlanmama olanak veren tüm hocalarıma,

Değerli desteği sayesinde tezimin gerçekleşmesini sağlayan ve doktora eğitimim boyunca bana destek olan Doç. Dr. Sertan Ergun'a,

Tezimin histopatolojik kısmının yapılmasında büyük emeği geçen ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Merva Soluk Tekkeşin'e;

Doktora eğitimim boyunca deneyimlerinden faydalandığım, destek ve yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Meltem Koray, Doç Dr. Alp Saruhanoğlu, Yard. Doç. Dr. Nazlı Altın ve Dr. Dt. Duygu Ofluoğlu'na,

Deney safhalarında desteğini esirgemeyen tüm DETAE personeline,

Doktora eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı çalışanları ve asistan arkadaşlarıma,

İyi günde kötü günde her zaman yanımda olan ve her zaman bana manevi ve bilimsel desteğini esirgemeyen sevgili hayat arkadaşım, eşim Özge Atikler'e

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve beni destekleyen ailem; annem Nilgün Atikler, babam Murat Atikler ve kardeşim Anıl Atikler'e

Teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 44984

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XIV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Anatomisi ve Histolojisi.....	3
2.1.1. Kemik Hücreleri.....	4
2.1.1.1. Osteoprogenitör Hücreler.....	4
2.1.1.2. Kemik Sınır Hücreleri	4
2.1.1.3. Osteoblastlar.....	4
2.1.1.4. Osteositler	5
2.1.1.5. Osteoklastlar.....	6
2.1.2. Kemik Matriksleri (Hücreler Arası Doku).....	7
2.1.2.1. Organik Matriks	7
2.1.2.2. İnorganik Matriks.....	8
2.1.3. Çözünebilen Faktörler.....	8
2.1.4. Kemik Zarları.....	10
2.1.4.1. Periost (Periosteum)	10
2.1.4.2. Endost (Endosteum)	11
2.1.5. Kemik Tipleri.....	11
2.1.5.1. Primer Kemik	11
2.1.5.2. Sekonder Kemik.....	12
2.1.5.2.1 Kortikal Kemik.....	12

2.1.5.3. Kompozit &Bundle Kemik	14
2.1.6. Osteogenezis (Yeni Kemik Oluşumu)	14
2.1.6.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu.....	15
2.1.6.2. Endokondral Kemik Oluşumu.....	16
2.1.7. Kemik İyileşmesi	18
2.1.7.1. İnflamasyon Fazı.....	19
2.1.7.2. Granülasyon Dokusu Fazı	20
2.1.7.3. Kallus Fazı	21
2.1.7.4. Remodelasyon Fazı	21
2.1.8. Diş Çekim Yarası İyileşmesi.....	22
2.1.9. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler	23
2.1.9.1. Lokal Faktörler.....	23
2.1.9.2. Genel Faktörler.....	24
2.1.10. Kemik Defekti İyileşmesi Komplikasyonları	25
2.1.11. Kemik İyileşmesinin Kontrolü.....	26
2.1.12. Kritik Boyutlu Kemik Defekti Kavramı	28
2.1.13. Kemik Dokusunun İncelenmesi	29
2.2. Biyomateryaller.....	30
2.2.1. İnert Biyomateryaller	31
2.2.2. Rezorbe Olabilen Biyomateryaller.....	31
2.2.3. Biyoaktif Biyomateryaller.....	32
2.3. Kemik Greftleri	32
2.3.1. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Uygulanan Greft Endikasyonları	34
2.3.2. İdel Kemik Greft Materyalinin Taşınması Gereken Özellikler	34
2.3.3. Greftin Başarısını ve Devamlılığını Etkileyen Faktörler	35
2.3.3.1. Vasküler Destek	35
2.3.3.2. Stabilite	35
2.3.3.3. Biyouyumluluk.....	35
2.3.3.4. Yumuşak Doku Göçünün Engellenmesi	36
2.3.4. Kemik Greft Materyallerinin Etki Şekline Göre Sınıflandırılması.....	36
2.3.4.1. Osteogenezis	36
2.3.4.2. Osteoindüksiyon.....	36
2.3.4.3. Osteokondüksiyon.....	37

2.4. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması	37
2.5. Oral Cerrahide Kullanılan Kemik Greft Materyalleri.....	40
2.5.1. Otojen Greftler	40
2.5.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları.....	41
2.5.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları	44
2.5.2. Allogreftler	45
2.5.2.1. Dondurulmuş Kemik Allogrefti (DKA).....	46
2.5.2.2. Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DKKA).....	47
2.5.2.3. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DDKKA)	47
2.5.3. Ksenogreftler.....	48
2.5.4. Alloplastlar.....	51
2.5.4.1. Seramikler	52
2.5.4.2. Polimerler	55
2.6. Kemik Greftlerinin Patofizyolojisi	56
2.7. Kollajen.....	57
2.7.1. Kollajenlerin kullanım sahaları	60
2.7.2. Kemik iyileşmesinde kollajen ve etki mekanizması	60
2.7.3. Atelokollajen.....	61
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	63
3.1. Gereç	63
3.1.1. Biyomateryaller.....	64
3.1.1.1. Bio-Oss® Kemik Grefti	64
3.1.1.2. Hypro-Oss® Kemik Grefti.....	64
3.2. YÖNTEM	65
3.2.1. Operasyon Öncesi Hazırlık	65
3.2.1.1. Genel Bilgi	65
3.2.1.2. Deney Hayvanları ve Grupları	65
3.2.1.3. Deney Hayvanı Olarak Ratlar (Sprague Dawley).....	68
3.2.1.4. Operasyon Ekibi ve Görev Paylaşımı	69
3.2.2. Cerrahi İşlemler.....	69
3.2.3. Operasyon Sonrası	75
3.2.3.1. Post-Operatif Bakım.....	75
3.2.3.2. Sakrifikasyon İşlemleri	75

3.2.3.3. Histopatoloji ve Histomorfometri	77
3.2.3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	78
4. BULGULAR.....	80
4.1. Klinik Bulgular	80
4.2. Histopatolojik ve Histomorfometrik Bulgular	80
4.2.1. Işık Mikroskobu Değerlendirmeleri.....	80
4.2.1.1. 7. Gün Bulguları.....	80
4.2.1.2. 30. gün bulguları	82
4.3. İstatistiksel Bulgular	84
5. TARTIŞMA	91
SONUÇLAR.....	108
KAYNAKLAR	109
ETİK KURUL KARARI	131
ÖZGEÇMİŞ	132

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Mandibuler donör alanların karşılaştırılması.....	43
Tablo 2-2: HA'nın fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri	53
Tablo 2-3: Doku sipesifik kollajenler.....	59
Tablo 3-1: Allen'in kırık iyileşmesi skorlama sistemi.....	78
Tablo 4-1: Grupların 7. ve 30. günlerdeki iltihap düzeylerine göre değerlendirilmesi...	84
Tablo 4-2: Grupların 7. ve 30. günlerdeki fibrozis düzeylerine göre değerlendirilmesi.	85
Tablo 4-3: Grupların 7. ve 30. günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerine göre değerlendirilmesi.....	86
Tablo 4-4: Grupların 7. ve 30. günlerdeki rezidüel greft varlığına göre değerlendirilmesi.....	88
Tablo 4-5: Grupların 7. ve 30. günlerdeki yeni kemik oluşum alanına göre değerlendirilmesi.....	89

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kemik hücrelerinin ve farklılaşma yollarının şematik gösterimi (29).....	6
Şekil 2-2: Kemik zarlarının histolojik görüntüsü (15).....	10
Şekil 2-3: Havers kanallarının şematik görünümü (15).....	13
Şekil 2-4: Kansellöz kemik yapısının şematik gösterimi (15).....	14
Şekil 2-5: İntramembranöz kemikleşmenin şematik gösterimi (43).....	16
Şekil 2-6: Endokondral kemikleşmenin şematik gösterimi (55).....	18
Şekil 2-7: Hidroksiapatitin şematik gösterimi (143).....	52
Şekil 2-8: Kollajen yapısının şematik gösterimi (156).....	57
Şekil 2-9: Hidroksiprolin, prolin ve glisin molekül yapılarının şematik gösterimi (156).....	57
Şekil 2-10: Tendonun hiyerarşik yapısının şematik gösterimi (157).....	58
Şekil 2-11: Atelokollajen molekülünün şematik gösterimi (172).....	61
Şekil 3-1: Bio-Oss® kemik grefti ürün kiti.....	64
Şekil 3-2: Hypro-Oss® kemik grefti ürün kiti.....	64
Şekil 3-3: Deney hayvanı olarak kullanılan Sprague Dawley türü sıçanın görüntüsü ..	65
Şekil 3-4: Deney hayvanlarının anestezisinde kullanılan anesteziik maddelerin görüntüsü.....	69
Şekil 3-5: Tıraşlanıp, povidon iyot solüsyonu (batikon) sürülmüş tibianın görünümü ..	70
Şekil 3-6: Tibiaya yapılan insizyonun görüntüsü	70
Şekil 3-7: Açığa çıkarılmış tibianın görünümü	71
Şekil 3-8: Tibiada 3 mm çapındaki trefin frez ile kemik defekti açılması	71
Şekil 3-9: 3mm çapında açılan kemik osteotomisinin görüntüsü	72
Şekil 3-10: Defekt alanı içerisindeki kemik blok çıkarılması sonrası 3mm.çapındaki defekt görüntüsü	72
Şekil 3-11: Bio-Oss® kemik greftinin defekte yerleştirilmesi	73
Şekil 3-12: Hypro-Oss® kemik greftinin defekte yerleştirilmesi	73
Şekil 3-13: Kontrol grubu olarak boş bırakılan defektin görüntüsü	74
Şekil 3-14: Bölgenin 3. 0 İpek sütur ile suture edilmiş görüntüsü	74

Şekil 3-15: 7. günde sakrifiye edilen sıçanların tibia kemikleri (Soldan sağa Bio-Oss®, Hypro-Oss®, Kontrol) ve %10'luk formaldehit bulunan biyopsi kapları.....	76
Şekil 3-16: 30. günde sakrifiye edilen sıçanların tibia kemikleri (Soldan sağa Bio-Oss®, Hypro-Oss®, Kontrol) ve %10'luk formaldehit bulunan biyopsi kapları	76
Şekil 4-1: 7. gün Grup I (H&E x 100) Fibröz doku içinde greft matertali ve defekt ucunda başlayan kemikleşme	81
Şekil 4-2: 7. Gün Grup II (H&E x 40) Aktif görünümde bağ dokusu içinde greft partikülleri ve çevresinde yeni kemik yapım alanları	81
Şekil 4-3: 7. gün Grup III (H&E x 40) Defekt uçları arasında köprülenme şeklinde ince kemik trabekülleri ve bir alanda fibrozis	82
Şekil 4-4: 30. gün grup I (H&E x 40) Defekt bölgesinde, greft materyali çevresinde yeni kemik dokusu	83
Şekil 4-5: 30. gün grup II (H&E x 40) Defekt bölgesinde, defekti neredeyse tam kapatan kemikleşme ve altında az sayıda greft materyali	83
Şekil 4-6: 30. gün Grup III (H&E x 40) İki defekt ucunu birleştiren, köprüleşme şeklinde yeni kemik yapımı	84
Şekil 4-7: Grupların 7. ve 30. günlerindeki fibrozis düzeylerinin değerlendirilmesi	85
Şekil 4-8: Grupların 7. ve 30. günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerinin değerlendirilmesi	87
Şekil 4-9: Grupların 7. ve 30. günlerdeki rezidüel greft varlığının değerlendirilmesi ...	88
Şekil 4-10: Grupların 7. ve 30. günlerdeki yeni kemik oluşum alanlarının değerlendirilmesi	89

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

PTH: Paratiroid Hormon

M: Metre

M³: Metre küp

TGF: Transforming growth factor, dönüştürücü büyüme faktörü

BMP: Bone morphogenetic protein, kemik morfogenetik proteini

IL: Interlucin, İnterlökin

IGF: Insuline-like growth factor, insüline benzer büyüme faktörü

FGF: Fibroblast growth factor, fibroblast büyüme faktörü

NGF: Nerve growth factor, sinir büyüme faktörü

PDGF: Platelet derived growth factor, trombosit kaynaklı büyüme faktörü

CDGF: Condrioblast derived growth factor, kondrioblast kaynaklı büyüme faktörü

ECGF: Endothelial Cell Growth Factor, endotelyal hücre büyüme faktörü

EGF: Epidermal growth factor, epidermal büyüme faktörü

PGE: Prostoglandin E

TGF- β : Transforming growth factor- β , dönüştürücü büyüme faktörü- β

VGEF: Vascular endothelial growt factor, Damarsal endotelyal büyüme faktörü

PGA: Poliglikolik asit

HA: Hidroksilapatit

TCP: Trikalsiyum fosfat

DKM: Demineralize kemik matriks

DKA: Dondurulmuş kemik allogrefti

DKKA: Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti

DDKKA: Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti

ÖZET

Atikler, M. Deneysel Kemik Defektlerinde Atelokollajen Tip 1 İçerikli Liyofilize Ksenogreft Materyalinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2015.

Oral ve maksillofasiyal bölgede malformasyon, enfeksiyon, travma veya rezeksiyon nedeniyle oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu amacıyla günümüzde çeşitli kemik greft materyalleri sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Kollajenin immunojenik reaksiyon göstermesi, biyomateriyaller ile birlikte kullanılmasında en büyük sorunlardan biridir. Ana antijenik yapı kollajenin her iki tarafında bulunan telopeptid bağlarından kaynaklanmaktadır. Pepsin kullanılarak antijenik telopeptidlerin kaldırılması ile oluşan atelokollajen, diğer kollajenler ile kıyaslandığında düşük antijenitesi sayesinde tercih edilebilir bir materyal olarak ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmanın amacı, sıçan tibialarında oluşturulan kemik kavitelerinin iyileşmesinde atelokollajen içerikli kemik greft materyali (Hypro-Oss®) ile sığır kaynaklı deproteinize kemik grefti (Bio-Oss®) etkinliğinin karşılaştırmalı olarak incelenmesidir. Çalışmamızda 44 adet ortalama 250g±20g ağırlığında erkek sıçan kullanıldı. Deneklerin sadece sağ tibialarına 3mm çapında ve 3mm derinliğinde tek defekt açılıp, 16 sıçana atelokollajen içerikli kemik grefti (Hypro-Oss®), 16 sıçana sığır kaynaklı depoteinize kemik grefti (Bio-Oss®) uygulandı. 12'si ise kontrol grubu olarak doğal iyileşme sürecine bırakılan deneklerden oluşturuldu. Deney hayvanları iki alt gruba ayrılarak 7. ve 30. günlerde sakrifiye edildikten sonra histolojik değerlendirme ve histomorfometrik karşılaştırma yapıldı. İnceleme esnasında bütün gruplardan elde edilen kesitler iltihap, nekroz, fibrozis, yabancı cisim reaksiyonu, rezidüel greft materyali, kemik iyileşmesi ve yeni kemik yapımı açısından değerlendirildi. Grupların hiç birinde yabancı cisim reaksiyonu, nekroz, iltihap görülmedi. Grupların 30. gündeki kemik yapım düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık görülmezken; grup içi değerlendirmelerde 30. gündeki yeni kemik yapım alanları, 7. günden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu.

Anahtar Kelimeler: Atelokollajen, kemik iyileşmesi, kemik defektleri, kemik greftleri, sıçan, histopatoloji

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 44984

ABSTRACT

Atikler, M. Histopathological Evaluation of the Effect of Atelocollagen Type 1 Containing Lyophilized Xenograft Material on Bone Healing in Experimental Bone Defects. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Ph. D Thesis. İstanbul. 2015.

Graft materials are used for the reconstruction of maxillofacial region due to infection, trauma or resection problems. Ateocollagen is soluble collagen produced from tropocollagen, the collagen that makes up collagen fibrils, via the elimination of the telopeptide moieties, which are considered to account for most of collagen's antigenicity. Atelocollagen is more preferable for biomaterial use as compared to other kinds, because it has lowest level of antigenicity. The aim of this study is to evaluate the feasibility of hydroxyapatite and atelocollagen containing bone Hypro-Oss® to bone defects in rats comparing with deproteinized bone Bio-Oss®. 44 male rats, weighing 250 ± 20 g were used in this study. 3mm long and 3mm wide defects both just right tibia of each rat were done. 16 defects were filled with atelocollagen containing graft, 16 defects were filled with anorganic deproteinized bone material. The other group is the control group containing 12 defects. Each group was further divided into 2 subgroups which were examined at 7 and 30 days after the defects were filled. Histological and histomorphometric analysis were performed to quantify the amount of new bone within the defects under light microscope. Inflammation, necrosis, fibrosis, foreign body reaction, residual graft, bone healing and new bone formation areas were assessed. Foreign body reaction, necrosis and inflammation were not observed in any of the groups. There was no significant difference in new bone formation between groups at 30 days. The overall new bone formation was significantly different between 7. days samples and the 30 days samples.

Key Words: Atelocollagen, bone healing, bone defect, bone graft, rat, histopathology

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 44984

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski zamanlardan beri insanlar, hasta ya da zarar görmüş dokuları, sağlıklı dokular ile transplantasyon yoluyla değiştirmeye çalışmışlardır. Bu çalışmalar günümüze kadar preprostetik cerrahide, konjenital defektlerin ve ortognatik deformitelerin tedavisinde, temporomandibuler eklem deformitelerinin tedavisinde ve çenelerin tümör cerrahisi sonrası rekonstrüksiyonları alanlarında yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Oral ve maksillofasiyal cerrahi uygulamalarda transplante edilebilen farklı doku tipleri içerisinde en genel kullanımı olan doku kemiktir. Kemik dokusu, tamir olayında skar dokusu oluşumundan çok, yeniden yapılanma ve yer değiştirme olaylarının rol oynadığı tek dokudur. Kemik grefti uygulamalarında alıcı bölge ve greft materyali kemik oluşumunda birbirine yardımcıdır. Yüz ve çene kemiklerinin rekonstrüksiyonunda başarılı sonuçlar elde edebilmek için, alıcı yataktaki vaskülarite ve fibroblastik hücre aktivitesinin yanı sıra transplante edilen kemiğin ostojenik kalite ve kantitesi önemlidir (1).

Ağız ve çeneler bölgesinde; çeşitli sebeplerle oluşan defektlerin eski anatomik formuna kavuşturulması ve yitirilen fonksiyonların yeniden kazandırılması oral ve maksillofasiyal cerrahinin temel hedeflerinden birisidir (2). Bu kemik defektlerinin bir bölümü, kemiğin kendini tamir edebilme yeteneği ile onarılırken büyük kemik defektlerinde, kemik dokusunun tamamen onarılmasını desteklemek veya tamamen iyileşmesini sağlamak amacıyla çeşitli doğal ve sentetik biyomateriyaller kullanılmaktadır. Bunlar heterogreft veya ksenogreft, allogreft veya homogreft, otogreft ve ayrıca alloplastik materyaller şeklindedir (3).

Kemik ogmentasyonunda greft materyallerinin kullanımı oluşacak yeni kemiğin miktarı, yenilenme süresi ve kalitesi ile yakından ilgilidir. Defektin hacmi kalan kemik duvar sayısı gibi faktörler greft materyali seçiminde rol oynamaktadır (4). İdeal greft materyali kolay elde edilebilir, güçlü yapıda, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklere sahip, kolay uygulanabilir ve ucuz olmalıdır. Ayrıca yerleştirilecek hücreler ve mediatörler için iyi bir taşıyıcı olmakla beraber üzerine uygulanabilecek işlemleri tolere edebilmelidir. Fakat tüm bu özelliklere sahip ideal bir greft materyal henüz rapor edilmemiştir (5).

Otojen greftler bu alanda altın standart olarak kabul edilsede; sınırlı donör alanı yanında lokal ağrı, kanama ve enfeksiyon gibi sıkıntılar nedeniyle her zaman rutin olarak uygulanamamaktadır (6,7). Otojen greftlemeye alternatif olarak ksenojenik kemik greftleri; kemik defektlerinin onarımında, otojen ve allojen kemik greftlerinin sınırlandırmaları (donör bölge morbiditesi, sınırlı greft materyali miktarı, yeniden operasyon ihtimali) nedeniyle sıkça kullanılmaktadır (3).

Kemik greftleri üzerine yapılan araştırmalarda osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerin birlikte bulunduğu kompozit greft materyallerine odaklanılmıştır. Bu amaçla kollajen, büyüme faktörleri, farklılaştırıcı faktörler gibi birçok kombinasyon denenmiştir. Tip 1 kollajen, kemik hücre dışı matriksinde en fazla bulunan proteindir ve ana bağlayıcı doku proteini olarak önemli bir rol oynamaktadır. Tip 1 kollajenin biyomateriyaller ile birlikte kullanımının osteoblast hücrelerinin adezyon ve proliferasyonunu artırıcı özelliğinden dolayı avantajlı olduğu bildirilmektedir (8).

Kollajenin immunojenik reaksiyon göstermesi biyomateriyaller ile birlikte kullanılmasında en büyük sorunlardan biridir. Ana antijenik yapı her iki tarafında bulunan telopeptid bağlarından kaynaklanmaktadır. Pepsin kullanılarak antijenik telopeptidlerin kaldırılması ile oluşan atelokollajen, diğer kollajenler ile kıyaslandığında düşük antijenitesi sayesinde tercih edilebilir bir materyal olarak kabul edilmektedir (9). Atelokollajen, hidroksiapatit yapı ile ksenogreft materyali içerisinde greft uygulanan bölgede bakteriyostatik etki ve yüksek biyouyumluluk gösterip; yabancı cisim reaksiyonu oluşturmadığı belirtilmektedir (10).

Bu çalışmanın amacı kemik kavitelerinin iyileşmesinde atelokollajen tip 1 ve hidroksiapatit içeren liyofilize sığır kaynaklı ksenogreft materyalinin kemik iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilmesidir.

Atelokollajen içerikli ksenogreftin kemik içi defektlerin tedavisindeki etkinliğinin kanıtlanması halinde; çalışmamızın ileriki dönemde yapılacak çalışmalara öncülük edeceğini düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Anatomisi ve Histolojisi

İnsan vücudu; hareket sisteminin iskeletini oluşturan kemikler ve bu kemikler arasında hareketlerin sağlandığı eklemler, kaslar ve bunların koordinasyonu ile oluşur. Kemik dokusu, yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökeldiği, bu sayede sağlamlık ve esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusu türüdür. Kemik bir kaldıraç sistemi oluşturup, çizgisel (iskelet) kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri arttırarak bunları bedensel hareketlere dönüştürür. Diş minesinden sonra vücuttaki en sert doku kemik dokusudur ve vücut ağırlığının %20'sini oluşturur. Kemik dokusu farklı görevlere sahiptir. Şekilleri, boyutları ve hatta görünümleri bu görevleri yerine getirebilmek için değişiklik gösterir. Yapısal olarak uzun kemikler, kısa kemikler ve yassı kemikler olarak üçe ayrılır (11). Kemik yapısının, aksiyel kuvvetler karşısında direnci yüksek, rotasyonel kuvvetler karşısında ise direnci daha azdır (12).

Kemik, değişen fonksiyonel ihtiyaçlara ve fiziksel streslere adapte olup yapısını değiştirebilen bir dokudur (13). Kendisini yapısal olarak onarabilmesinin yanısıra, şeklini, özelliklerini, kütlesini mekanik ihtiyaçlara uygun hale getirebilir. Mineral depolama özelliği sayesinde hücre dışı sıvı dengesinin korunmasını sağlar (14).

Kemik canlıda dengeyi sağlayan, kanlanması ve innervasyonu iyi olan, ekstrasellüler matriksin kalsiyum ve fosfat tuzlarıyla mineralleşmesini gerçekleştirdiği sağlam bir destek dokudur (15). Vücudumuz için önemli olan temel iyon ve minerallerin konsantrasyonunun sağlanmasında rol oynar. Yaşamsal organlara destek verir. Beyni, göğüs ve batin iç organları korur. Kan yapımına yardımcı olur. Kemik dokusu değişen vasküler, endokrin ve beslenme düzeylerine uyum sağlayabilmektedir (16,17).

Kemik hücre içi iletişim yollarında gerekli bir element olan kalsiyumu depolaması ve ihtiyaç durumunda kalsiyumu sağlaması, akciğer ve böbrekler ile birlikte çalışarak vücudun pH dengesinin sağlanabilmesi için ilave fosfat ve karbonat üretimini sağlaması ile endokrin sisteme yardımcı olur. Ayrıca, sinir ve kas arasındaki elektriksel değişikliklerin iletimini gerçekleştirir (18,19).

Kemik dokusu, kemik matriksi ve çeşitli kemik hücrelerinden (osteoprogenitör hücreler, kemik sınır hücreleri, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar) meydana gelmiştir.

2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemiğin hücresel yapıları; osteoprogenitör hücreler, kemik sınır hücreleri, osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve kemiğin büyüme ve gelişiminden sorumlu immün hücrelerdir. Osteoklastlar haricindeki hücreler kemik dokusunun oluşmasında ve devamlılığın sağlanmasında rol oynarlar. Bu hücelere osteojenik hücreler de denmektedir (20).

2.1.1.1. Osteoprogenitör Hücreler

Periosteum ve endosteum'da bulunan progenitör hücreler embriyonal mezenkimden kaynağını alan stromal hücrelerin farklılaşması sonucu oluşurlar (21). Osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktardaki granüllü endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş golgi kompleksleri ile karakterizedir. Bu hücreler bir uyarı geldiğinde sayıca artarlar (15).

Bu hücre grubu farklılaşmamış kök hücre klonlarını oluşturdukları gibi, geçiş hücrelerine farklılaşıp gelişerek; kemik, kıkırdak, ligament, tendon ve yağ gibi bağ dokusu hücrelerini de oluşturabilirler (22). İğ şeklinde, oval çekirdekli ve fibroblastlara benzer yapıya sahiptirler. Mitozla bölünüp çoğalırlar, çoğalan hücrelerin bir bölümü osteoblastlara farklılaşır. Kemiklerde yıkılan, kemik dokusunun birim yapısı olarak kabul edilen osteonların yerine yenilerinin yapımı esnasında veya kırıklarda yeni kemik dokusu şekillenirken aktif hale gelerek bölünürler ve osteoblastları oluştururlar (23).

2.1.1.2. Kemik Sınır Hücreleri

Kemiklerde inaktif bölgelerde bulunan yassı epitelyum hücrelerine benzer hücrelerdir (24).

2.1.1.3. Osteoblastlar

Osteoblastlar büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, sık endoplazmik retikulum, içleri kollajen ile dolu salgı kesecikleri ve gelişmiş golgi aygıtı içerirler (25).

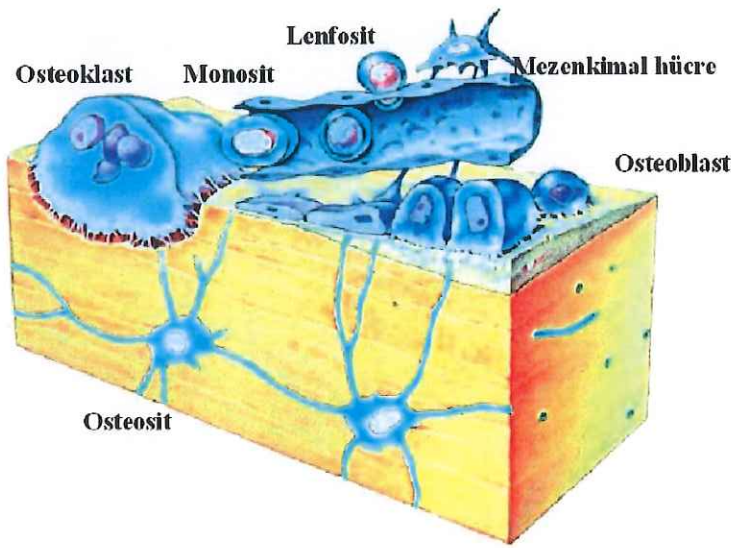
Osteoblastlar kemik matriksin organik kısmının sentezinden sorumlu olan hücrelerdir. Bu hücreler, fonksiyonel olarak kemik oluşum ve remodeling için gerekli olan başta tip 1 kollajen ve diğer non-kollajenöz proteinleri ve proteoglikanları salgılayan hücrelerdir. Osteoblastların kaynağı lokal mezenkimal kök hücreleridir. Uygun stimülasyon ile bu hücreler önce preosteoblastlara sonra da olgun osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar bir kemik matriksinin etrafında dizilmiş olarak bulunurlar. Bu matriks etrafındaki osteoblastlarca sentezlenmiş ancak henüz kalsifiye olmamıştır. Bu dokuya organik komponent ya da osteoid doku denir. Osteoblastların öncü hücreleri olan preosteoblastlar da kemik yüzeyinde bulunurlar ve bu iki hücre tipi kemiğin yüzey hücreleri olarak isimlendirilirler. Osteoblastlara ait plazma membranı karakteristik olarak yüksek alkalen fosfataz aktivitesine sahiptir. Bu aktivite özellikle kemik matriks sentezi sırasında en üst noktaya çıkar, serum alkalen fosfotaz düzeyi, kemik formasyonunun bir göstergesi olarak kullanılabilir. Osteoblast plazma membranında, paratiroid hormon (PTH) reseptörleri yüksek oranda bulunurlar. Bu membranda kalsitonine ait reseptör yoktur. Osteoblast hücre çekirdeğinde ise Vitamin-D3 ve östrojen reseptörleri bulunmaktadır. Osteoblastların ortalama fonksiyonel yaşam süreleri türe göre değişkenlik göstermekte olup; insanlarda ise 8 haftaya kadar uzayabilmektedir. Karakteristik olarak aktif insan osteoblastı yaklaşık olarak 15 mm kalınlığındaki osteoid tabakayı günde 0.5-1.5 m hızında üretmektedir. Bunun sonucu ortalama osteoblast yaşam süresinin 15 gün olduğu söylenebilir (26,27).

2.1.1.4. Osteositler

Osteoblastlar, kemik trabeküllerinin yüzeyinde bulunarak osteoid sentezlerler. Kemik matriksi olan osteoid kalsifikasyona uğrayarak hidroksiapatit kristallerini oluşturur. Bu süreç esnasında bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak osteosite dönüşür (28).

Osteositlerin canlılığı etraftaki kemik matriks yapının devamlılığı için oldukça önemlidir. Osteositlerin, kemiğin kimyasal ve mekanik çevresinde olan değişikliklere karşı çok hızlı yanıtlar ürettiğini ve bu hücrelerin bu özellikleri ile kemiğin çevresel değişkenlere karşı geliştireceği adaptif fonksiyonlarda yönetici rol oynadıkları gözlenmiştir. Osteositin ölümü etrafındaki kemik matriksin rezorpsiyonu için gerekli olayların başlamasına yol açar (15,26).

Osteositler boyut olarak köken hücreleri osteoblastlara göre küçülürken kanülikuliler içinde sitoplazmik uzantıları bulunmaktadır. Bu şekilde osteositler hücre lakünası içinde gömülü kalmayıp komşu osteositlerle, osteoblastlarla, kemik yüzeyini döşeyen hücrelerle, periosta ait hücrelerle ve damarsal yapıyla iletişim içerisinde olurlar (Şekil 2.1). Bu yapılar aracılığıyla moleküller hücreden hücreye aktarılırlar. Kemik matriksinin yapısal ve metabolik bütünlüğünün bozulmasını engellerler (25,29).



Şekil 2-1: Kemik hücrelerinin farklılaşma yollarının şematik gösterimi (29).

Yaşlanmayla östrojen hormonunun azalmasıyla ve glukokortikoid yapıda hormonların artmasıyla osteositlerin sayısı azalır. Osteositlerin yaşam ömrü birkaç yıldır (30).

2.1.1.5. Osteoklastlar

Kıkırdak ve kemik dokunun rezorpsiyonundan sorumlu olan hücrelerdir. Bu hücreler morfolojik ve fonksiyonel özellikleri diğer monositif fagositer hücelere benzerler ve kemiğe özgün makrofajlar gibi çalışırlar. Osteoklastlar 150 mikron büyüklüğünde iri hücrelerdir. Multinükleer yapıları bu hücrelerin önemli özelliklerindendir. Her bir osteoklast içinde 2-50 arasında nukleus bulunmakta ve bu sayı 100'e kadar çıkabilmektedir. Bu geniş hücreler kemik yüzeyine doğru migrasyon gösteren irregüler kaviteler oluşturur ve bu kaviteler içerisinde lokalize olurlar. Bu kaviteler Howship's lakünası olarak adlandırılırlar. Aktif haldeki bir osteoklast günlük ortalama olarak 100 m yol alabilir, 300 m çapında bir kavite oluşturabilir. Bu

miktardaki bir kemik hacminin oluşabilmesi için osteoblastların 7-10 defa hayat siklusu geçirmeleri gerektiği bilinmektedir (31).

Osteoklastların uç kısmı mineralize yüzeye tutunur ve rezorbe edilecek alanı sızdırmazlık bölgesi ile kaplar. Bu alanın ortasında hücre yüzeyi birçok sitoplazmik katlanmaya bağlı olarak gelişir ve dantel formunda sınır oluşturur. Hücre membranının büyümesi sonucu mineral kristallerini çözüp, kemik matriksini parçalamak için hidrojen iyonları ve proteolitik enzimler salgılanır (32).

Osteoklastlar mitoz bölünme yapmazlar. Osteoblastlarla birlikte mekanik kuvvetlere bağlı olarak kemiğin şekillenmesine, plastik etkinliğini en iyi şekilde gerçekleştirmesine imkan sağlar. Kemikte depolanmış kalsiyumun devinimini sağlar. Osteoklastların sayı etkinlikleri hormonal denetim altında olup paratiroid ve tiroksin hormonları etkisinde artar, kalsitonin ve östrojen hormonları etkisinde azalır (22).

2.1.2. Kemik Matriksleri (Hücreler Arası Doku)

Kemik matriksi iki bölümde incelenir. Bunlar: organik matriks ve inorganik matrikslerdir. Organik matriksi kollajen ve esas (ana) madde oluşturur. Mineral matriks ise kalsiyum, fosfor ve diğer bazı elementlerden oluşur. Matriksin her iki bölümü de kemiğin fiziksel özellikleri açısından çok önemlidir (22). Kemiğin görevini yerine getirmesi organik ve inorganik yapıların birbirleriyle uyumlu olmasına bağlıdır. Kemiğin toplam ağırlığının %20'sini su oluşturur. Kemiğin hacminin büyük bölümü ise kollajenden meydana gelmektedir. Kuru kemik ağırlığının %60-70'ini inorganik kalsiyum fosfat, %30-35'ini ise organik fibröz protein ve kollajen oluşturmaktadır (15).

2.1.2.1. Organik Matriks

Kemiğin organik matriksine osteoid madde denir. Organik matriks kemiğin formunun verilmesi ve inorganik tuzların şekillenmesini sağlar. Organik matriksin %90'ı tip 1 kollajen, % 5'i ise kollajen dışı proteinler, proteoglikanlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerdir. Bu proteinlerin mineralizasyonda, hücrelerin organik matrikse yapışmasında, organik matriksin kalsifikasyonunda ve büyüme faktörlerinin salınımında rol oynadığı düşünülmektedir (33).

Kollajen; dokularda mekanik stabiliteye yardımcı olan lifli bir proteindir. Transkripsiyondan (kopyalama) sonra, kollajen molekülleri çeşitli intra ve ekstrasellüler işlemlerden geçer, bu da onun kendine has yapısını ve dayanıklılığını oluşturur (34).

2.1.2.2. İnorganik Matriks

İnorganik maddeler, kemiğin kuru ağırlığının %65'ini oluşturmaktadır. İçeriğinde özellikle kalsiyum ve fosfat oranı yüksektir. Ayrıca bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulunur (15)

Kemiğin mineralize kısmının büyük çoğunluğu kalsiyum, fosfat ve hidroksil iyonlarından oluşmuş kristal yapıdaki hidroksiapatittir $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Röntgen ışını "difraksiyon yöntemi" ile yapılan çalışmalarda, kalsiyum ve fosforun hidroksiapatit kristallerini meydana getirdiği görülmüştür. Kemik hidroksiapatit kristalleri, kollajen liflerin yanında amorf bir madde ile çevrili halde lokalizedir. Hidroksiapatitin yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için, kristalin etrafı su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka ile kaplanmıştır. Hidrasyon kabuğu denilen bu tabaka, hemostaz mekanizması için gerekli mineralleri elde ederek, fizyolojik bir görev üstlenir. İskelet sistemindeki kalsiyum, fosfat ve magnezyum gibi minerallerin dengesi, D3 vitamini, paratiroid hormon ve kalsitonin tarafından organize edilir (35).

Kristalin uzun ekseni kollajen liflerin uzun eksenine paraleldir. Bu düzenleme kollajen liflerdeki, kollajen lif yüzey alanını arttırmaya yarayan deliklerde gerçekleşir. Kemiğin sertliğinden ve dayanıklılığından hidroksiapatit ve kollajen lifleri arasındaki bağlantı sorumludur. Kemik dekalsifiye edildikten sonra şeklini korur, aynı zamanda bir tendon kadar da esnek hale gelir. Büyük kısmı kollajenden oluşan matriksin organik kısımlarının ortadan kaldırılması durumunda kemiğin kendi şekli bozulmaz ancak kolayca kırılabilir hale gelir (36).

Kemiğin inorganik içeriğinin organik matrikse oranı, kemiğin cinsine ve yaşa bağlı olarak farklılık gösterebildiği gibi; raşitizm ve osteomalasiye olduğu gibi bazı patolojilere bağlı olarak da değişiklik gösterebilir. Mineral matriks oluşumu organik matriks oluşumundan kısa bir süre sonra %90 oranında gerçekleşir. Kalan %10, dokunun iyonlara geçirgenliğinin azalmasından dolayı yavaş çökme şeklinde gerçekleşir (22).

2.1.3. Çözünabilen Faktörler

Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- β) iltihap ve doku tamirinden sorumludur. TGF- β kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve endokondral kemikleşme esnasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde görev almak için trombositlerden de salınır. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin

reseptörünü etkileyerek hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara neden olan proteolitik enzimleri baskılar ve granülasyon dokusu oluşumuna yol açar (37).

Kemik morfogenetik proteinleri (BMP), geniş bir büyüme faktörü ailesi olan ve kültür ortamında fibroblastları dönüştürme özelliklerinden dolayı Transforming Growth Factor- β (dönüştürücü büyüme faktörü) olarak isimlendirilen gruba ait alt üyelerdir. BMP'lerin rolü "iskelet sisteminin molekularizasyonu" olarak tanımlanmıştır (38).

İnterlökinler (IL) makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-I fibroblast çoğalması ve kollajenaz yapımı ile ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkileriyle kemik geri emilimini de etkiler (37).

İnsüline benzer büyüme faktörü (IGF)-I samatomedin, IGF-II ise iskelet büyüme faktörü olarak da bilinmektedir. IGF-II, kemik matriksinde en yoğun konsantrasyonda bulunan büyüme faktörüdür. IGF'nin kemik defektlerinin iyileşmesini ve yeni kemik oluşumunu hızlandırdığı belirtilmiştir (39).

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi, benzer polipeptid yapıdaki FGF'nin sistemik olarak verildiğinde kırık iyileşmesini arttırdığı, lokal uygulamanın da kemik rejenerasyonunu stimüle ettiğini bildirmişlerdir. FGF monositler, makrofajlar, osteoblastlar ve kondrositler tarafından sentezlenir ve birçok mezodermal ve nöroktedermal hücreyi etkiler (40).

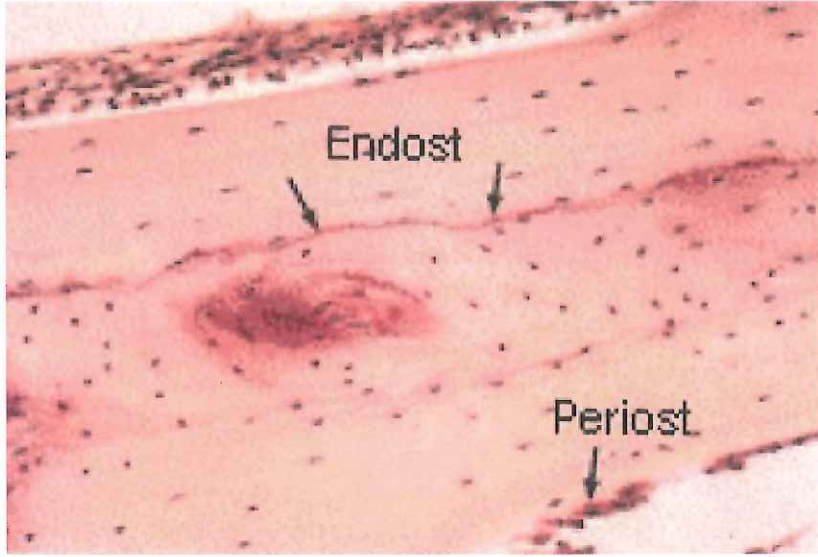
Sinir büyüme faktörü (NGF) vücutta pek çok dokuda sentezlenen NGF periferik sensoryal ve post-ganglionik sempatik sinirlerin gelişimi için son derece olumludur (37).

Trombosit büyüme faktörü (PDGF), trombositler, monositler, makrofajlar ve endotelial hücreler tarafından sentezlenir. Mezodermal hücrelerin DNA sentezini ve hücre replikasyonunu sağlar. Bunun yanında özellikle fibroblastlar, monositler ve düz kaslı hücreleri için kemotaktik etkileri de bulunmaktadır (41).

Kondroblast kaynaklı büyüme faktörlerinin (CDGF) iki tipi vardır ve Tip-II kollajen ve hyalüronik asit için düzenleyicidir. Endotelial hücre büyüme faktörü (ECGF) yeni damar oluşumu için mitojeniktir. Epidermal büyüme faktörü (EGF), kemik yüzeyinden ayrılan hücrelerin remineralizasyonunu hızlandırır (41).

2.1.4. Kemik Zarları

Kemiklerin iç ve dış yüzeyleri kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakayla örtülür. Bütün kemikler iç yüzeylerinde endosteum (endost) ve dış yüzeylerde de periosteum (periost) adı verilen osteojenik hücrelere sahip zarlar ile örtülüdür (Şekil 2.2).



Şekil 2-2: Kemik zarlarının histolojik görüntüsü (15).

2.1.4.1. Periost (Periosteum)

Eklem yüzeyleri dışında kemiğin dış yüzeyini saran bağ dokusu tabakasıdır. Aralarında keskin bir sınır olmayan iki tabakadan meydana gelir; iç tabaka (stratum cambium) ve dış tabaka (stratum fibrosum). Tabakaların her birinin görevi farklıdır. Fibröz tabaka (dış tabaka) metabolizmada rol oynayan damarları ve lenfatikleri içerir. Osteojenik tabaka (iç tabaka) hücreleri ise kemik hasarında osteoblastlara dönüşerek yeni kemik oluşumunu gerçekleştirir. Kemik onarımında yardımcı olan bu hücreler normal koşullarda inaktiftir (42,43).

Periosteumun dış tabakası kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmaktadır. Demetler halinde periosteal kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periost ile kemik arasında bağlantıyı kurar. Hücreden daha zengin yapıdaki periosteumun iç kısmı, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme kapasitesine sahip olan yassı hücrelerden zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler; konumları, az miktardaki granüler endoplazmik retikulumları, az gelişmiş Golgi cisimcikleri ve yassı

görüntüleri ile karakteristiktirler. Kemiğin gelişimi ve onarımında önemli rol oynarlar (15).

2.1.4.2. Endost (Endosteum)

Endosteum, kan damarlarından zengin kemik dokusunun içinde yer alan tabakadır. Havers kanallarıyla birlikte kemiğin bütün boşluklarına uzanan ve kemiğin iliğini barındıran süngerimsi duvarları örten endosteum tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan meydana gelmektedir. Bu sebeple endost, periosttan daha incedir. Hem osteojenik hem de hemopoetik potansiyele sahiptir. Büyüme sürecinde endost aktiftir, osteoklastların kalsiyum gereksinime bağlı olarak aktivitesini devam ettirmesinden dolayı gelişim sona erdikten sonra da osteojenik etkinliğini sürdürmektedir (42).

Periost ve endostun temel işlevleri; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periost ve endostun korunmasına çok dikkat edilmelidir (44).

2.1.5. Kemik Tipleri

Makroskopik olarak incelendiğinde kortikal ve trabeküler olarak sınıflandırılan kemik, mikroskopik olarak primer (birincil, woven, olgunlaşmamış, yada örgün kemik) ve sekonder (ikincil, olgun, yetişkin) olmak üzere iki bölümde incelenir. Ayrıca kompozit ve bundle kemik tipleri de bulunmaktadır. Primer kemik kalıcı değildir ve yetişkinlerde zamanla sekonder kemiğe dönüşür (45).

2.1.5.1. Primer Kemik

Primer kemik, embriyolojik gelişim sürecinde kırık ve diğer nedenlerle ilgili onarım işlemlerinde ilk olarak ortaya çıkan kemik türüdür. Primer kemik yetişkinde kafatasındaki yassı kemik eklemlerinde, diş alveollerinde ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç bölge dışında, yerini 4 yaşından sonra lameller kemiğe bırakır. Yeniden yapılanma ile sekonder kemiğe dönüşür (46). Primer kemik kallus oluşumu gibi fizyolojik olaylarda görülebildiği gibi, osteosarkom, Paget hastalığı ve hiperparatiroidizm gibi patolojik oluşumlarda da görülür (47).

Primer kemik iyileşme sırasında büyük önem teşkil eder. Çok çabuk oluşabilmektedir. Günde 30-60 µm hızla oluşur. Hücre açısından zengindir, düzensiz,

rastgele yerleşmiş ince kollajen lifler içerir. Bu lifler kemiğe yapışır. Primer kemik dokusu oldukça az miktarda mineral içerir. Lamel içermez ve sekonder kemik dokusuna kıyasla yapısında daha fazla osteosit bulundurur. Organize olmayan bir yapıya sahip olduğundan biyomekanik olarak çok güçlü değildir. Hızlıca mineralize olarak iyileşme sırasında yerini sekonder kemiğe bırakır. Olgunlaşmamış yapıdaki bu doku implantın osteointegrasyonunda oldukça önemlidir (18).

2.1.5.2. Sekonder Kemik

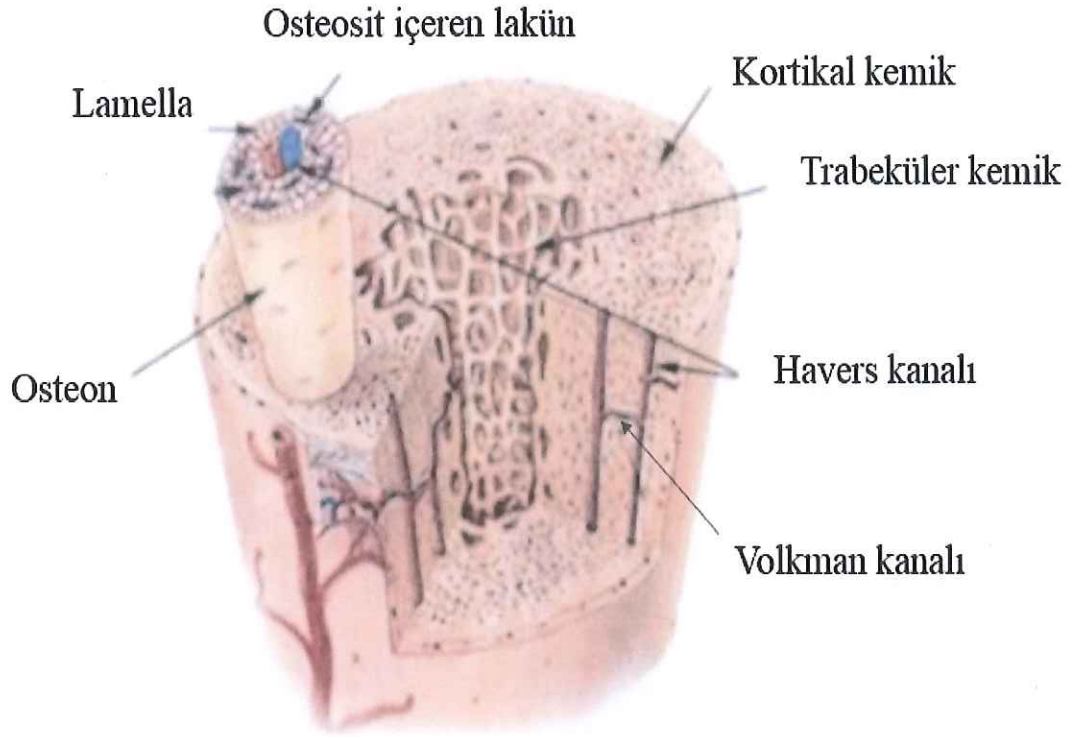
Lameller kemik veya olgunlaşmamış kemik olarak adlandırılan sekonder kemik çoğunlukla yetişkinlerde bulunmaktadır. Primer kemiğin remodelingi sonrasında, sekonder kemik Haversian kanalları etrafında paralel veya eşmerkezli dizilim gösteren 3-7 μ m kalınlığında lamellerden meydana gelmektedir. İçerisinde damar sinir paketi bulunan bu kanallar ve onları çevreleyen lamellere "Havers sistemi" veya "Osteon" adı verilir. Sekonder kemik matriksi primer kemik matriksine göre daha kalsifiye yapıdadır (41,45).

Çoğunlukla erişkinlerde bulunan kemik dokusunun spongioz (süngerimsi, kansellöz) kemik ve kortikal (kompakt, lameller) kemik olmak üzere iki türü vardır (48).

2.1.5.2.1 Kortikal Kemik

İskelet sisteminin %80'ini oluşturur; kemiklerin dış ve iç tabakalarını meydana getirir. Kortikal kemik vital organları korur, biyofonksiyonel kuvvetlere direnç gösterir, harekete olanak sağlar. (11)

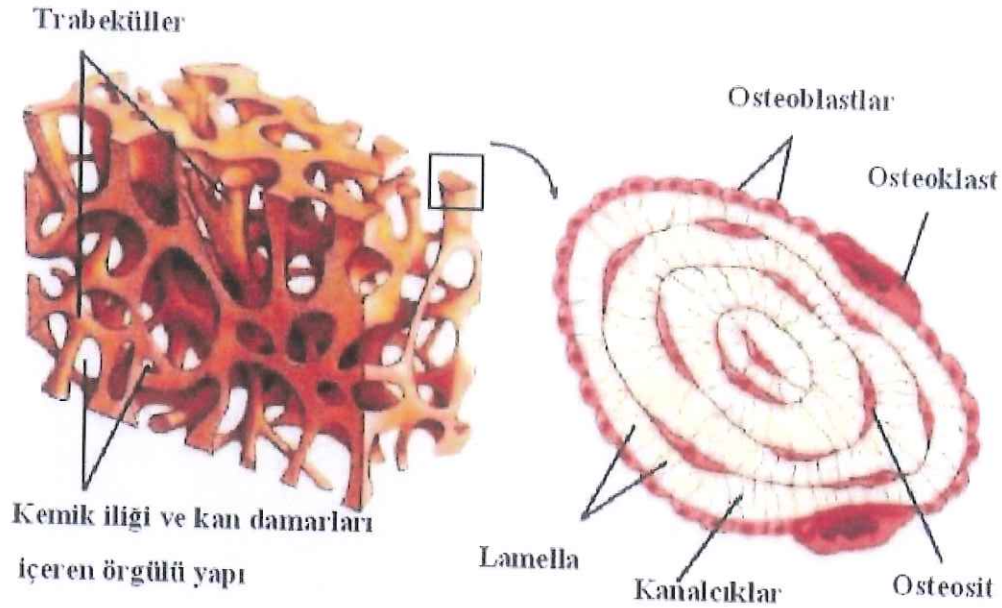
Kortikal kemiğin ana yapısı, "Haversian Sistem" olarak adlandırılan osteondur. Osteon; uzunlamasına çizgili vasküler haversian kanalları çevreleyen silindirik geometrili vasküler kemikten oluşmuştur. Horizontal dizilimli Volkman kanalları komşu osteonları birleştirir. Bu kanalların çevresinde herhangi bir lamel oluşumu bulunmamaktadır. Lameller yapının içerisinde osteositler bulunmaktadır. Havers ve Volkman kanalları ile osteositlerin kendi arasındaki iletişimini, kanalikülü adı verilen ayrı bir ağ sistemi sağlamaktadır. Kortikal kemiğin biyomekanik direnci, osteonları sıkı dizilimi ile ilişkilidir (15) (Şekil 2.3.).



Şekil 2-3: Havers Kanallarının Şematik Görünümü (15).

2.1.5.2.2. Kansellöz Kemik

İki kortikal kemik arasında sıkışmış süngerimsi kemiktir. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20'sini oluşturmaktadır. Üç boyutlu trabeküler kafes bu yapının temelini oluşturur. Kansellöz kemik kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımlarında ve yassı kemiklerin iç yüzlerinde bulunur. İçinde kan damarları ve sinirler bulunan ve birbiriyle anastomoz yapan ince kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküllerin aralarında kemik iliği ile dolu, düzensiz şekilli boşluklar vardır (15,49) (Şekil 2.4).



Şekil 2-4 Kansellöz kemik yapısının şematik gösterimi (15).

2.1.5.3. Kompozit & Bundle Kemik

Primer kemikten sekonder kemiğe geçiş esnasında lameller kemiğin woven kemik içerisinde görülebildiği geçiş dönemindeki kemiğe kompozit kemik adı verilmektedir. Bundle kemik ise ligamanların ve eklemlerin çevresinde çizgisel iç bağlantıları bulunan başlıca kemiktir (18).

2.1.6. Osteogenesis (Yeni Kemik Oluşumu)

Kemik dokunun oluşması olarak bilinen osteogenez, hem embriyonal dönemde normal iskelet yapısının oluşmasında hem de yetişkin dönemde kemik kırıklarının iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Kemikleşme hücrelerin göçü, çoğalması, farklılaşması, sentez ve salgılama yapımları ekstrasellüler mineralizasyon ve rezorbsiyon gibi birbirini izleyen, eş zamanlı, karmaşık bir dizi işlem sonucu gerçekleşen olaydır. İskelet gelişimi erken embriyonik ve fetal dönemde başlarken, büyüme doğumdan sonra adölesan döneme kadar devam eder (50).

Kemiğin şekillenmesinde iki yol bulunmaktadır; osteoblastların salgıladıkları matriksin direkt mineralizasyonu ile (İntramembranöz kemikleşme) veya önceden var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çöküşü ile (Endokondral kemikleşme) gerçekleşir. Bu her iki çeşit kemikleşme şeklinde de, ilk olarak ortaya çıkan kemik dokusu, primer veya olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusuna (lamelli kemik) bırakır. Büyüme

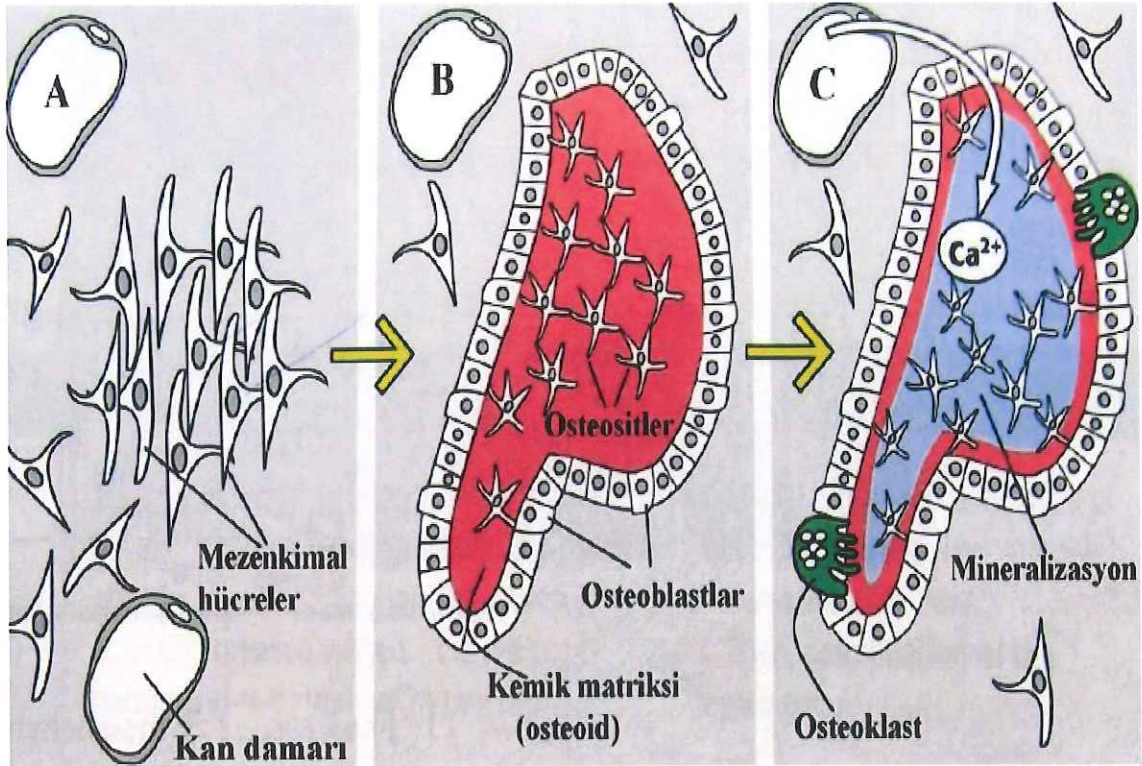
esnasında, primer kemik bölgeleri, rezorbe olan alanlar ve lamelli kemik yan yana görülür (15). Her iki tip kemikleşme işleminde de kemik matriks birikimi ve mineralizasyonu aynı yoldan gerçekleşir. Önce süngerimsi kemik oluşur. Oluşan bu kemiğin çoğunluğu daha sonra yoğun kompakt kemiğe dönüşür. Kemik bir kez oluştuktan sonra yaşam boyu dinamik durumunu korur. Bu sayede büyümeyi sağlar ve hemostaz için gerektiğinde mineral iyonlarını vermeyi sürdürür (50).

2.1.6.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu

İntramembranöz kemik oluşumu, mezenkim kökenli yoğun embriyonel bağ dokusunun içinde gerçekleşir. Mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. İntramembranöz kemikleşme kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında rol oynar (51).

İntramembranöz kemikleşmenin gerçekleşeceği bölgelerdeki mezenkim hücrelerinde fibroblastlar oluşur. Fibroblast hücreleri kollajen fibrilleri yapar ve membran şeklinde bağ doku alanları meydana getirir. Bu zar oluşumu sonrasında yine etraftaki mezenkim hücreleri, kemik hücrelerinin ana hücresi olan osteojenik ve osteoprogenitör hücrelerine dönüşür. Osteojenik ve osteoprogenitör hücreler genişleyip, polihedral bir yapı gösterir ve sitoplazmaları daha bazofilik olur ve artık bunlar osteoblast olarak adlandırılır. Yeni kemik matriksinin oluşmasını kalsifikasyon takip eder, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafları sarılır ve daha sonra bu hücreler osteosit haline gelir (43,52) (Şekil 2-5).

Doğumdan sonra kafatasının yassı kemiklerinin, hem iç hem de dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımının, yıkımına göre belirgin bir üstünlüğü vardır. Kafatası gelişmelere paralel olarak genişlemek durumundadır. Bu nedenle kafatası kemikleri sürekli iç yüzeylerinde osteoklastlar tarafından yıkılırken; aynı zamanda dış yüzeylerine osteoblastlar tarafından yeni kemik lamelleri eklenmekte ve böylece gelişme sona erdiğinde kompakt kemik şekillenmektedir. Bu şekilde iki tabaka kompakt kemik (iç ve dış tabakalar) ortaya çıkar ancak merkezi bölge süngerimsi yapısını sürdürebilir (53).



Şekil 2-5: İntramembranöz kemikleşmenin şematik gösterimi

- (A) Mezenkimal bağ dokusundan direkt olarak kemik şekillenmesidir.
- (B) Mezenkim hücreleri hızlı bölünme gerçekleştirir ve osteoprogenitör hücreye dönüşüp, sonra da osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirirler.
- (C) Kılcal damarlardan osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonları taşınıp, osteoblastların salgıladığı alkalin fosfataz yardımıyla kalsiyum fosfat moleküllerine farklılaşarak kalsifikasyonu gerçekleştirirler. Osteoklastlar kemikleri iç yüzlerinden rezorbe ederken osteoblastlarda bir taraftan yeni kemik lamelleri eklerler. Birincil kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar, geriye sadece ikincil kemik yapısındaki trabeküller kalır (43).

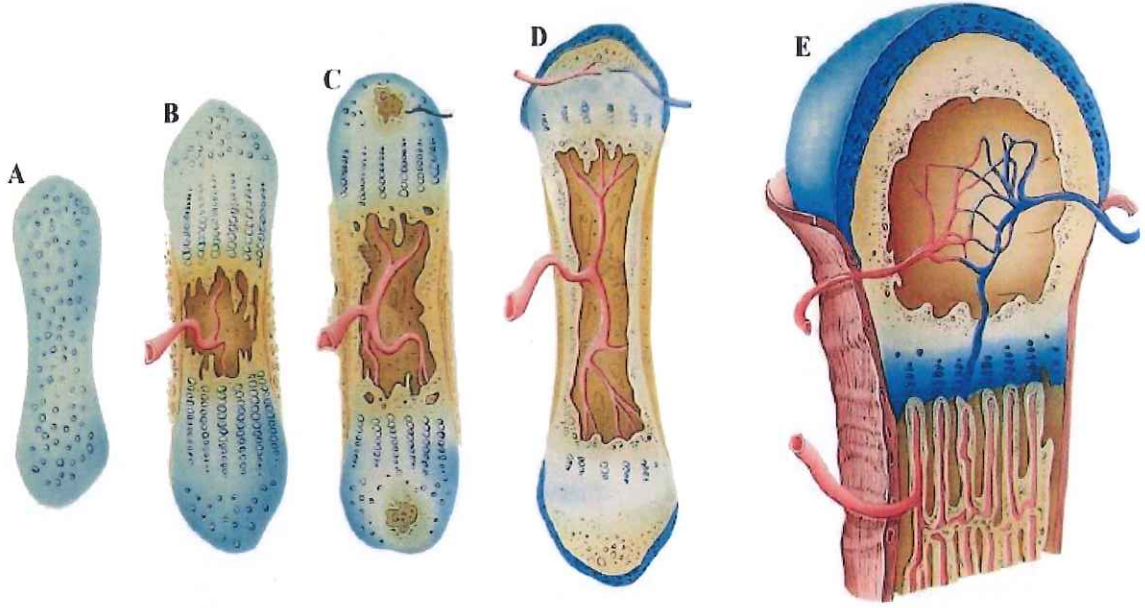
2.1.6.2. Endokondral Kemik Oluşumu

Emriyojenik yaşamda iskeletin büyük bir kısmı kıkırdaktan oluşur. Bu doku daha sonra rezorbe olur ve kemik ile yer değiştirir. Bu olaya endokondral kemikleşme adı verilir. Bu olay doğum öncesi başlar ve büyüme tamamlanıncaya kadar devam eder (54).

Bu sistemde kıkırdak şablonun yerini kemik doldurur. Endokondral kemikleşme sırasında da primer kemikleşme odağı oluşur. İntramembranöz kemikleşme ile endokondral kemikleşmenin birbirinden farkı endokondral kemikleşmedeki kemikleşme merkezinin kondrosit kökenli olmasıdır.

Kıkırdakın merkezinde bulunan kondrositler hipertrofik hal alırlar ve tip X kollajen içeren matriks salgılar. Hipertrofik kondrositler tarafından salgılanan anjiyojenik faktörler kan damarlarının oluşumunu başlatırlar. Osteoprogenitör hücreler ve hematopoetik hücreler yeni oluşan kan damarları ile birlikte buraya gelirler. Bu olayların sonunda primer kemikleşme odakları oluşmaya başlar. Kemikğin ortasında matriksin kalsifiye olmasından dolayı hipertrofik kondrositlere apoptosis gerçekleşir. Kan damarları daha önceden hipertrofik kondrositlerin konumlandığı boşluklara ilerleyerek anastomozlar yapar. Osteoprogenitör hücreler ve hematopoetik hücreler kalsifiye kıkırdakın çekirdeğine ilerlerler. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara farklılaşır ve kemik matriksini çöktürmeye başlarlar. Gelişimin bu aşamasında diafizde primer kemikleşme merkezi oluşur. İkincil kemikleşme odakları daha sonra epifizlerde gelişir. Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece kıkırdak bir disk kalır ki buna epifiz plağı denir. Kemikleşme sona erinceye kadar epifiz plaklarındaki kıkırdak hücreleri diafiz yönüne doğru bölünüp çoğalarak devamlı kıkırdak dokusu yapar, bu kıkırdak da devamlı olarak yerini kemik dokusuna bırakır. Bu şekilde kemikler belli bir yaşa kadar uzamaya devam eder. En son olarak da epifiz plakları da kemikleşir ve kemik büyümesi sonlanır (43,55) (Şekil 2.6).

Fonksiyonel streslerin etkisiyle, kıkırdak dokusu ve bunu çevreleyen düzensiz ağıs kemik yeniden şekillenerek kemikğin kompakt yapıda bir dış tabaka ve kansellöz yapıda bir iç tabakadan oluşmasını sağlar. Yaşlandıkça orta kısım rezorbe olarak kemik iliği ile dolu geniş çapta bir boşluk yapı şekline dönüşür (22).



Şekil 2-6: Endokondral kemikleşmenin şematik gösterimi

(A) Hyalin kıkırdak modeli

(B) Diyafiz kıkırdagını örten perikondriumun iç katındaki mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere, onlar da osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar üst üste yerleşen kemik lamellerini oluşturur. Böylece yeni kemiğin periosteumu ile kıkırdak dokusu arasında kemik manşet oluşur.

(C) Kemik manşet, kondrositlerin beslenmesini bozarak, kondrositlerde hipertrofiye, ardından ölümlerine neden olur. Kıkırdak modelin ortasında kemik iliği kavitesi oluşur.

(D) Kıkırdak modelin epifizleri ile diyafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yaparlar.

(E) Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır (55).

2.1.7. Kemik İyileşmesi

Dışarıdan veya içeriden gelen kuvvetler ile kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık adı verilir. Fizyolojik etkileşimler, bozulan kemiğin yapısının tekrar onarılmasına yöneliktir. Kemikte, skar dokusu kalmaz ve yeniden yapılanmayla iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık oluşması ile birlikte başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (56).

Kemik iyileşmesi, orjinal kemik yapı ve fonksiyonunu geri kazandırabilmek için karmaşık yenileyici uygulamalar içeren fizyolojik bir hadisedir. Kemiklerde meydana gelen iyileşme iki şekilde iyileşir:

- 1- Primer kemik iyileşmesinde, defekt bölgesinde herhangi bir dış kallus yapısı bulunmaz ve eksiklik intramembranöz kemikleşmeyle tamamlanır.
- 2- Sekonder kemik iyileşmesinde, organizma defekt bölgesini dışarıdan çevreleyen bir kallus oluşumu ile sabitleştirip, iyileşme bölgesini endokondral kemikleşme ile onarır (47).

Sekonder kemik iyileşmesi 4 evreden oluşur

- 1-İnflamasyon fazı
- 2-Granülasyon dokusu fazı
- 3-Kallus fazı
- 4-Remodelasyon fazı

2.1.7.1. İnflamasyon Fazı

Tüm doku travmalarında, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt inflamasyondur. İnflamasyon evresi, vazokonstriksiyon, vazodilatasyon, hemostaz, fagositöz, yeniden damarlanma ve granülasyon dokusundan oluşmaktadır. Kanama ve sonrasında oluşan hematoma çevre yumuşak doku bölgeleriyle sınırlanmış hipoksik asidik bir yapıdır. Hematom yarattığı basınç ile kırık uçlarını bir arada tutmayı sağlar. Açık kırıklarda, kırık hematomunun dışarıya boşalması ile kırık iyileşmesi gecikir. Hematom ile birlikte hücreler arası iletişim başlar. Ekstrasellüler matriksin proteolitik yıkımı sonucu kemotaktik kalıntılar monositleri ve makrofajları yara yatağına doğru çeker. Aktive olan makrofajlar fibroblast büyüme faktörünü salgırlar. Endotelial hücreler plazminojen aktivatör ve prokollagen sentezler. Degranülasyona uğramış trombositlerin alfa granüllerinden salgılanan büyüme faktörleri polimorfnükleer lökositler, lenfositler, monositler ve makrofajlar için yol göstericidirler. Bu dönemde oksijen seviyesinde ve pH derecesinde bir azalma olur, makrofajların ve polimorfnükleer lökositlerin görev yapabilecekleri bir ortam yaratılır. Polimorfnükleer lökositler mikrobiyal istilayı ve mikrobebrisi uzaklaştırırken makrofajlar birleşerek çok

çekirdekli dev hücreler oluşturur. Ayrıca makrofajlar birleşerek sellüler aktiviteyi, mitozu arttıracak faktörlerin salınımına yol açarlar (56,57).

İnflamatuvar dönem günlerce devam eder, bu sürede hematoma organize olur, fagositler ve lizozomal mekanizma ile nekrotik dokular uzaklaştırılır. Fibroblastların bölgeye gelmesi ile onarım fazı başlar (52).

2.1.7.2. Granülasyon Dokusu Fazı

Granülasyon fazı iyileşme sürecinde çok büyük öneme sahiptir. İlk olarak hematoma organizasyonu ile başlar. Lokal uyarılara yanıt veren öncü hücrelerin farklılaşmaya başlaması, oluşmuş olan hematoma organize etmeye başlar. Uyarılan prekürsör hücreler yeni damar oluşumu, fibroblast, intersellüler materyaller, destek hücreleri ve diğer hücrelere farklılaşır. Kemik iyileşmesini başlatan ve sonrasında kontrol eden lokal ve sistemik mediatörler osteoblastların, kondroblastların ve kondroklastların ne zaman, nerede, ne kadar yapılacağını, aktivitelerini ne kadar sürdüreceklerini ve bunun için gerekli olan enerji kaynağını belirlerler. Prekürsör hücrelerin organizasyonu ve farklılaşmasıyla oluşan yumuşak granülasyon dokusu iyileşme bölgesinde stabilizeye yardımcı olur. İnflamasyon safhasında olduğu gibi tamir sürecinde rol oynayan hücrelerin de mezenkimal kaynaklı olduğu, bunların kollajen, kıkırdak ve kemik dokusunun yapımında rol oynadığı belirtilmektedir (58).

Osteojenik hücrelerin çoğalma süreci ile eş zamanlı olacak şekilde kapiller tomurcuklanma başlar. İlk başta periostal damarlar, kapiller tomurcuklanmasına yardımcı olurlar fakat kapiller gelişimi osteojenik hücre gelişimi ile aynı hızda seyretmeyeceğinden beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın derin seviyedeki hücreler osteoblastlara dönüşür. Kemiğe uzak durumdaki granülasyon dokusu hattının üzerinde konumlanan hücreler dolaşım açısından fakirdirler. Bu bölgedeki kapiller gelişim hızı, hücre çoğalma hızı ile uyum göstermediğinden hücreler kondrositlere farklılaşır. Hattın dış yüzeyinde kıkırdak dokusu oluşur (59).

İyileşme hattında osteoblastların bulunduğu bölgede osteoid doku oluşur. Proteoglikanlar, polipeptidler, lipidler ve osteoblastların yüzeyinden salgılanan amorf madde osteoid dokuda özel moleküller halinde yerleşir. Organik matriks mineralizasyonuna uygun olacak şekilde özel yapılanma gösterir (46).

Osteoprogenitör hücreler ve fibrin matriksten kaynaklanan kıkırdak dokusu hücreleri prekondroblast, kondroblast, kondrosit ve hipertrofiye kondrosit evreleriyle çoğalıp olgunlaşırlar. Kondrositler kıkırdak matriksi yaparlar. Bu sayede osteoblast ve kondrositler tarafından yapılan osteoid doku ve kıkırdak matriks ileriki safhaya mineralizasyon için hazır hale gelmiş olur (46,59).

2.1.7.3. Kallus Fazı

Kallus fazında osteoid doku ve kıkırdak matriksin mineralizasyonu sağlanır. Osteoid doku mineralizasyonu osteoblastlar tarafından başlatılıp sürdürülür. Kalsifiye doku içerisinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşerek dağınık trabeküler kemik ağını yaparlar. Osteoblastlar tropokollajen salgılayarak kollajen liflerin dizilimini düzenlerler. Bunların üzerine kalsiyum iyonlarının çökelmeye başlamasıyla sert kallus oluşur. Kıkırdak dokuda alkalın fosfataz salgılanarak kıkırdak matriks kalsifiye hale gelir. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiklerinden ölmeye başlarlar ve bulundukları yerlerde lakünalar meydana gelir. Rezorbe olan kalsifiye kıkırdak matriks yerinde osteoblastlar tarafından osteoid doku ve fetal yeni kemik yapım sürecine bağlı olarak kıkırdak doku ile kemik dokusu yer değiştirir. Yaralanmadan sonra kallus mineralizasyonu için 4-16 hafta arasında zamana ihtiyaç vardır (52,58,60).

2.1.7.4. Remodelasyon Fazı

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup; aylar, yıllar sürebilir. Bu dönem güçlü ancak düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki saha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür. Kallus evresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir. Erişkin bir bireye ait kansellöz kemiğin kendini yenileme hızı 1-4 yıl, kortikal kemiğin ise 20 yıldır. Kemiğin tamamen kendisini yenilemesi kuvvetlere direnç göstermesine ve kalsiyum dengesinin iskelet sistemi tarafından karşılanmasına imkan sağlar.

Remodelasyon döneminde 4 hadise gerçekleşir:

- 1- Kalsifiye kıkırdak, osteoid dokuyla değişerek bir çeşit birincil trabekül doku oluşur.
- 2- Lameller kemik bu dokunun yerini alır.

- 3- Kompakt kemik uçlarındaki kallus, lameller kemikten yapılmış ikincil osteonla değişir. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik kuvvetlere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.
- 4- İlik kanalı dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus, osteoklastlar tarafından geri emilir ve boşluklar yeniden düzenlenir.

1892'de Wolf, iskelet sistemi yapısının, bu sistemin mekanik ihtiyacına uygunluk gösterdiğini, daha sonra kendi adıyla anılan kanun ile tanımlanmıştır. Wolf, işlev ile stres arasındaki bağlantıyı ortaya koymuştur. Bu kanuna göre kemiğin fonksiyonel durumundaki değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak değerlendirilmektedir. Fiziksel strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrik ile yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu konveks yüzde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu konkav yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Yani "kırıgın konkav tarafında kemikleşme, konveks tarafında geri emilim" olur. Bunun sonucu olarak da kemik kırık öncesi orijinal şeklini alır (44,56,61).

İnsanlarda aktivasyon-rezorpsiyon-formasyon prosesi 3-6 ay sürer ve bu süre sigma olarak bilinir. Sigma köpeklerde 3 ay, sıçanlarda ve tavşanlarda ise sadece 6 haftadır (39).

2.1.8. Dış Çekim Yarası İyileşmesi

İyileşmesi özelleşmiş sekonder yara iyileşmesine iyi bir örnek gösterilebilir. Çekim işlemi sonrasında açığa çıkan periodontal ligament damarlarında kanama meydana gelmekte ve çekim soketi kanla dolmaktadır. Sonrasında desteksiz dişeti, açılan çekim yarasına doğru çökmektedir. Bu sayede pıhtının korunması ve mukoza yarasının küçülmesi sağlanmaktadır (62).

Dış çekimi sonrası sırasıyla iyileşme:

- 1- Çekim sonrası kemik oluşumunda ilk yirmi dört saat içerisinde pıhtı oluşumu ve hemolizin başlaması.
- 2- İki, üç gün içerisinde pıhtının kontrakte olması ve yerini granülasyon dokusunun alması.

- 3- Üçüncü günden sonra fibroblast yoğunluğunun artması ve yara kenarından epitel proliferasyonu.
- 4- Birinci hafta sonunda soketin apikalinde osteoid oluşumu ve yaranın epitel ile örtülmesi.
- 5- Birinci ay sonunda trabeküler yapıda kemik oluşumu ve yaranın epitel ile tamamen örtülmesi.
- 6- İkinci ayın sonunda çekim boşluğu içerisinde kemik oluşumunun tamamlanması şeklindedir (63).

Tüm bu olaylara bağlı olarak çekim bölgesi çekimden 4 ya da 6 ay sonra radyograflerde ayırt edilemez (62).

2.1.9. Kemik İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kemik iyileşmesinde mikro ve makro çevre koşulları rol oynamaktadır. Kemiğin maruz kaldığı fiziksel kuvvetler, ortamın pH'ı, kanlanma miktarı, mikro hareketin varlığı, mevcut periostun durumu ve enfeksiyon varlığı kemik iyileşmesini etkileyen önemli faktörlerdendir. Bunun yanı sıra kırık uçların uç uca gelmemesi, yetersiz immobilizasyon, beraberindeki yumuşak doku yaralanması da iyileşmede etkilidir. Bu faktörler lokal ve genel faktörler olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir (64).

2.1.9.1. Lokal Faktörler

- 1- Travmanın şiddeti.
- 2- Kırık uçlarının birbirine göre durumu.
- 3- Kırılan kemik türü (spongiyöz veya kortikal).
- 4- Kırık çizgisinin yönü (enlemesine, spiral, oblik).
- 5- Kırık türü (tam, parçalı).
- 6- Kırık tipi (açık, kapalı).
- 7- Enfeksiyon.
- 8- Dejeneratif, metabolik, tümoral, enfeksiyon veya radyoterapi gibi nedenlerle lokal direncin azaldığı durumlar.
- 9- Yeterli, yetersiz tespit.

10- Kırık bölgesinde herhangi bir sinirin zarar görmesi.

11- Düşük dozda lazer uygulaması.

12- Düşük şiddette ses dalgaları olarak sıralanabilir. (11)

2.1.9.2. Genel Faktörler

Genel durum: Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kemik iyileşmesini geciktirir. İltihabi durumlar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi hastalıklarındaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur.

Yaş: Azalan yaş ile bağlantılı olarak mezenkimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kemiğin yeniden şekillenmesi hızlanır (56).

Vitaminler: A vitamini normal dozda mezenkimal hücre farklılaşmasını uyarak kemik iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve yeni kemik oluşumu engellenir. A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırıkta kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma fazla uyarılır ve kemik iyileşmesi gecikir. C vitamini dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler. D vitamini bağırsak ve böbrekteki kalsiyuma bağlanan proteinleri uyarır ve aktif kalsiyumun taşınmasını kolaylaştırır. D vitamini eksikliğinde kalsiyum düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. D vitamini normal dozda kemik iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda yavaşlatır (65).

Sigara: Sigaranın kemik defekti iyileşmesini güçleştirdiği deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda nikotinin kallus oluşumu, kortikal yeniden şekillenme ve fiziksel özellikler üzerinde olumsuz etkileri belirtilmiştir. Nikotinin damarlanmayı engelleyici etkisinden dolayı iyileşmenin olumsuz etkilendiği düşünülmektedir (66).

İlaçlar: Kondroitin sülfat, hyalüronidaz kemik iyileşmesine olumlu etki eder. Nonsteroid antienflamatuarlar; prostoglandin inhibisyonu sonucunda lokal kan akım hızını azaltarak veya primitif osteoblastların fonksiyonunu engelleyerek kemikleşmenin uzamasına neden olurlar. Kortikosteroidler mezenkimal hücrelerden osteoblast gelişimi

ve matriks oluşumunda kullanılan enzimlerin sentezini yavaşlattıklarından dolayı kemik iyileşmesini geciktirirler. Kemoterapi için kullanılan sitotoksik ilaçların kemik oluşumu üzerine olumsuz etkisi vardır. Deneysel çalışmalarda, methotreksatenin çok düşük dozlarda bile kemik oluşum hızını yavaşlattığı bildirilmiştir (67,68).

Elektriksel Uyarı: Elektriksel uyarının da kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmesinde etkin rol oynadığı düşünülmektedir (67).

Hiperbarik Oksijen: Günde 2 saat kadar 2-3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulamasının kemik iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kemik iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (56).

Hormonlar: Paratiroid hormonun (PTH), osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyarak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Osteoblastların üzerine dolaylı etkisi olsa da, sonuç olarak kemik kaybı ve kemik iyileşmesinde azalma görülür. Kalsitonin PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Tiroid hormonu da paratiroid hormonu gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardımcı olur. İnsülin ve büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kemik iyileşme hızını arttırmaktadır. Büyüme hormonu ve diğer anabolizan hormonlar, proteine bağlı kalsiyum artışını etkileyerek kemik iyileşmesine olumlu etki yapar (37, 56).

2.1.10. Kemik Defekti İyileşmesi Komplikasyonları

Ağız boşluğu ve çeneler bölgesinde gerçekleştirilen cerrahi işlemler sonrası oluşan defektlerle, hastalarda fonksiyon, fonasyon, estetik ve sosyal açılardan problemler oluşabileceği için postoperatif iyileşme çok önemlidir (69).

Kemik defektlerinin iyileşmesi sırasında görülen en önemli sorunlardan biri kemik iyileşmesinin istenildiği şekilde olmamasıdır. İyileşme bozukluklarına özellikle bikortikal kemik defektlerinde sıklıkla rastlanılabilir. Kemik defektlerinin iyileşme sürecini engelleyen etkenlerden biri mevcut kemik boşluğunun yumuşak bağ dokusu hücreleri tarafından doldurulmasıdır. Bu sebeple kemik iyileşmesinin bağ dokusuna özgü bir olay olduğunun ve bu iyileşmenin osteoblastları içeren hücresel proliferasyonu gerektirdiğinin bilinmesi önemlidir (70).

Kemik defektinde ilk olarak pıhtı oluşumu gözlenmekte, birkaç hafta içerisinde pıhtı osteojenik özelliği olan granülasyon dokusuna ve yenik kemik dokusuna

dönüşmektedir. İyileşmenin tam olarak gerçekleşmediği çok geniş defektlerde, boşluğun skatrisyel bağ dokusu ile dolduğu ve kemik iyileşmesinin uzun süreler sonrasında bile tam olarak gerçekleşmediği, özellikle; hem iç hem dış korteksin zarar gördüğü geniş kemik defektlerinde kavitenin fibrotik doku ile dolduğu deneysel olarak gösterilmiştir (71).

2.1.11. Kemik İyileşmesinin Kontrolü

Büyük kemik defektlerinde başlangıçta osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için ortamda yeterli sayıda bulunmazlar. Bu dönemde kemik iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ve yerel aracılı sistemler tarafından gerçekleştirilir. İyileşme bölgesinde yerel olarak üretilebilen ya da kan dolaşımı ile gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici faktörlere gerek duyulmaktadır. Bu etkenler arasında prostaglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir (42,56,72).

Prostaglandinler, hücre membranında bulunan araşidonik asitten oluşan yağ asitleridir. Araşidonik asitten siklooksijenaz enzimi aracılığıyla herbiri doymamış bağlantıya sahip iki yan zincirle birlikte bir veya iki halka yapıdan meydana gelen değişik prostaglandinler oluşur. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında salgılanır. Enfeksiyon hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut enfeksiyon reaksiyonunun önemli araçlarıdır. Güçlü vazodilatör etkiye sahiptirler. Hücre çoğalmasını hızlandırırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır (56,67).

TGF- β , dönüştürücü büyüme faktörüdür. İltihap ve doku tamirinden sorumludur. Tüm hücreler moleküler formlarının birinde TGF- β oluştururlar ve tüm hücreler bu faktörün reseptörüne sahiptir. Makrofajlar tarafından salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Bağ dokusunda hasara neden olan proteolitik enzimleri baskılar. Sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumuna etki eder (37,42, 72).

BMP, kemik morfogenetik proteindir. Düşük molekül ağırlıklı glikoproteinler olup mitojenik ve dönüştürücü yapıdadır. Mezenkimal hücrelerin kıkırdak ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına yol açtığı ileri sürülmüştür. BMP kemik gelişimi için bazı genleri aktive etmekte ve kırık iyileşmesinde indüksiyon ile yeni kemik formasyonunu sağlamaktadır. Yapılan araştırmalarda, kemiğin yaralanmasının mezenkimal hücreleri etkilediği ve bu

hücrelerin yaralanma bölgesine göç etmelerini sağlayacak mekanizmayı uyardığı düşünülür. Kemik yaralanması sonrası yapısı bozulan kemikten veya rezorbe olan matriksten ortama salınan BMP'lerin bu mezenkimal hücre hareketinde önemli bir yere sahip oldukları düşünülmektedir. Mezenkimal hücreler yaralanma bölgesinde proliferasyon olup farklılaşmalarını gerçekleştirerek osteoblastik hücrelere dönüşürler. Yeni gelişen osteoblastik hücrelerden üretilen BMP'ler bu yapıyı kuvvetlendirerek kemik iyileşmesini arttırırlar (73,74).

FGF, fibroblast büyüme faktörü mitojenik polipeptid ailesindendir. Keratinosit, fibroblast, endotelyal hücreler, düz kas hücreleri, iltihabi hücreler, osteoblastlar ve kondrositler tarafından üretilmektedir. Akut yaralanma durumunda sayıları artan FGF, granülasyon doku oluşumu, reepitelizasyon ve remodelasyon işlemlerinde keratinositlerin migrasyonunun ve proliferasyonunun uyarılmasında etkilidir (75,76).

PDGF, trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotelyal hücreler üzerinde kemoatraktan ve mitojenik etki göstermekte, bunun yanı sıra bu hücreleri fibronektin ve hyalüronik asit sentezi için uyarmaktadır. Trombositler içerisindeki granüllerde yoğun bir şekilde bulunmasından dolayı erken yara iyileşmesi döneminde yüksek oranda bulunmaktadır. Granülasyon dokusunun formasyonunu stimüle ederek kemik yenilenmesine ve yara iyileşmesine yardımcı olmaktadır. Yapılan çalışmalarda rekombinant yolla elde edilen PDGF'nin cerrahi yaralarda gerilim gücünü arttırdığı ve fleksör tendon onarımlarından sonra lokal olarak uygulandığında fiziksel gücü arttırdığı bildirilmiştir (77,78).

İnterlökinler, makrofaj ve monosit kökenlidir. İnterlökin-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler (56).

IGF, insüline benzer bir büyüme faktörüdür. Fibroblast, kondrosit, keratinosit, osteoblast hücreleri gibi pek çok hücre tipinin çoğalmasını sağlayarak büyümeyi uyarıcı etki gösteren IGF, kemik matriksinde en yüksek oranda bulunan büyüme faktörüdür. Kemik oluşumunu otokrin yol ile regüle eden IGF'ler kemik matriksi içerisinde saklanırlar. Kemik matriksi rezorbe olduğunda kemik oluşumu için ortaya çıkarlar. En önemli işlevleri osteoblastların mitogenezisini sağlamalarıdır. Osteoblastların hem büyümesini hem de preosteoblastların, osteoblastlara dönüşmesini sağlayan IGF'ler osteoblastlardan tip 1 kollajen salınımını da arttırırlar. IGF ilk olarak osteoblastlar ve

trombositler olmak üzere makrofaj ve monositlerden de salgılanabilmektedir. Diğer büyüme faktörleri sadece lokal ya da bölgesel düzeyde etki gösterirken bu büyüme faktörü birçok hücre ve dokuda metabolik aktiviteyi ve büyümeyi artırma özelliğine sahiptir (79,80).

EGF, epidermal büyüme faktörüdür. Yara iyileşmesinin erken safhalarında fibronektin gibi proteinlerin üretimini ve epitel göçünü uyarır. Trombositler, makrofajlar, ve fibroblastlar tarafından salınırlar (75).

VEGF, vasküler endotelyal büyüme faktörü en kuvvetli fizyolojik ve patolojik anjiyogenezis uyarıcısıdır. Salınımı diğer büyüme faktörlerinin salınımını başlatır. Direkt olarak mitotik etkiye sahiptir. Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotelyal hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında etkilidir. Damarsal permeabiliteyi arttıran VEGF kemik iyileşmesi bölgesine osteoblastlar, osteoklastlar ve mezenkimal hücrelerden yoğun olarak salınır. Kırık hattında yeni vasküler oluşumu arttırarak kemik iyileşmesinde önemli rol oynar (81,82).

2.1.12. Kritik Boyutlu Kemik Defekti Kavramı

Ağız ve çeneler bölgesinde; konjenital olarak veya hastalık nedeniyle ya da bu hastalıkların tedavisine yönelik cerrahi girişimler sonucu estetik, fonksiyon ve fonasyonu etkileyen çeşitli defektler ortaya çıkabilmektedir. Greft ve implant gibi osteoindüktif veya osteokondüktif ajanlar rekonstrüktif cerrahide, hem defektlerin tedavisi hem de kemik ogmentasyonu için kullanılmaktadır. Uzun kemiklerde ve kraniyofasiyal kompleksde, kemik rejenerasyonunu arttırdığı öne sürülen farklı materyallerin etkilerini değerlendirmek için çeşitli deneysel yaklaşımlar kullanılmasına rağmen; araştırmacılar arasında uygun hayvan modelinin seçilmesi konusunda tam bir görüş birliği bulunmamaktadır (2,83,84).

Araştırmalarda kontrol amacıyla seçilen defektler genellikle spontan olarak iyileşebilmektedir. Genç hayvanlarda bu iyileşme yaşlılara kıyasla daha iyidir ve bu nedenle de tercih sebebi olmaktadır (85).

Bir kemik defektinde gerçekleşecek iyileşme boyutu, büyük ölçüde defektin büyüklüğüne bağlıdır. Bu nedenle iyileşmenin değerlendirilmesi için kullanılan deneysel kemik defekti, spontan iyileşmeye engel olmak için yeteri kadar büyük olmalıdır ancak bu durumda bir implant veya greftin osteojenik potansiyeli tam olarak

değerlendirilebilir. Bu özelliklere sahip deneysel kemik defekti kritik boyut defekti olarak belirtilmiştir ve osteojenik materyallerin değerlendirilmesinde standart bir model olarak Hollinger ve Kleinschmidt tarafından önerilmiştir. Kritik boyut defekti bir hayvan türü ve o hayvan türündeki ilgili kemikte, hayvanın hayatı süresince spontan olarak iyileşemeyecek en küçük boyutta kemik içi yara olarak tanımlanabilir. Aynı zamanda pek çok çalışmada sürenin sınırlı olması ve hayvanın tüm hayatı boyunca uzatılamamasından dolayı hayvan çalışmalarında kritik boyut defekti, çalışmanın süresi boyunca iyileşemeyen defektleri ifade etmektedir. Kritik boyut defektinden daha küçük defektlerin çalışmanın süresi içerisinde spontan iyileşmesi gerçekleşmektedir (83,84,86,87).

Kritik boyut defekt çalışmalarının yapıldığı anatomik bölgeler kalvarya, mandibula ve tibia gibi uzun kemiklerdir (86,87).

Kemik defektinde gerçekleşen kemik iyileşmesi, defektin büyüklüğüne ve hayvanın türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Çeşitli kaynaklarda farklı rakamlar verilebilmektedir. Sıçan tibiasında oluşturulan defektlerde kritik boyutta kemik defektinin 3 mm olduğunu bildiren çalışmalar olduğu gibi; 4 mm olduğunu belirten çalışmalar da bulunmaktadır (88,89,90).

Hayvan modelleri kullanarak kontrol gruplarının standardize edildiği kritik boyutlu kemik defekti konsepti, yeni bir greft materyali ve maksillofasiyal bölgede kullanılan kemik greft materyallerinin etkinliğinin değerlendirilmesi için kullanılabilir bir modeldir (84,86).

2.1.13. Kemik Dokusunun İncelenmesi

Kemik dokusunun histopatolojik olarak incelenmesi için iki yöntem tercih edilmektedir. Kemik dokusu sert bir doku olduğundan diğer dokulara göre farklı uygulamalar sonrası incelemeye alınır.

Masserasyon yöntemi kemiğin kurutularak incelenmesini içerir. Kemiğin kurutulma aşamasında organik yapı çürütülür. Kemikten kesilen küçük parçalar, bileme veya zımpara ile aşındırılarak iyice ince bir hal alması sağlanır. İnceltelen parça lam-lamel arasına konur ve incelenir, çürüten organik maddeler (kanalcıklar ve lakünalar) boş olacağından bu bölgeler siyah görüntü verirler. Dekalsifikasyon yöntemi ise; kemik dokunun kimyasal ajanlarla, asitler ile kesilebilir düzeyde yumuşatılmasını sağlayan bir

yöntemdir. Yumuşama işleminden sonra bilinen uygulamalar dahilinde kesilerek histopatolojik inceleme gerçekleştirilebilir (91).

2.2. Biyomateryaller

Önceleri, canlı dokuya yerleştirilmiş her türlü doğal ve yapay materyaller "biyomateryal" olarak adlandırılmaktaydı; fakat bu çok geniş bir tanımdı. "Sağlıkta Uzlaşma ve Kalkınma Konferansı Ulusal Enstitüleri" (The National Institutes of Health Consensus Development Conference)'nin yaptığı bir açıklamada biyomateryallerin tanımı şu şekilde yapılmıştır: Vücudun tamamını veya bir sistemini tedavi etmek; doku, organ veya vücudun bir fonksiyonunu yerine koymak amacıyla kullanılan ilaç harici doğal veya yapay herhangi bir veya birden fazla maddenin karışmasından oluşan materyallerdir (92).

Biyomateryal uygulamaları milattan önceki yıllara dayanmaktadır. Çinliler, Aztekler ve Romalılar 2000 yıldan uzun bir süre zarfında dokuların onarımında tunç ve bakır kullanmışlardır. 18. yüzyılın sonlarında ve 19. yüzyılda kemik fraktürlerinin fiksasyonunda demir, altın, gümüş ve platin gibi çeşitli metaller denenmiştir. Yakın dönemde ise 1947 yılında J. Cotton'ın titanyum ve titanyum alaşımlarını tanıtmaları ile biyomateryaller alanında önemli bir aşama gerçekleştirilmiş oldu. Titanyumun implant materyali olarak ilk kez kullanımı, 1969 yılında biyomateryal dalının öncülerinden olan Branemark tarafından gerçekleştirilmiştir (93,94).

Biyomateryaller, canlı doku veya fizyolojik sıvılara temas ettiğinde çevresiyle birtakım etkileşimler gerçekleştirir. Hench'e göre biyomateryaller doku etkileşimlerine göre üç gruba ayrılmaktadır (95):

- 1- İnert biyomateryaller,
- 2- Rezorbe olabilen biyomateryaller,
- 3- Biyoaktif biyomateryaller.

Doku içerisine yerleştirilen bir biyomateryalde fiksasyon dört şekilde sağlanır (96):

- 1- Morfolojik Fiksasyon: Materyalin konak dokuya pasif olarak temas etmesi veya arayüzde mekanik kilitlenme olmasıdır.
- 2- Biyolojik Fiksasyon: Materyalin yüzeyinin pürüzlendirilerek ilgili bölgede dokunun büyümesinin sağlanmasıdır.
- 3- Biyoaktif Fiksasyon: Materyal ve konak doku arayüzünde meydana gelen çeşitli kimyasal reaksiyonlar sonucunda materyalin konak dokuya bağlanmasıdır.
- 4- Son olarak da belirtilen tüm yöntemlerin birlikte kullanılmasıdır.

2.2.1. İnert Biyomateryaller

Bu maddeler kemik doku içine konulduklarında iyileşme sürecinde çevrelerinde fibröz bağ dokusu oluşmaz ve kemik dokusu ile arasında direkt temas meydana gelir, "temas veya kontakt osteogenezisi" söz konusu olur. Yabancı iyon salınmadığı için, materyal ile kemik arasında reaksiyon gerçekleşmez. İnert materyaller, vücut ortamının yüksek derecede koroziv ortamına uzun süre direnç gösterebilirler ve materyale karşı biyolojik yanıt neredeyse oluşmaz (93).

İnert biyomateryallere örnek olarak çoğu seramik çeşidi, titanyum ve titanyum alaşımları, alumina, karbon, polimer, krom-kobalt ve krom-kobalt-molibden alaşımları gösterilebilir (97).

2.2.2. Rezorbe Olabilen Biyomateryaller

Rezorbe olabilen materyaller çözüldükçe yerini konak doku doldurmaktadır. Bu materyaller geçici dolgu malzemesi olarak dokuları birbirine bağlamak, zayıflamış dokuları geçici olarak güçlendirmek ve bu şekilde dokulara destek olmak amacıyla kullanılmaktadır. Çözünen materyal ile yeni doku oluşum hızı aynı olmalıdır, ayrıca materyalin çözünme ürünleri fizyolojik olarak kabul edilmelidir. Rezorbe olabilen biyomateryal olarak ilk kullanılan madde, poliglikolik asit (PGA) idi ve tamamen sentetik olup, sütür malzemesi olarak kullanıldı (93).

2.2.3. Biyoaktif Biyomateriyaller

Bu materyaller dokuya yerleştirildiği zaman bir seri biyofiziksel ve biyokimyasal tepkime gerçekleştirerek doku ile materyal arayüzünde mekanik olarak güçlü bir bağlantı gerçekleştirirler ve "biyoaktif materyaller" olarak isimlendirilmektedirler. Kemik dokusu içerisine yerleştirildiklerinde, iyileşme süreci içerisinde doku ile kimyasal olarak bağlanırlar yani "birleşme osteogenezisi" söz konusudur. Bu maddelerin amacı, ilgili alanda kemik hücrelerinin mitotik aktivitesini arttırarak, iyileşmeyi ve yeni kemik oluşumunu hızlandırmaktır. Hidroksiapatit (HA) ve Trikalsiyum fosfat (TCP) bu gruba örnek gösterilebilir (24).

Arayüzdeki kimyasal ve biyolojik davranışlarına göre biyoaktif materyaller iki gruba ayrılmaktadır: Sınıf A (Osteoprodüktif) materyaller, Sınıf B (Osteokondüktif) materyaller.

Sınıf A biyoaktif materyaller, materyal yüzeyinde serbest stem hücrelerinin kolonize olmasına neden olurlar, böylece arayüzde hem ekstra hemde intrasellüler yanıt oluşturlarken, Sınıf B materyaller arayüzde sadece ekstrasellüler yanıt oluşturlar. Günümüzde biyoaktif materyallerin çok az bir kısmı osteoprodüktif aktivite göstermektedir (örneğin HA'lar), kalan kısmı ise tamamen osteokondüktiftir (örneğin biyoaktif camlar ve cam- seramikler) (93).

Biyomateriyaller, meydana getirdikleri doku etkileşimleri, biyoaktivite ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tıpta ve diş hekimliğinde geniş bir uygulama alanı bulmuşlardır. Son yıllarda canlı doku veya doku sıvılarıyla temasında çevresi ile birtakım biyofiziksel ve biyokimyasal tepkimeler gerçekleştirerek hem doku iyileşmesini hızlandıran hem de antimikrobiyal etki sağlayan biyomateriyallerin kullanımı tercih edilmeye başlanmıştır (95,98).

2.3. Kemik Greftleri

Greft terimi, canlı dokunun transplantasyonu ve organların kazanılmış veya konjenital defektlerin rekonstrüksiyonunda yer tutucu özelliğinin yanı sıra kemik yapımını uyaran tüm materyaller için kullanılmaktadır (99).

İskelet sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi oral ve maksillofasiyal bölgenin travmatik, dejeneratif, enfeksiyöz, kistik ve neoplastik lezyonlarının oluşturduğu akkiz ve konjenital kemik deformitelerinin yeniden yapımında estetik,

fasiyal kontur ve fonksiyonu da sağlayabilmek için kemik greftlerine gereksinim duyulmaktadır (100).

Greft materyallerinin mekanik ve biyolojik görevleri bulunmaktadır. Kemik greftlerinin fiziksel görevleri; iskeletsel defektlerin yeniden yapılanması, kırık tamiri ve kemik tümörlerinin çıkarılmasından sonra ortaya çıkan defektin doldurulmasıdır. Biyolojik fonksiyon ise kemiğin iyileşmesini ilgilendirir. Bu biyolojik aktivite canlı hücreler ile onların ürünlerini, çevre dokuların biyoaktif faktörlerle aktif hale getirilmesini, alıcı dokunun gelişiminin desteklenmesini ve bütünlüğünün korunmasını içermektedir (101).

İmmünolojik yapılarına göre kemik greftleri 4 grupta sınıflandırılmaktadır (102);

- 1- Otojen kemik grefti, canlının kendisinden alınıp tekrar kendisinde kullanılan greftlerdir.
- 2- Allojen kemik grefti, aynı türden fakat genetik açıdan alıcıyla farklı canlıdan elde edilen greftlerdir.
- 3- İzogen kemik grefti, alıcıyla aynı genetik yapıya sahip canlıdan elde edilen greftlerdir.
- 4- Ksenojen kemik grefti alıcıdan farklı türdeki canlıdan elde edilen greftlerdir.

İlk kemik grefti uygulaması, 1668 yılında Job Van Meekren tarafından köpek kafatasından bir parça kemiğin, insan kafatasındaki defekte nakli ile gerçekleştirilmiştir. 1864 yılında Nussbaum insanda ilk başarılı otogreft uygulamasını, 1881 yılında ise Macewen ilk başarılı allogreft uygulamasını gerçekleştirmişlerdir. Takiben ilk başarılı seriler 1908'de Lexer tarafından, ilk çok sayılı başarılı seriler ise 1923'de Albee tarafından sunulmuştur. 1950'li yıllarda Herndon ve arkadaşlarının allogreft immünolojisi üzerine yaptıkları çalışmalarda; dondurma işleminin allogreftlerin antijenik özelliklerinin azalmasını sağladığını bildirmesiyle, allogreftlerin klinik kullanımı artmıştır. 1965'de Smith'in kondrositlerin korunarak saklanma yöntemlerini geliştirmesi ile osteokondral greftlerin kullanımında önemli aşamalar kaydedilmiştir (103).

2.3.1. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Uygulanan Greft Endikasyonları

Oral ve maksillofasiyal cerrahide en çok kullanılan greft endikasyonları şu şekilde sıralanabilir (104,105):

- 1- Çapı 2 cm'den büyük olan odontojen ve nonodontojen kistlerin enükleasyonundan sonra oluşan geniş kemik defektlerinde, kistektomi ve kistektominin bilinen dezavantajlarının engellenmesinde,
- 2- Travma ve cerrahi sonucu oluşan kemik defektlerinin düzeltilmesinde,
- 3- Dental hastalık sonucu ortaya çıkan kemik defektinin restore edilmesinde,
- 4- Alveoler kretin yükseklik ve genişliğini korumak için çekim boşluğunun doldurulmasında,
- 5- Alveol kretinin düzeltilmesi ve yeniden şekillendirilmesinde,
- 6- Ortognatik cerrahide yarık damak olgularının tedavisinde,
- 7- Kemik içi implantların etrafında oluşan defektlerin onarımında,
- 8- Çok parçalı çene kırıklarında ve kırık hatlarında oluşan psödoartrozların tedavisinde,
- 9- Periodontitis nedeniyle oluşan kemik dokusu kayıplarında,
- 10- Atrofik mandibula ve maksilla olgularında burun tabanı, canalis mandibularis ve sinüs maksillaris gibi anatomik oluşumların kemik içi implant ve protez uygulamalarına engel oluşturduğu durumlarda alveol genişliği ve yüksekliği arttırılmasında,
- 11- Trigeminal nevralji vakalarında, periferik nörotomiye takiben sinirin yeniden rejenere olmaması için foramen infraorbitale, foramen incisivum ve foramen mentalenin tıkanmasında kemik greftlerini uygulayabiliriz.

2.3.2. İdel Kemik Greft Materyalinin Taşınması Gereken Özellikler

İdeal greft materyalinin özellikleri şu şekilde sıralanabilir (106):

- 1- Antijenik özellik taşımamalı,
- 2- Osteogenezisi, osteoindüksiyonu ve revaskülarizasyonu kolaylaştırmalı,
- 3- Tek aşamalı cerrahi işlemle yerleştirilebilmeli,

- 4- Uygulaması kolay ve ucuz olmalı,
- 5- İstenilen miktarda elde edilebilmeli,
- 6- Termal olarak non-kondüktif olmalı,
- 7- Radyolusent bir görünüm vermeli,
- 8- Allerjik reaksiyon oluşturmamalı,
- 9- Uzun saklama süresine sahip olmalı,
- 10- Alıcı sahaya uyumlu olmalı,
- 11- Karsinojenik ve toksik olmamalı,
- 12- Sterilizasyonu kolay ve etkili olmalı,
- 13- İstenilen forma getirilebilmelidir.

2.3.3. Greftin Başarısını ve Devamlılığını Etkileyen Faktörler

2.3.3.1. Vasküler Destek

Sağlam vaskülarize bir kemik yatağı, serbest kemik grefti için en uygun yeniden damarlanma koşullarını sağlar. Eğer greftin alıcı kemiğe temas eden yüzeyi yetersizse; iyileşme sürecinde sorunlar oluşur. Defektin spontan iyileşme derecesinin yüksek olması durumunda herhangi bir kemik grefti kullanılabilir. Vaskülarize greftler alıcı bölgenin vaskülarizasyonundan bağımsızdırlar.

2.3.3.2. Stabilité

Kemik oluşumu için kemik-kemik, kemik-implant, kemik-greft ara yüz stabilitesi çok önemlidir. İyileşme esnasında hareket olduğunda mezenkimal hücreler fibroblastlara veya kondroblastlara dönüşebilir. Greft materyali vida veya titanyum ağırlar ile sabitlenebilmesine rağmen kendi stabilitesi de çok önem taşımaktadır.

2.3.3.3. Biyouyumluluk

İnsan vücuduna yerleştirilen herhangi bir biyolojik ya da inorganik materyal cerrahi işleminden dolayı veya kendiliğinden bir doku reaksiyonu oluşturabilir. Materyale karşı oluşan immun yanıt spesifik bir immunolojik reaksiyon olabileceği gibi nonspesifik karakterde de olabilir. Spesifik cevap donör ve alıcı arasındaki majör histouyumlu antijenlerin eşleşmesine bağlıdır. T lenfositleri ile yabancı hücreler arasında direkt etkileşime bağlı transplant alıcı tarafından kabul edilemeyebilir. Bu spesifik bir

reaksiyondur. Nonspesifik reaksiyon ise daha çok implant yüzeyi ile ilgili olup implant kemik arasında biyomoleküllerden etkilenir.

2.3.3.4. Yumuşak Doku Göçünün Engellenmesi

Büyük kemik defektlerinin tamamen iyileşmesi beklenmez. Bunun nedeni yumuşak dokunun kavite içine büyümesidir. Kemik iyileşmesi yönlendirilmiş doku rejenerasyon tekniği ile daha hızlı hale getirilebilir. Bariyer seçici geçirgenlik göstererek yumuşak doku göçünün içeriye doğru olmasını engellerken, sadece kemik hücrelerinin göçüne olanak sağlar. Greftin kemiğe tutunması esnasında yumuşak doku ve kemik dokusunun birbiriyle uyum içerisinde hareket etmesi önemlidir (107).

2.3.4. Kemik Greft Materyallerinin Etki Şekline Göre Sınıflandırılması

Kemik greftleri, uygulandıkları alanda osteogenezis, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon mekanizmalarından bir ya da birkaçının birlikte işlemesiyle çevre kemik dokusuyla beraber yeni kemik oluşumunu uyarırlar. Greftleri etki şekline göre sınıflandırmak mümkündür (108).

2.3.4.1. Osteogenezis

Osteogenezis greft materyali içinde bulunan osteoblastik hücreler ile yeni kemiğin şekillenmesidir. Greftin içinde bulunan osteoblast ve diğer kemik hücreleri yeni kemik yapımına destek olurlar (109). Osteogenetik karaktere sahip tek greft materyali otojen kemiktir. Otojen kemik tuber maksilla, çene ucu, interforaminal bölge, retromolar bölge ve implant yuvalarının kemik içinde freze edilmesi esnasında elde edilen kemik gibi intra-oral bölgeden veya iliak kemik, tibia ve kafatası gibi çeşitli ekstra-oral bölgelerden de elde edilebilmektedir (110).

2.3.4.2. Osteoindüksiyon

Osteoindüksiyon, primitif mezenkimal hücrelerden kaynağını alan osteoprogenitör hücrelerden yeni kemiğin oluşmasıdır. Greftteki kemik indükleyici proteinlerin veya kemik morfojenik proteinlerin etkisiyle mezenkimal hücrelerin osteoprogenitör hücrelere değişimidir. Osteoindüktif materyaller, remodelling fazında kemik formasyonuna daha fazla katılırlar. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan en temel osteoindüktif materyaller; BMP ve allogreftlerdir (111).

2.3.4.3. Osteokondüksiyon

Greft materyalinin uygulandığı alanda çatı görevi görmesi ve zamanla rezorpsiyona uğrayarak yerini yeni kemiğe bırakmasıdır. Osteokondüktif özelliğe sahip materyaller doğrudan kemik oluşumuna destek vermez ancak matriks oluşturarak osteogeneze katkı sağlar. Osteokondüksiyonda kemik oluşumu, çevre kemikteki apozisyon ile gerçekleşir. Bu nedenle osteokondüksiyon, kemik veya farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin varlığında meydana gelir. Osteokondüktif materyaller ektopik bölgelerde (subkutanöz) bulunurlarsa, kemik büyümesini başlatmazlar; onun yerine bu materyaller çoğunlukla değişmeden kalır veya rezorbe olurlar. Osteokondüktif materyaller biyouyumludur. Osteokondüktif materyaller klinikte 3 major alanda kullanılırlar (21,51,112):

- 1- 2 veya 3 duvarlı kemik defektlerinde,
- 2- Kemik indüktörleri için taşıyıcı olarak,
- 3- Kemik yoğunluğunu arttırmak ve alanda yavaş remodelasyon amaçlı kullanılırlar.

2.4. Kemik Greft Materyallerinin Sınıflandırılması

Greft materyalleri elde edildiği maddeye, fiziksel özelliklerine, biyolojik özelliklerine veya işlenme metodlarına göre birçok farklı şekilde sınıflandırılabilir. Greft materyallerinin elde ediliş kaynaklarına göre sınıflandırılması şu şekilde uyumlanabilir (103,113):

- 1- Kemik esaslı greft materyalleri
- 2- Kemik esaslı olmayan greft materyalleri
- 3- Doğal materyaller

1- Kemik Esaslı Greft Materyalleri

A. Otojen Kemik Grefti

- Kortikal kemik
- Kansellöz kemik
 - ✓ Ağız içi kaynaklı
 - ✓ Ağız dışı kaynaklı
- Kortikal ve kansellöz kemik

B. Homojen Kemik Grefti

- İzogreft
- Allogreft
 - ✓ Dondurulmuş kemik allogrefti (DKA)
 - ✓ Dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti (DDKA)
 - ✓ Demineralize dondurulmuş - kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)

C. Heterojen Kemik Grefti

- Sığır kaynaklı hidroksiapatitler
- Mercan kaynaklı hidroksiapatitler
- At kaynaklı heterojen kemik grefti
- Domuz kaynaklı heterojen kemik grefti

2-Kemik Esaslı Olmayan Greft Materyalleri

A. Doku Kaynaklılar

- Dentin
- Sement
- Kıkırdak
- Sklera

B. Metaller

C. Jelatin Filmler

D. Polimerler

- Polimetilmetakrilat
- Proplast
- Polyalioksanone
- Poliamide mesh
- Polglaktin 910
- Polietilen
- Polipropilen
- Silikonlar
- Teflon (Politetrafluoroetilen)

E. Seramikler

- Kalsiyum sülfak (Paris Alçısı)
- Kalsiyum Aluminat
- Bioaktif cam ve cam seramikler
- Kalsiyum karbonat
- Kalsiyum fosfat
- Yağlı kalsiyum hidroksit süspansiyonu

F. Doğal materyaller

- Kollajen
- Kemik morfojenik proteinler (BMP)
- Trombositten zengin plazma (PRP-platelet rich plazma)
- Demineralize kemik matriks (DKM).

2.5. Oral Cerrahide Kullanılan Kemik Greft Materyalleri

Oral ve maksillofasiyal cerrahide, otojen kemik greftleri, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik materyaller çoğunlukla tercih edilen greft materyalleridir (1).

2.5.1. Otojen Greftler

Otojen greftler bireyin bir bölgesinden alınıp gerekli bölgeye nakil edilen, canlı osteoblast ve osteoprogenitör hücreleri içeren greft çeşididir. Otojen kemik greftlerinde kemik iyileşmesi osteogenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon şeklinde gerçekleşir (79). Otojen kemik greftlerinde transplantasyon sonrası az miktarda canlı matür osteoblast kalmasına rağmen, yeterli sayıdaki kök hücrelerinden (osteoprogenitör) olgun osteoblastlar gelişebilmektedir. Ayrıca bu greft materyali, greftin birleşme fazı esnasında çevreye BMP'leri salarak kemik büyümesine katkıda bulunur. Bu sebeple etkili tek greft materyali olduğundan altın standart olarak tanımlanmaktadır (114). Serbest otojen kemik grefti, yerleştirilmesini takiben ilk 2 haftalık sürede osteojenik etki gösterir. Greftlemeden 2-6 hafta sonra osteoindüktif etkisi başlar ve 6 ay kadar sürer. Son olarak osteokondüktif etki ile aposizyonel kemik oluşumu gerçekleşir. Greftin organik komponenti olan kollajen; grefte esneklik, dayanıklılık ve stabilite kazandırırken; inorganik komponent olan HA, greftin rijiditesine katkıda bulunur (107).

Kortikal greftler, form sağlayıp dayanıklı sert bir yapı oluştururken, osteogenezisi artırıcı yetenekleri yoktur.

Kansellöz kemik ve kemik iliğinin primer avantajı, belirgin şekilde osteogenezisi artırma yetenekleridir. Bu yetenekleri, osteojeniteyi indüklemek kapasitelerinin olması kadar, osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahip olmalarına bağlıdır. Bu greftin bilinen tek dezavantajı, mekanik sağlamlığını koruyamamasıdır.

Kortikokansellöz kemik greftlerinin kullanımı son zamanlarda popülerite kazanmıştır. Ancak, bu greft hem kortikal hem de kansellöz kemiklerin kuvvetli özelliklerini aynı derecede kombine etmektedir. Kortikokansellöz kemik, kansellöz kemik kadar osteogenezisi artırıcı özelliğe sahip değildir, çünkü daha nonporöz bir yapısı olan kortikal kemik tabakasına sahiptir. Kortikokansellöz greftlerin avantajı; kortikal greftler gibi mekanik sağlamlık ve form kazandırmak, bir miktar da osteogeneziste artış elde etmektir. Bu tip greft en genel olarak kaburga ve ilium

kaynaklıdır. Ancak, bu iki kaynaktan elde edilen kortikokansellöz greftler arasında da büyük farklılıklar vardır. Örneğin kaburga, iliumdan daha az kansellöz kemik içermektedir (1).

Otojen kemik greftlerinin avantajları (79):

- 1- Yüksek biyouyumluluk,
- 2- Yüksek osteojenik etki,
- 3- Antijenik özellik göstermemesi,
- 4- Ek maliyet getirmemesidir.

Otojen kemik greftlerinin dezavantajları ise:

- 1- İkinci bir cerrahi alan oluşması,
- 2- Alınabilecek greft miktarının sınırlı olması,
- 3- Donör sahada oluşabilecek komplikasyonlar olarak sayılabilir.

2.5.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları

İntraoral greft kullanımının en önemli artısı postoperatif komplikasyon riskinin daha az olması ve hastalar tarafından daha çok kabul gören bir uygulama olmasıdır. Alıcı ve verici bölgelerin birbirlerine yakınlığı operasyon ve anestezi zamanını kısaltarak işlemi daha kolay hale getirebilir. Genel anestezi zorunluluğu bulunmaz. Hastalarda postoperatif dönemde daha az sıkıntı yaşanırken, morbidite oranı da daha azdır. İntraoral greftler daha yüksek oranda büyüme faktörü içerirler, bu nedenle daha fazla kemik yapımı ve greft retansiyon kapasitesine sahiptirler. İntraoral greftlerin en belirgin dezavantajı, ekstraoral greftlere oranla daha az miktarda greft elde edilebilmesidir. İntraoral greft elde etmek amacı ile kullanılabilecek verici alanlar şunlardır (115);

- 1- Alt çene ucu bölgesi
- 2- Alt çene ramus bölgesi
- 3- Üst çene tüber bölgesi
- 4- Diğer kemik kaynakları olarak sıralanabilir.

Alt çene ucu bölgesinden alınan blok greftler; dört dişe kadar olan dişsiz alanların, hem vertikal hemde horizontal yönde kemikle doldurulması gerektiği durumlarda kullanılmaktadır. Bu bölgedeki mevcut kemiği değerlendirmek için panoramik radyografiye ihtiyaç vardır. Alt ön dişlere zarar vermemek için dişlerin apeks lokalizasyonlarının tam tespiti amacıyla periapikal radyografi de alınmalıdır. İdeal osteotomi apeksten 5 mm uzakta yapılmalıdır. Genellikle bu bölgeden grefti iki parça halinde çıkarmak daha uygundur ve bu şekilde daha kalın kemik çıkartılabilir. Graft kanin dişleri arası bölgeyi kapsamalı ve işlem sırasında mental sinirin zarar görebileceği ihtimaline dikkat edilerek çalışılmalıdır. Alt ön dişlerdeki duyu değişikliği greft nakli olan hastalarda ameliyat sonrası görülen yaygın bir belirtidir (116).

Alt çene ramus bölgesinden en fazla 4 mm kalınlığında dikdörtgen kortikal kemik elde edilebilir. Bu boyut kret kalınlığını arttırmak için oldukça uygundur. Dikdörtgen greftin uzunluğu 3,5 cm'ye kadar ulaşabilir, fakat yüksekliği 1 cm'den azdır. Hastaların fasiyal kontur endişesi yoktur, insizyonda açılma ihtimali düşüktür, postoperatif duyu bozukluk şikayeti simfiz greftine göre daha azdır (117).

Hastalar, ağız arka yumuşak dokularında, alt dudak ve çene ucu ile karşılaştırıldığında, sinirsel ve duyu rahatsızlıkların daha az farkına varabilirler. Çene ucu ile karşılaştırıldığında hastalar molar dişlerinde hiçbir duyu değişikliği bildirmemişlerdir. Ancak alveoler sinir zedelenmesi konusunda hastalar bilgilendirilmelidir (116). Komplikasyon açısından değerlendirildiğinde ramus bölgesinin, çene ucu bölgesine göre avantajları vardır. Ancak, elde edilen greft boyutu ve miktarı sınırlıdır. Çene ucu bölgesi kansellöz kemikten zengin daha kalın greft elde edilmesini sağlar (117) (Tablo 2.1).

Üst çene tüber bölgesi değişebilen miktarlarda spongioz kemik içerir. Kemiğin süngerimsi yapısı, onun istenilen şekilde her boşluğa konulabilmesini sağlar. Tüber bölgesinin kalın yumuşak dokusu, bu verici bölgenin yanlış değerlendirilebilmesine neden olabilir. Panoramik ve periapikal radyografiler ile incelenmelidir. Bu alanın anatomik sınırları çok iyi bilinmelidir. Alt çene ile karşılaştırıldığında kemik hacmi azdır.

Diğer kemik kaynakları ise (116):

- 1- İmplant yerleştirilmeden önce bölgenin düzeltilmesi sırasında elde edilebilir.

- 2- Alt ön bölge diş çekiminden sonra implant yerleştirilmesi sırasında bol miktarda kemik elde edilir.
- 3- Maksiller dişlerin bukkal kök bölgelerinden, kanin dişlerin kemik çıkıntılarından, spina nazalis anteriorundan alınabilir.
- 4- Kemik çıkıntıları ve egzostozlar da greft için kemik kaynağıdır. Yoğun olan bu kemik kaynakları ufalanarak ve parçalanarak partiküler grefte dönüştürülmelidir.
- 5- Toplama cihazından elde edilen kemikler bu grupta sayılabilir.

Tablo 2-1: Mandibuler donör alanların karşılaştırılması

Parametre	Çene ucu	Ramus
Cerrahi girişim kolaylığı	İyi	Orta
Kozmetik kaygı	Yüksek	Düşük
Greft şekli	Kalın dikdörtgen blok	İnce dikdörtgen blok
Greft morfolojisi	Kortikokansellöz	Kortikal
Greft boyutu	> 1 cm ³	<1 cm ³
Greft rezorbsiyonu	Minimal	Minimal
Kemik kalitesi	Tip 2 > Tip 1	Tip 1 > Tip 2
Donör Alan Komplikasyonları		
Posoperatif ağrı/ödem	Orta	Minimal- Orta
Duyusal değişiklikler-dişler	Sık (geçici)	Nadiren
İnsizyonda açılma	Bazen (vestibüler)	Nadiren

2.5.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları

Ağız içi alanlardan yeterli miktarda greft sağlamanın mümkün olmadığı durumlarda, geniş atrofik bölgeler için kullanılan otojen kemik greftleri ekstraoral alanlardan elde edilirler. Ağız dışı donör alanlar yüksek hacimde greft uygulaması gerektiren birçok ogmentasyon işlemi için tercih edilse de; yüksek maliyet, genel anestezi ve hastanede yatış gereksinimi, postoperatif dönemde hasta rahatsızlığına yol açması ve greft rezorpsiyon potansiyelinin endokondral iyileşmeden dolayı yüksek olması gibi dezavantajlara sahiptir (103). İliak kemik, tibial kemik, kaburga ve kalvarya kemikleri otojen kemiğin ağız dışından sağlanabildiği sahalardır.

İliak kemik, üç çeşit kemik grefti sağladığından dolayı avantajlı olmasına karşın, verici bölge olarak kullanımını kısıtlayan iki dezavantajı vardır. İlki iliak krestin, iliumun büyüme merkezlerinden birisi olması ve ikincisi de cerrahi ile hastada rahatsızlıkların oluşabilmesidir. İliak kemik grefti alınırken gluteus maksimus ve gluteus medius kaslarına zarar verilebileceğinden dolayı, cerrahi sonrası hasta yürümekte zorlanabilir. Anterior ilium birçok ortognatik cerrahi uygulamada en popüler ve pratik kemik kaynağıdır. Ortognatik cerrahi uygulamalarında osteotomi kesileri arasına yerleştirilecek ince kortikokansellöz kemik greftlerine ihtiyaç vardır. Maksiller ilerletmeler için gereken kortikal veya kortikokansellöz greftler de bu bölgeden elde edilebilir (1).

Tibial kemik, diğer donör alanlara kıyasla birçok avantaja sahiptir. Kan kaybı minimaldir. Kan transfüzyonuna veya drenaja ihtiyaç duyulmaz. Postoperatif olarak hemen yüklemeye olanak tanır. İliak kemik greftine oranla daha az komplikasyon ve morbidite gösterir. Dezavantaj olarak ise epifizyal büyüme merkezinin olumsuz yönde etkilenme olasılığından dolayı çocuklarda ve genç hastalarda donör alan olarak kullanımı kontrendikedir. Ayrıca kemik iliğinin yağ konsantrasyonu bazen iliumdan fazla olabilmektedir (118, 119).

Kaburga, maksillofasiyal cerrahide kaburga greftlerinin kullanıldığı iki primer uygulamadan birincisi, kortikokansellöz greftin ogmentasyonlarda, greft gerektiren osteotomi işlemlerinde kullanılmasıdır. İkinci uygulama ise, mandibuler gelişimin beklendiği durumlarda kondil replasmanı için kostokondral greft şeklinde kullanılmasıdır. Her iki tip greftin elde edilmesi için yaklaşım aynıdır ve 5., 6., veya 7. kaburga verici olarak seçilir. Genel olarak, greft elde etme işlemini genel cerrahların

veya göğüs cerrahlarının yapması istenir, çünkü bu işlem özel cerrahi deneyim ve postoperatif bakım bilgisi gerektirir (1).

Kalvaryumun, maksillofasiyal rekonstrüksiyon ve greftleme işlemleri için donör alan olarak kullanımı, düşük komplikasyon insidansı ve postoperatif morbiditesi nedeni ile oldukça yaygındır. Kalvaryumun donör alan olarak kullanımı durumunda, görünür skar oluşmaz, donör alanda şiddetli ağrı meydana gelmez ve uzun süre hastanede yatış gerektirmez. Kalvaryum greftinin retansiyonunun iliak grefte kıyasla daha fazla olması bu grefti iliak grefte göre daha üstün kılar. Diğer önemli bir avantajı da intramembranöz kemiklerin endokondral kemiklere göre daha az rezorbe olmalarıdır (117).

2.5.2. Allogreftler

Allojenik greftler, aynı türden fakat farklı genotipte farklı bireylerden elde edilen greft materyalleridir. Greftin sağlandığı donörler yaşayan kişiler veya kadvralar olabilir. Greftler tamamen steril şartlarda hazırlanarak kemik bankalarında depolanarak saklanır. Allogreftler osteojenik hücre içermemesi dışında otogreftler ile aynı özellikleri taşımaktadır. Osteoindüktif özellikleri ise demineralizasyon işlemleri sonucu oldukça azalmaktadır. Üçtepte allogreft vardır;

- 1- Dondurulmuş kemik allogrefti (DKA)
- 2- Dondurulmuş – kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA)
- 3- Demineralize dondurulmuş- kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA)

Allogreft kullanımının en önemli avantajı donör alan ihtiyacının olmayışdır; ancak allojenik kemiğin potansiyel antijene sahip olması dezavantaj olarak kabul edilir. Oluşacak immun cevabın derecesi kullanılan kemik greftinin tipine, greft materyalinin hazırlanma ve saklanma yöntemlerine bağlıdır. Allogreftteki bu dezavantajı azaltmak ve yabancı cisim reaksiyonunu indirmek için canlı hücreler uzaklaştırılır. Bu prosedür ile allogreftlerde canlı hücre olmamasından dolayı osteojenik özellikler de zayıflar. Osteojenik özelliklerin durumu, greftin işlenme metodu ile direkt olarak bağlantılıdır (120).

Günümüzde kemik allogreftlerinin saklanması farklı yollar ile sağlanmaktadır;

- 1- **Derin dondurma:** Uygun şartlarda alınan greft genellikle -70°C de derin dondurucularda saklanır. Bu işlem sonunda greft materyali osteoindüktif proteinleri yapısında bulundurmaktadır.
- 2- **Sıvı azot ile dondurma:** Dokuların sıvı azot ile -196°C de dondurularak saklanması yöntemidir.
- 3- **Kimyasal koruyucular ile saklama:** Bu amaçla gliserin, civalı bileşikler ve formaldehitler kullanılır.
- 4- **Çözücüler ile dehidratasyon tekniği:** Greftler önce serum fizyolojik ile yıkanır. Hidrojen peroksit ile HIV inaktivasyonu sağlanır. Aseton içinde bekletilen dokuda hücre artıkları uzaklaştırılır. Aseton oda sıcaklığında buharlaşırken dokuda kurumuş olur. Aynı zamanda dokudaki yağlar da uzaklaştırılmış olur. Hazırlanan greft oda sıcaklığında korunur. Bu işlem sonunda kemikte kalan proteinlerden biri, kemik şekillendirici proteindir. (BMP) (121).
- 5- **Dondurup kurutma (Liyofilizasyon):** Günümüzde ticari kemik bankaları tarafından en sık kullanılan yöntemdir. -80°C 'de dondurulmuş dokular vakum altında yavaş yavaş ısıtılarak içindeki sıvının buharlaşması ve nem oranının %5'in altına düşmesi sağlanır. Bu işlem ile greft içindeki hücreler öldürülüp immün reaksiyon riski azaltılmaktadır (122).

2.5.2.1. Dondurulmuş Kemik Allogrefti (DKA)

Taze dondurulmuş kemiğin fasiyal iskeletteki yararları sınırlıdır. Başlıca kullanımı ortopedik onarımdaki osteokondral allogreftler içindir. Allogreft vericiden, ölümden sonraki 12 saat içinde steril bir şekilde alınmalı, alınan kemik multipl bakteriyolojik çalışmalar ile işlem öncesi ve sonrası periferik kemik iliği kültürüne uygulanmalıdır (21). Taze dondurulmuş kemik sadece hazırlanışı esnasında dondurma işleminden geçmekte ve osteoindüktif proteinleri mevcut yapısında barındırabilmektedir. Bu greftin osteoindüktif proteinleri zarar görmediğinden dolayı dokuda immün yanıt ve bulaşıcı hastalık oluşturma ihtimali bulunmaktadır (69).

2.5.2.2. Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DKKA)

Dondurulmuş kurutulmuş greftlerde; greftin önce dondurma sonra vakum içinde mevcut buzun direkt olarak buharlaştırılması yöntemi kullanılır. Bu uygulama sayesinde, greft içindeki hücreler öldürülüp immün reaksiyon oluşması engellenmesine rağmen, osteojenik özellik kaybolmaktadır. Dondurup kurutma işlemi greftin biyomekanik özelliklerini olumsuz etkilemektedir. Dondurulup kurutulmuş kemik greftlerinin iyileşmesi, rezorpsiyon ve osteokondüksiyon ile olurken, bu greftlerde, osteoindüksiyon gözlenmez (123).

2.5.2.3. Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DDKKA)

"Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti" terimini daha çok diş hekimleri kullanırken, ortopedistler DDKKA'yı daha çok "Demineralize Kemik Matrisi" olarak tanımlarlar (124).

Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinde DKKA'nın mineralize fazı uzaklaştırılır ve bu sayede kollajen ve BMP'ler çıkarılmış olur. DDKKA mezenkimal hücreler üzerine etki ederek osteoindüktif, konak kemik için matris fonksiyonu davranışıyla da osteokondüktif etki gösterebilir (125).

DDKKA'ların iyileşmesi konusunda tartışmalar vardır. Bazı yazarlar bu tür greftlerin osteoindüksiyon mekanizması ile iyileştiklerini ileri sürerler. Bu süreç greftin yerleştirildiği alıcı doğal kemikten dolayı çok potansiyelli hücreleri içerir. Bölgedeki hücreler osteoblastlara farklılaşırlar. Zaman içerisinde allogreft alıcı kemik tarafından rezorpsiyona uğratılır, bu şekilde rejeneratif sürecin BMP ve allogreft içindeki diğer büyüme faktörleri tarafından desteklendiği düşünülmektedir. Greft materyalinin dondurulması veya dondurularak kurutulmasının greftin hücrel aktivitesini bozmadığı gösterilmiş olmasına rağmen, bazı yazarlar osteoindüksiyonun gerçekten meydana geldiğine inanmamaktadırlar. DDKKA elde edilme kolaylığı, güvenilirliği ve ileri sürülen osteoindüktif özelliği ile tercih sebebi olmaktadır. DDKKA'ların kortikal kemikten elde edilenleri antijenik özelliklerinin, kansellöz kemiklere oranla daha az olması ve daha çok BMP içermeleri sebebiyle tercih edilmelidir. Allogreft uygulamalarında hastalık bulaşma riskine dikkat edilmelidir. Doku bankaları kullanacakları kadavralarda, HIV antikör ve antijeni aramakta ve lenf bezi biyopsileri yapmaktadırlar (126).

Teorik olarak allogreftleri dondurma, dondurup kurtuma gibi işlemlerin hiçbirinde HIV geçişi tam olarak önlenemez, HIV enfeksiyonunu tam olarak ekarte etmek için 2.5 Mrad üzerinde ışınlama yapılması gerektiği bildirilmiştir (127).

Allogreftlerin alınması veya transplantasyonu esnasında kontaminasyona açık olduğu, bu nedenle her türlü sterilizasyon önlemine rağmen transplante edildikten sonra değişen sürelerde (ort. 2 hafta) antibiyotik profilaksisi önerilmektedir (128).

2.5.3. Ksenogreftler

Heterojen kemik greftlerinde alıcı ile verici türü farklıdır. At, sığır, mercan ve domuz yaygın bir şekilde greft kaynağı olarak kullanılır (21). Yapılan hayvan çalışmalarında ksenogreftlerin kemik için uygun bir yapı iskeleti oluşturabildiği belirtilmektedir. Ksenogreftlerin etrafında yeni kemik oluşumu tek başına kullanılması ve otojen greft ile karıştırılmasına bağlı olarak iki farklı mekanizma ile gerçekleşir. Tek başına kullanıldığında, alıcı kemikten greft alanına doğru kemik oluşumu gerçekleşir. Otojen kemik ile birlikte kullanımında ise kemik oluşumu greft içerisinde otojen kemik partiküllerinin var olduğu noktalarda gerçekleşir (129, 130).

1960'lardaki uygulanabilirliğini, hastalarda sığır grefti transplantasyonunu takiben birtakım otoimmün hastalıkların oluşmasıyla kaybetmiştir. 1990'larda ise; kemik partiküllerinin deproteinizasyon metodlarının gelişimiyle yeni bir dönem açılmıştır. Kemiğin organik kısmının ortadan kaldırılması ile greftin antijenitesi azaltılmış, alıcı dokunun uyumu arttırılmıştır (131). Bu şekilde antijenitenin azaltılmasında kullanılan yöntemler vardır.

Kemiğin demineralize edilmesi; kemikteki minerallerin demineralizasyonu sonucu ortaya çıkar. Kemiğin demineralizasyonu ile kemik matriksinde mevcut olan non kollajen proteinler ortaya çıkar. Kemik demineralizasyonu ile düşük derecede sınırlı tutulan nonkollajen proteinlerin geniş fraksiyonları osteoindüksiyon potansiyeline sahiptir. Kuvvetin gerekmediği küçük greft alanlarında ve üç duvarlı defektlerde kullanımı başarılıdır. Daha güçlü yapıda materyaller ile birleştirilerek kullanımı uygundur.

Kemiğin deproteinize edilmesi ile inorganik ve proteinsiz kemik, kemiğin organik kısmının çıkarıldığı sadece doğal kalsiyum fosfat materyalinin bırakıldığı

materyaldir. Bu yapı doymamış kalsiyum apatit kristallerinden oluşur. Osteoklastlar tarafından yapılan rejenerasyonlara maruz kalarak onarıma yardımcı olur (21).

Ksenogreftler osteokondüktif özelliğe sahiptir. Proprotetik cerrahi, ortognatik cerrahi ve sinüs lifting işlemlerinde kullanılabilirler. Blok formları, onlay greft olarak kullanılırken; granül formları periodontal kemik defektlerinde, çekim kavitelerinde ve küçük kist operasyonlarında kullanılmaktadır. Otojen kemik greftleri veya büyüme faktörleri ile birlikte kullanılabilirler. Ksenogreftlerde enfeksiyon riski azdır, istenilen miktarda elde edilebilme olanağı bulunur, biyolojik uyumluluk ve yapısal olarak insan kemiğine benzer özellikler vardır. Sadece osteokondüktif etki ile inorganik kemik matriksi oluşturlar (132).

Sığır kaynaklı hidroksiapatitler sığır kemiklerinin deproteinize edilmesi ile elde edilirler. Organik bileşenler ortadan kaldırılır. İnorganik kısım pöröz hidroksiapatit partikülleridir ve yapısal olarak insan kansellöz kemiğine benzer. Yüksek biyoyumluluğa sahip çevre yumuşak ve sert dokularla güçlü bağlantı oluşturur. İyi organize, geçirgen, pöröz yapısından dolayı greftin içine doğru büyüyen kemikte normal kemiğe benzer kimyasal ve biyomekanik süreç ile remodelling sağlanabilir (131,133).

Ksenogreftlerin ve allogreftlerin, otojen kemik ile beraber kemik greft genişleticileri olarak kullanımı sayesinde otojen kemik greft miktarına olan ihtiyacın azalması sağlanır (131).

Sığır kaynaklı kemik grefti uygulamaları, son dönemde sağlık açısından önemli bir yere sahip, prionlarla bulaşan Deli Dana Hastalığını (DDH) ve bunun insanlarda görülen tipi olan Creutzfeldt-Jakop hastalığını gündeme getirmektedir. Bazı yazarlara göre DDH'nin bulunmadığı ülkelerdeki firmalar tarafından üretilen heterogreftleri kullanmak daha güvenli olarak belirtilmektedir. Ancak prionların kemik yapısının tamamen deproteinize edilmesinden ötürü bu risk yok denilecek seviyeye indirilmiştir. Bunun yanı sıra Dünya Sağlık Örgütü de kemik dokusunu prion hastalıkları için güvenilir olarak bildirmiştir (134,135).

Bio-Oss® kemiğin tamamen deproteinize edilmesiyle elde edilir. Karbonat apatit içeren anorganik sığır kemiğinden oluşan doğal bir greft materyalidir. Morfolojik olarak doğal bir yapısı olduğu, kemik ile karşılaştırıldığında daha geniş bir iç yüzeye ve poröziteye, kemik ile benzer kristal yapıya, elastikiyete, kimyasal bileşime ve

kalsiyum/fosfor oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle Bio-Oss®, son yıllarda kemik greft materyali olarak periodontoloji ve maksillofasiyal cerrahi dallarında geniş kullanım alanı bulmuştur. Maksillofasiyal cerrahide sinüs liftingde, alveoler kret yükseltme işlemlerinde, dişler ve implant çevresindeki defektlerin tedavisinde, mandibula ve maksilla rekonstrüksiyonunda, çekim soketlerinin doldurulmasında kullanılmaktadır (136).

Bio-Oss® kortikal ve kansellöz kemik olmak üzere iki farklı kemik tipinde 250-1000 µm, 500-1000 µm, 1000-2000 µm olmak üzere üç farklı partikül büyüklüğünde ve 1x1x2 cm boyutunda kansellöz blok olarak kullanıma sunulmuştur. Sığır kemiğinden elde edilen heterojenik greft materyali olan Bio-Oss®, 300 °C'de 15 saatten daha fazla bir süre ısıtma işlemi ile deproteinize edilmekte ve böylece tüm organik ve olası antijenik komponentleri elimine edilmektedir. Daha sonra materyal alkalın işleme sokulmaktadır. Alkalın işleminden sonra hidroksiapatit ve karbonattan oluşan materyal 160 °C'de sterilize edilmektedir. Bu işlem materyalin yüksek porözite ile birlikte 10-60 nm büyüklüğündeki kristal yapısının oluşmasını sağlamaktadır (137).

Heterojenik kemik greft materyallerinde porlar arasında bağlantı olması ve ağ şeklinde bir yapının olması anjiyogenezisi ve osteoblastların migrasyonunu kolaylaştırır. Bio-Oss®'un yapısı, yeni kemik oluşumu için yardımcı iskelet görevi görür. Osteoblastlar Bio-Oss® ağı üzerinde bir tabaka oluşturur ve osteoid oluşarak sonunda sekonder kemik Bio-Oss® trabekülünü çevreleyerek iskeletsel yapının kalınlaşmasını sağlar. Aynı zamanda iç yüzeyinin büyük oranda genişletilmiş olması yeni kemiğin bu bölgede oluşmasına ve büyümesine olumlu yönde etki eder. Böylece greft materyali ile kemik arasında bir bağlanma gerçekleşir (137).

Hypro-Oss®, sığır kollajeninin biyomateriyaller içerisinde kullanımında oluşabilecek immunojenik reaksiyonları ortadan kaldırma amaçlı, kollajenin her iki tarafında bulunan ve antijenik yapıyı oluşturan telopeptid bağlarının pepsin ile kaldırılması sonucu oluşan atelokollajen kullanımı esasına dayalı ksenogreft materyalidir. İmmunojenik olmayan sığır kollajeni (atelo-kollajen) liyofilizasyon işleminden geçirilir. Bu dondurup kurutma işlemi kemiğin -80°C'ye kadar derin dondurmadan sonra boşlukta dereceli olarak ısıtılarak donmuş olan suyun sublimasyonu evrelerini içerir. Kemiğin içindeki su miktarı %5'den düşük seviyeye geldiğinde bu işlem tamamlanmış olur. Bu işlem sonucu elde edilen yapı daha absorban ve oda

sıcaklığında saklanabilir hale gelmektedir. Liyofilize sığır atelokollajeni olan Hypro-Oss®'un kemik turnover'ında önemli görevleri olan PDGF, IGF 1, IGF 2 ve TGF beta gibi kemik büyüme faktörlerini içerisinde bulundurması materyale büyük avantaj kazandırır. Aynı zamanda liyofilizasyon soğuk kurutma sayesinde diğer ksenogreft materyallerindeki ısıtma işlemlerinden dolayı zarar görebilen büyüme faktörleri ve organik maddelerin etkilenmemesi sağlanmış olur (138).

Hypro-Oss®'un %30'u atelokollajen tip 1 ve doğal osteoindüktif elementler olan TGF, BMP, IGF'den %70'i ise osteokondüktif doğal hidroksiapatit yapıdan oluşmaktadır. Bu greftin hidrofilik özellikleri, optimal hücre yapışmasını ve kan emilimini sağlar. Yüksek biyoyumluluğa sahiptir ve yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaz. Osteoindüktif atelokollajen komponentine ve osteokondüktif hidroksiapatit komponentine sahiptir. Hyro-Oss®'un sinüs liftingde, dikey ve yatay alveol kret ogmentasyonunda, kemik içi defektlerde, peri-implant defektlerinde, çekim soketlerinde, furkasyon defektlerinde kullanım endikasyonu bulunmaktadır (10).

2.5.4. Alloplastlar

Allogreftler ve ksenogreftlerin dezavantajlarını engelleme amaçlı biyoyumlu materyaller üretimine doğru bir trend son yıllarda ortaya çıkmaktadır. Sentetik materyaller geniş ürün çeşitliliğine sahiptir. Bu materyaller rezorbe olan ya da olmayan, mikroporöz, makroporöz ve poröz olmayan yapıya sahip olabilirler (139).

Osteokondüktif etkiye sahip sentetik kemik materyallerinin en önemli dezavantajları osteojenik ve osteoindüktif etkilerinin olmayışıdır (140).

İdeal bir sentetik greft; immün reaksiyon oluşturmamalı, sitotoksik olmamalı, hidrofilik yapıya sahip olmalı, fibrotik reaksiyon minimal düzeyde oluşturmamalı, kolayca şekillendirilebilir olmalı, uygulama sonrası fiziksel yapısı ve özelliklerinde bozulmalar olmamalı, kullanımı ve saklanması rahat olmalı, ucuz olmalı, kolayca bulunabilmeli, osteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri taşımamalı, implante edildiği dokuya fiziksel olarak benzemelidir (109).

Maksillofasiyal cerrahi alanında ortaya çıkan defektlerin tedavisinde farklı materyallerin karıştırılarak kullanımı araştırmacılar tarafından önem verilen konulardandır. Bu durumda düşük mekanik özellikli, fakat yüksek osteokondüktif özelliği olan bir greft materyali bu özelliklerin eksik kısımlarını tamamlayabilecek ve

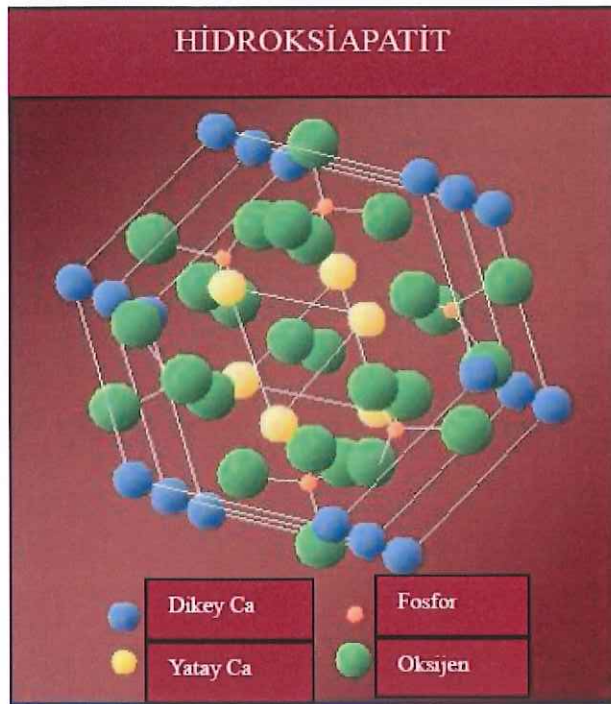
mükemmel greft oluşturabilecek başka bir greft materyali ile birlikte karıştırılıp kullanılabilir (141).

2.5.4.1. Seramikler

Hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat gibi kalsiyum fosfat bileşikleri seramik matrisler olarak isimlendirilir. Sentetik hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat ve beraber kullanımı çoğunlukla kullanılan greft materyalleridir (109,142).

2.5.4.1.1. Sentetik Hidroksiapatit

Hidroksiapatit, kalsiyum fosfat bazlı seramikler sınıfındadır ve doğal kemik mineraline kimyasal ve yapısal benzerliğinden dolayı kemik aşı malzemesi olarak kullanılmaktadır (143)(Şekil 2-7). Ca/P oranı 1.67'dir. Kimyasal formülü $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dir.



Şekil 2-7: Hidroksiapatitin şematik gösterimi (143)

Hidroksiapatit biyoyumludur, komşu sert ve yumuşak dokuya kolaylıkla penetre olur. Fiziksel özellik olarak; poröz (mikro veya makro) ve poröz olmayan form, rezorbe olan ve olmayan form, blok ve partiküler formdur. Hidroksiapatitin kimyasal özellikleri ise kalsiyum fosfat oranına, çevreleyen alanın Ph'ına ve iyon değişimine göre değişmektedir. Materyalin porözitesi greftle olan penetrasyonunu belirlerken, kristal

yapısı rezorbsiyon derecesini belirler. 250-350 μm 'lik delikler kemik büyümesi için ideal olarak kabul edilmiştir. Ancak porözite artışı ile dayanıklılık azalmaktadır ve negatif etki oluşturmaktadır (125). Hidroksiapatitin kimyasal ve kristallografik yapısı doğal kemiğin inorganik bileşimine benzer özellikler göstermektedir. HA'nın fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri (Tablo 2.2)'de belirtilmiştir. Bu özellikler sayesinde doku mühendisliği çalışmalarında HA sıklıkla kullanılmaktadır. (143)

Tablo 2-2: HA'nın fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri (143)

ÖZELLİK	DEĞER
Molekül formülü	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Ca/P oranı	1.67
Kristal yapısı	Hegzegonal
Bozunma sıcaklığı	$>1000^\circ\text{C}$
Erime noktası	1614°C
Elastiklik modülü (GPa)	114
Yoğunluk (g/m^3)	3.16
Sertlik (HV)	600
Biyoaktiflik	Yüksek
Biyobozunma	Düşük
Kemik İletkenliği	Yüksek
Biyouyumluluk	Yüksek
Hücrel uygunluk	Yüksek

HA'nın kemik defekt onarımı, diş çekimi sonrası alveoler soket korunması, alveol kemiği augmentasyonu ve sinüs lifting gibi işlemlerde otojen greft ile birlikte kullanımı başarılı sonuçlar vermektedir. HA tümör cerrahisinde kemikte oluşan boşlukta dolgu materyali olarak, kırık kemik onarımında kemikteki defekti kapatmak için köprü olarak kullanılmaktadır. HA'nın kullanımı donör saha morbiditesini ortadan kaldırsa da granüler migrasyon ve tamamlanmayan rezorpsiyon gibi uzun dönem komplikasyonlara neden olduğu da bilinmektedir (144).

2.5.4.1.2. Trikalsiyum Fosfat. (TCP)

Hidroksiapatit gibi Trikalsiyum Fosfat (TCP) da biyoabsorbe edilebilen, biyouyumlu bir materyaldir. TCP, kalsiyum fosfat yapıda bir form olup, kimyasal bileşimi ve kristal yapısıyla kemiğin mineral yapısına benzer özellik gösterir. HA'ya göre daha hızlı çözünür ve rezorbe olur. Alfa ve Beta tipleri tıpta kullanılan formlardır. α -TCP çok yavaş rezorpsiyon süreci geçirir ve uzun yıllar kemikte bulunabilir. Diğer yandan β -TCP tamamen rezorbe olur. 8 ay sonra tamamen kemikle yer değiştirir. Bu yüzden α -TCP'nin kullanım sahası daha azdır (145).

TCP, kemik oluşumunda matriks görevi görür. β -TCP, yüksek biyouyumluluk, kemik remodelasyon hızına eş zamanlı rezorpsiyon hızı ve osteokondüktif etki ile defekt alanında tam kemik rejenerasyonu oluşmasını sağlar. B-TCP'nin porlu yapısı spongioz kemiğin trabeküler yapısını taklit etmektedir. Bu greftin içerisindeki küçük porlar; kemik remodelasyon hücrelerinin, besinlerin, kapiller damarların, büyüme faktörlerinin, rezorpsiyonu sağlayan fagositik hücrelerin araya girmesini olanak sağlar. Yapısal olarak porlu β -TCP'nin sıkıştırma ve gerilme kuvvetlerine direnci spongioz kemik ile neredeyse aynıdır. Diğer kalsiyum fosfat preparatları gibi β -TCP da kırılğan yapıya sahiptir, gerilme ve kopmaya karşı zayıfken, sıkıştırılan kuvvetlere karşı dirençlidir (115,146)

TCP ile HA arasındaki fark içerdikleri kalsiyum fosfat oranına bağlıdır. Hidroksiapatit greft maddelerinde kalsiyumun fosfata oranı 1:67 dir. Trikalsiyum fosfat greft maddelerinde ise kalsiyumun fosfata oranı 1:5 tir (147). TCP manipülasyon kolaylığı sağlaması ve osteoindüktif özellik kazanması için çoğu zaman otojen kemik greftleri veya allogreftler ile birlikte kullanılır (148).

2.5.4.1.3. Bioaktif Cam

Bioaktif cam greftler, cam yüzeyinde hidroksikarbonat apatit tabakası oluşması ile greftin kemiğe kimyasal olarak bağlanması esasına dayanırlar. Cam granülleri birbirine bağlı bir yapı oluşturur ve kan ile temas sonrası dağılma gerçekleşmez. Klinik olarak periodontal cerrahide kullanım alanları oldukça fazladır. Son yıllarda kullanıma sunulan biyoaktif cam içerikli greftlerin, diğer alloplastlar ile kıyaslandığında daha fazla yeni ataşman ve kemik oluşumu sağlayabileceği gösterilmiştir. Bu greft materyalinin hem hemostatik hem de antibakteriyel özellikleri bulunduğu, kemikleşme üzerine hızlandırıcı etkisinin olabileceği ve bu nedenle kullanımının avantajlı olabileceği şeklinde görüşler vardır. Granül, blok ve çubuk şeklinde üretilmiş olup rezorbe olabilen ve olamayan tiplerde kullanılabilmektedir (103,149).

2.5.4.2. Polimerler

Polimerler içerisinde karbon bulunduran uzun organik zincir molekülünden oluşurlar. Polimerik malzemenin kristallliği malzemenin özellikleri üzerinde büyük etkiye sahiptir. Malzemenin yüksek kristal oranına sahip olması su emilimini azaltır, gaz geçirgenliğini önler ve çözücülere karşı direnci artırır. Polimerlerin protez malzemesi olarak değişik yerlerde kullanımı, II. Dünya Savaşı sonrası yapılan araştırmalar ve ihtiyaçlardan sonra hızla artmış ve tercih edilmesinde pek çok avantajlı yanı etken olmuştur. Mekanik ve fiziksel yapısı geniş bir aralıkta değişen polimer malzemelere, ince iplik, şeffaf film, kalın levha, blok yada profil gibi çok değişik şekil istenilen kolaylıkla verilebilir ve maliyetleri de oldukça düşüktür (150).

Polimerler, küçük tekrar eden grupların uzun zincirlerini içeren biyomoleküllerdir. Polimerler doğal yapısından uzaklaşmayacak şekilde birçok farklı sayıda şekillendirilebilirler. Polietilen, polimetilmetakrilat, poliprofilen, silikon rubber gibi hidrofobik yapıda olabilirler. Bazılarının yapısı bozulmaya yatkınken, diğerleri vücut içerisinde bütünlüklerini korurlar. Poliglikolik asit ve poliaktik asit yapıları rezorbe olabilen fiksasyon vidaları olarak kullanılabılırler (142,151).

HTR (Hard tissue replacement) son dönemde kullanılmaya başlayan polimer esaslı greft maddesidir. Polimetilmetakrilat, polihidroksietilmetakrilat ve kalsiyum hidroksit'ten meydana gelen, rezorbe olmayan, doku uyumlu mikroporöz bir greft maddesidir. Alveol kemiğine teması sayesinde yeni kemik oluşumu için iskelet görevi üstlenir. Osteokondüktif etkiye sahiptir. Hidrofilik yapısı pıhtı oluşumunu yardımcı olur.

Yapılan bir çalışmada, insan periodontal defektlerinde, HTR uygulaması sonrası histopatolojik araştırma sonucu HTR partiküllerinin rezorbsiyona uğramadığı ve alıcı dokunun grefte uyumunun iyi olduğu bildirilmiştir (152).

2.6. Kemik Greftlerinin Patofizyolojisi

Kemik greftlerinde 5 evre sonunda şekillenmiş kemik ortaya çıkar. Bunlar; inflamasyon, osteogenezis, revaskülarizasyon, remodeling ve şekillenmiş kemik aşamalarıdır. Greft kemik iyileşmesinde tekrar iyileşme için kullanılabilen ve canlı hücreler taşıyan, taşınabilir bir yapı olarak tanımlanmaktadır. Kemik grefti iyileşmesinde 3 temel elemente ihtiyaç vardır:

- 1- Hücre komponenti: Defekt bölgesinde yeterli sayıda osteoblastik ve osteoprogenitör hücrelerin bulunması.
- 2- Büyüme ve farklılaşma faktörleri: En önemli büyüme faktörleri polipeptit büyüme faktörleri (PGF), FGF, PDGF ve IGF'dir. Farklılaşma faktörlerinden özellikle kemik morfogenetik proteini (BMP-2 ve 7) greft iyileşmesinde çok etkilidir.
- 3- Kemik iskelet matriksi: Bu iskele matriksi hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özelliğe sahiptir.

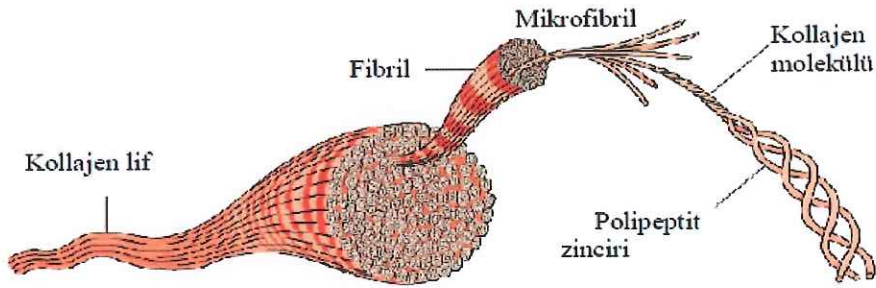
Kemik greftinin iki önemli görevi, osteogenezise kaynaklık yapmak ve mekanik destek sağlamaktır. Kemik greftinin iyileşme sürecinde en çok önem teşkil eden konu bölgenin kanlanmasıdır. Radyasyona uğramış kemikte yeniden damarlanma ve iyileşme yeteneği yüksek oranda azalmıştır. Bu tarz kemiklerde greft uygulaması sonrası komplikasyonlar daha sıklıkla görülür. İnternal fiksasyon ile sabitlenmeyen greftlerde ise genellikle kaynama sorunu ortaya çıkar. Partiküler kemik greftleri tercih edildiğinde membran ve fiksasyon vidaları ile defekt alanında stabilizasyon sağlanmasına dikkat edilmelidir (153).

Greft materyalinin osteoblastların rahatlıkla tutunabileceği, defekt alanında anjiyogenezisin kolaylıkla oluşabileceği ve materyalin içinde fibröz doku proliferasyonu ile birlikte yeni kemik oluşumunun sağlanabileceği şekilde bir yapısal özellik göstermesi porözite sağlanmasıyla olabilir (154).

2.7. Kollajen

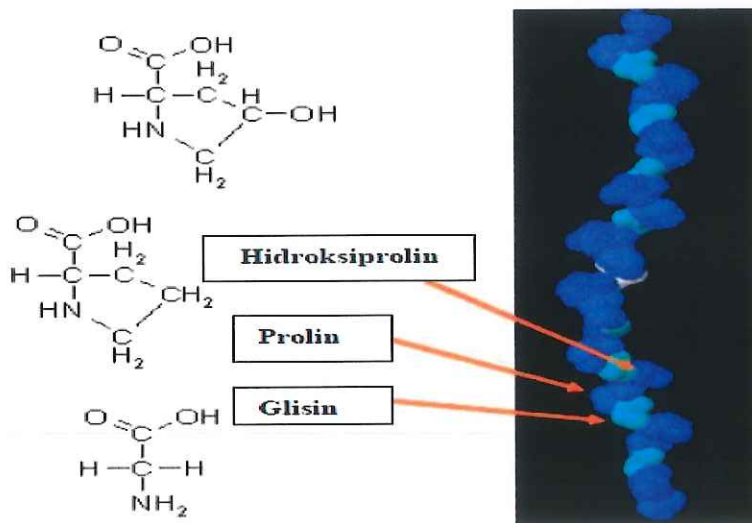
Kemiğin organik matriksinin büyük bir kısmı tip 1 kollajenden kaynağını alır. Kollajen bağ dokusunun ana bileşenidir. Memelilerde en çok bulunan proteindir. Vücut proteinlerinin yaklaşık % 30'unu oluşturur. Kollajenin ilk olarak tanımlanmasının üzerinden 150 seneden fazla süre geçmiştir (155).

Kollajenin yapısını oluşturan lifler ve fibriller, deride ve tendonlarda birbirine paralel demetler halinde, akciğerlerde düzensiz bir şekilde, korneada ortognal tabakalar halinde, kıkırdakta gevşek ağ yapısında, kemik ve dişlerde kalsiyum fosfat kristalleri için matriks olacak şekilde konumlanır (Şekil 2.8) (156).



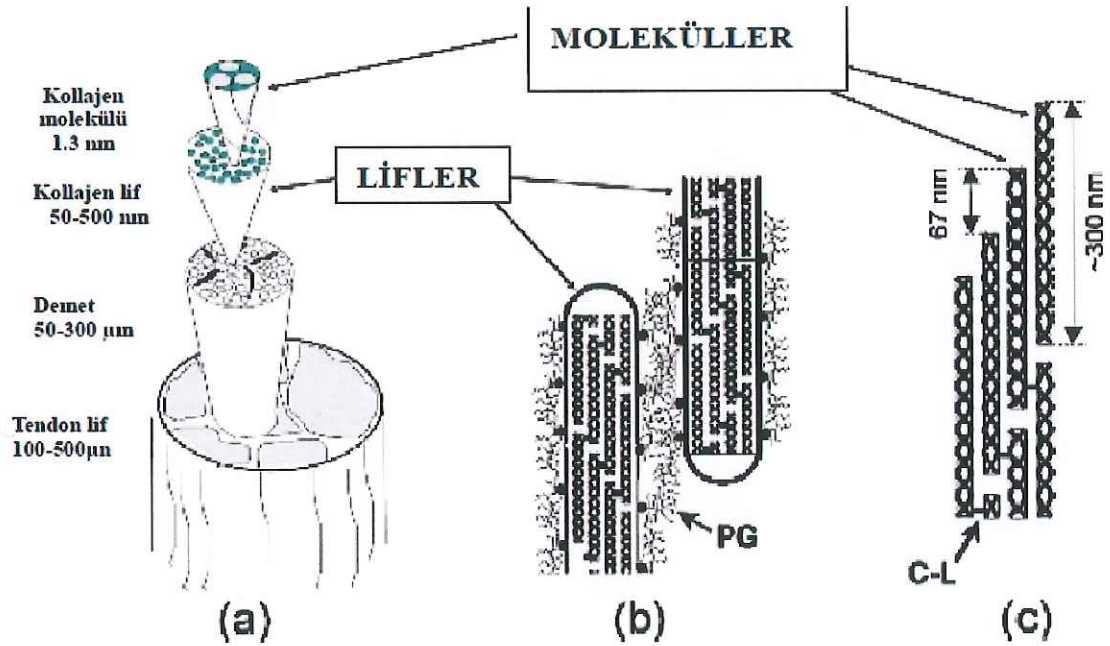
Şekil 2-8: Kollajen yapısının şematik gösterimi (156).

Kollajen yapısındaki aminoasitlerin neredeyse % 35'i glisin, % 21'i prolin ve hidroksiprolin, %11'i alanindir. (Şekil 2.9) Glisin en küçük yan gruptur ve dizide her üçüncü pozisyonundaki tekrarı zincirlerin heliks içinde sık dizilimine neden olmaktadır. Prolin ve hidroksiprolin, polipeptid omurganın rotasyonunu sınırlar ve bu sayede üçlü sarmalın dayanıklılığını artırırlar (156).



Şekil 2-9: Hidroksiprolin, prolin, glisin molekül yapılarının şematik gösterimi (156).

Tendonda ve kemikte var olan hücre dışı proteinin % 90'dan fazlası ve derideki proteinlerin % 50'den fazlası kollajen içermektedir. Kollajen kökenli bir yapısı olan tendonun hiyerarşik yapısı gözlemlendiğinde en düşük kademede 300 nm uzunluğunda üçlü heliks protein zincirleri şeklindeki kollajen molekülleri bulunmaktadır. İplikçi yapı ise, tendonun mekanik hareketlerine yardımcı olan proteoglikanlarca zengin hücre dışı matris tarafından beraber tutulmasını sağlamaktadır (157) (Şekil 2.10).



Şekil 2-10: Tendonun hiyerarşik yapısının şematik gösterimi a. Kollajen molekülü, iplikçigi, demeti ve tendon lif yapısı, b. ve c. molekül ve iplikçik arasındaki bağlantılar (157).

Kollajenin ana molekülü tropokollajendir. Tropokollajende hücrenin içinde sentez edilen prokollajenler tarafından oluşturulur. Bugüne kadar tespit edilmiş 29 adet farklı kollajen bulunmaktadır (158). Kollajen ile hidroksiapatit arası dağılım kemiğin fiziksel kuvvetlere karşı direncini belirler. Kollajen kemiğin çekme kuvvetlerine karşı direnç ve esneklik kazanmasını sağlar. Kemik içindeki kollajenin olmaması durumunda kemiğin doğal şeklinde bozulma gözlemlenmezken, kolayca kırılğan bir yapı ortaya çıkar. Kollajen azlığında yada işlev bozukluklarında osteogenezis imperfekta, osteoporozis, osteoartrosis, Ehlers-Danlos sendromu, birçok osteokondroplasiler gibi iskelet sisteminde hasara neden olan hastalıklar görülebilmektedir (18,159).

Kollajenin çok sayıda değişik tiplerinin olduğu bildirilmiştir. Daha sıklıkla kullanılan ve doku spesifik 5 tip kollajen (Tablo 2.3)'de belirtilmiştir (160).

Tablo 2-3: Doku spesifik kollajenler (160).

Tip	Lokalizasyon	Sentez Yeri	Özellikleri	Moleküler Yapı
1	Deri, kemik, Tendon, Fasya, Ligament	Fibroblastlar	Hidroksiprolini az iki zincirin hibridi.	$[\alpha-1(1)]_2\alpha-2$
2	Hiyalin kartilaj	Kondrositler	Hidroksiprolini çok kartilaj proteoglikanları ile yakın ilişkili.	$[\alpha-1(2)]_3$
3	Deri, damarlar, iç organlar	Fibroblast, düz kas hücreleri	Hidroksiprolini çok, hidroksilizi az maturasyon sonrası azalır	$[\alpha-1(3)]_3$
4	Bazal membranlar	Epitelyal hücreler	Hidroksilizinden çok zengin .	$[\alpha-1(4)]_3$
5	Düz kas, plasenta	Düz kas hücreleri	Hidroksilizinden zengin, amorf prokollajen içerir.	$[\alpha-1(5)]_2\alpha-2$

Tip 1 kollajen en bol bulunan ve en iyi çalışılan kollajendir. Karbonhidrat oranı % 1'den az olan bir glikoprotein yapıya sahiptir. Şeker içeriği tek bir galaktoz ünitesi ya da galaktoz ve glikozdan oluşan disakkarittir. Tip 1 kollajen organların çoğunluğunda ve özellikle tendonlarda ve bağ dokusunda çekme direncini oluşturmak ile birlikte kemikte biyomekanik direnç sağlar. Kemiğin organik ağırlığının yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadır. Tip 1 kollajen molekülünde iki adet $\alpha 1$ polipeptid ve bir adet $\alpha 2$ polipeptid zinciri üçlü sarmal yaparlar. Daha sonra bu kollajen molekülleri birleşerek kollajen liflerini oluştururlar (161,162).

2.7.1. Kollajenlerin kullanım sahaları

Kollajenler farklı fiziksel özelliklere sahiptir ve değişik alanlarda kullanılmaktadır. İnce tabaka halinde hemostatik ajan olarak, lif formundakiler sütür yapımında kullanılabilir. Jel formu kozmetik alanında kullanılmaktadır. Kollajenler (163):

- 1- Diş hekimliği ve oral cerrahi,
- 2- Yanıklar,
- 3- Ürolojik cerrahi,
- 4- Basınç yaralarının tedavisi,
- 5- Hemostazis,
- 6- Rekonstrüktif cerrahi,
- 7- Ortopedi alanlarında kullanılmaktadır.

Kollajenler, diş hekimliğinde kemik defektlerinin tedavisinde, hemostatik ajan olarak, hidroksiapatitler ile birlikte alveol kemiği ogmentasyonunda, sinir rejenerasyonu gibi birçok alanda kullanım sahası bulmuştur (164,165,166,167).

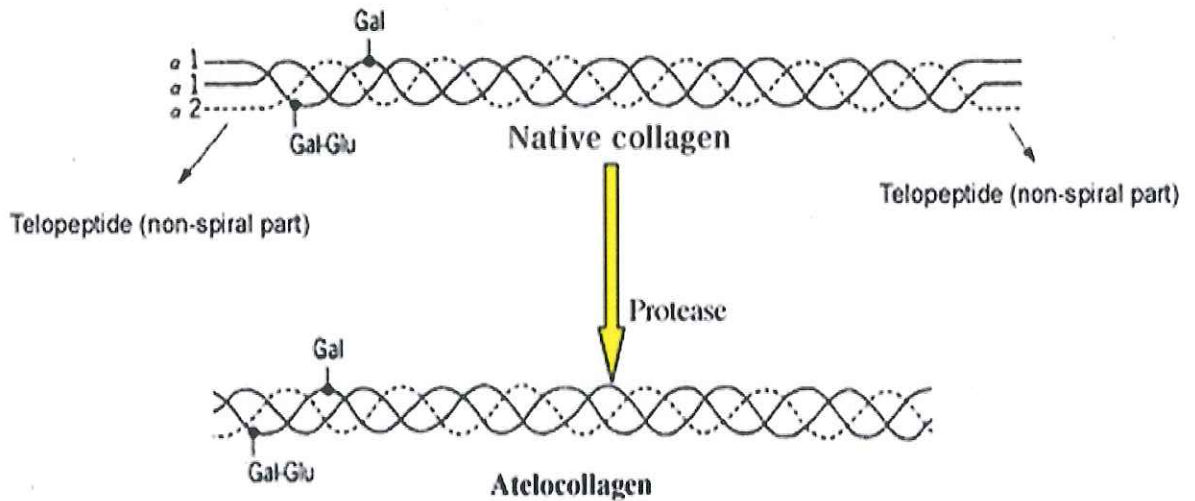
2.7.2. Kemik iyileşmesinde kollajen ve etki mekanizması

Yara iyileşmesinde kollajen hemostatik etkiyi, trombositler ile etkileşimi, kollajenin adhezyon, agregasyon ve salgılama reaksiyonlarını güçlendirmesi sayesinde gerçekleştirir. Fibronektin ile etkileşime girerek, kollajen trombosit yapışmasına neden olur. Hücresel komponentte özellikle makrofajlarda artışa (Makrofajlar yara debridmanında yer alır, büyüme faktörleri oluşturur ve anjiyogenezi uyarır) neden olarak enflamatuvar fazın güçlenmesine yardımcı olur, ayrıca düzenli bir fibroblast proliferasyonu için destek görevi görürler (168).

Temel kollajen tipleri, immünflorasan monospesifik poliklonal antikor kullanılan çalışmalarda, tip 1 kollajen matür kemikte ve tip 2 ve 3 kırık kallusundaki spesifik bölgelerde mevcuttur. Enflamatuvar fazda, primitif mezenkimal yapıları tip 2 ve tip 3 üretirler. Reperatif faz esnasında, periosteal yüzey boyunca osteoprogenitör hücrelerin migrasyonu ve kapiller invazyonu için tip 3 kollajen liflerine substrat olarak görev yapan bir matriks proteini sentezlenir (169).

2.7.3. Atelokollajen

Atelokollajen tip 1 kollajendir. Kollajenin immünojenik reaksiyon göstermesi biyomateryaller ile birlikte kullanılmasında ortaya çıkan en büyük sorunlardan biridir. Ana antijenik yapıyı ise; kollajenin her iki tarafında bulunan ve kısa, heliks olmayan, çevre matrikslerin moleküler yapılarına bağlanarak kollajen molekülünün kovalent çapraz bağlanmasını sağlayan telopeptidler oluşturmaktadır. Telopeptid kısımlar kollajenin antijenik özelliklerini belirler. Atelokollajen proteolitik enzimler (pepsin, proteaz) kullanılarak antijenik telopeptidlerin kaldırılması esasına dayanır. (Şekil 2.11) Diğer kollajenler ile kıyaslandığında düşük antijenitesi sayesinde daha güvenli ve tercih edilebilir bir biyomateryal olarak öne çıkmaktadır. Atelokollajenin yara iyileşmesinde doğal bir iyileşme süreci oluşturduğu, fibroblast agregasyonuna izin verdiği, postoperatif inflamasyon reaksiyonunu kısalttığı belirtilmektedir (9,170,171,172,173).



Şekil 2-11: Atelokollajen molekülünün şematik gösterimi (172).

Takechi ve arkadaşları atelokollajen ve hidroksiapatit içeren poly (D, L-laktid-ko-glikolik asit) (PLGA) yapının kemik dokusunun iyileşmesi üzerine yaptıkları çalışmada atelokollajen-hidroksiapatit partikülleri içeren PLGA yapının, yalnız PLGA uygulamasına göre daha yüksek dayanıklılık direnci gösterdiğini ve Atelokollajen yapının hücre bağlantısı, proliferasyonu ve yumuşak doku cevabı açısından PLGA ile kıyaslandığında daha iyi sonuçlar gösterdiğini bildirmişlerdir (174).

Galbavy ve arkadaşları deney hayvanları üzerinde yaptıkları sığır kaynaklı atelokollajen hidroksiapatit karışımı ksenogreft çalışmasında kemik ve yumuşak dokudaki iyileşmenin sorunsuz gerçekleştiğini bildirmişlerdir (175).

Kim ve arkadaşları tavşan kalvaryada defektlerinde fibrin jel ve fibrin-atelokollajen kompozit jel karışımının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada 8 hafta sonunda fibrin jele oranla fibrin-atelokollajen kompozit jel karışımında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla yeni kemik oluşumu gerçekleştiğini belirtmişlerdir (176).

Itoh ve arkadaşları doku ve organlar için implante edilebilir doku iskelelerinin antijenik etkilerinin olmamasından ve biyouyumlu olmaları gerektiğinden bahsetmişler. Doğal kollajen molekülünden telopeptidlerin kaldırılması sonucu üretilen atelokollajenin implante edilebilen materyaller arasında temel matriks yapıyı en iyi şekilde oluşturabileceğini belirtmişlerdir (177).

Bu çalışmada amacımız, sıçan tibiasında 3 mm çapında oluşturulan kemik defektlerinde sığır kaynaklı atelokollajen tip 1 ile hidroksiapatit karışımından oluşan ksenogreftin (Hypro-Oss®) kemik iyileşmesine ve yeni kemik yapımına anlamlı katkısının olup olmadığının; karbonat apatit içeren anorganik sığır kemiğinden oluşan ksenogreft (Bio-Oss®) ile karşılaştırarak histopatolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirmektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamızda;

- 44 adet Sprague Dawley cinsi 250 ± 20 g ağırlığında 10-12 haftalık erkek sıçan
- Ketalar® flakon (Ketamin HCL, Parke Davis, Berlin, Almanya)
- Rompun® flakon (Xylazin hidroklorid, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye)
- Gentavet® 50 ml. enjeksiyonluk çözelti (Vetaş Veteriner ve Tarım İlaçları A.Ş., Türkiye)
- Contramal® 50 mg. kapsül (Tramadol HCl) (Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. Türkiye)
- Fizyo dispanser, mikromotor, anguldruva
- 3 mm. çapında paslanmaz çelik trefin frez (Gebr. Brasseler GmbH & Co. KG. Lemgo, Almanya)
- Steril cerrahi el aletleri seti (8'li)
- İnsülin enjektörleri
- Bistüri ucu (15 numara)
- Steril gaz tamponlar
- %0,9 Serum Fizyolojik
- Formaldehit çözeltisi (%10)
- Batikon (povidon iyot solüsyonu) (Bonmed Sağlık Ürünleri ve Makina San. Tic. Ltd. Şti., Türkiye)
- 3-0 yarım yuvarlak (.) 20 mm ipek dikiş ipliği (Doğsan Tıbbi Malzeme Sanayi A.Ş., Türkiye)
- Tıbbi elastik flaster (Nova Fix, Adana, Türkiye) kullanılmıştır.

3.1.1. Biyomateryaller

Çalışmada sığır kaynaklı iki farklı ksenogreft materyali deney hayvanlarına uygulanarak değerlendirilmeye alınmıştır.

3.1.1.1. Bio-Oss® Kemik Grefti

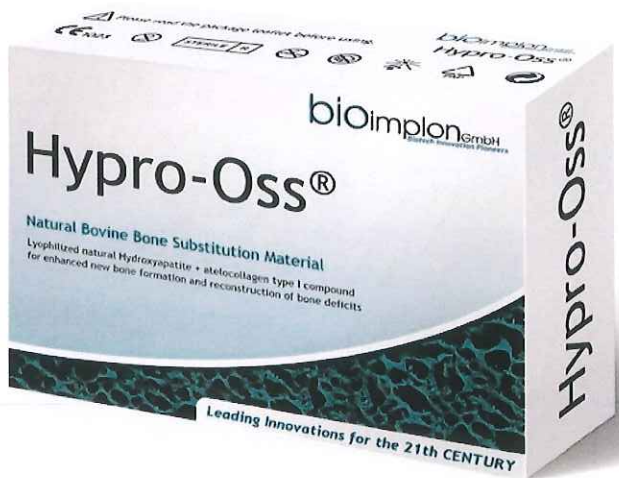
Paket içeriğinde kemiğin tamamen deproteinize edilmesiyle elde edilen, karbonat apatit içeren anorganik sığır kemiğinden oluşan doğal bir ksenogreft materyali bulunmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3-1: Bio-Oss® Kemik grefti ürün kiti

3.1.1.2. Hypro-Oss® Kemik Grefti

Paket içeriğinde %30'u Atelokollajen tip 1 ve doğal osteoindüktif elementler olan TGF, BMP, IFG'den %70'i ise osteokondüktif doğal hidroksiapatit yapıdan oluşan liyofilize ksenogreft materyali bulunmaktadır (Şekil 3.2).



Şekil 3-2: Hypro-Oss® Kemik grefti ürün kiti

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Operasyon Öncesi Hazırlık

3.2.1.1. Genel Bilgi

Çalışmamızın deney hayvanlarının ameliyatları ve sakrifikasyonlarını içeren deneysel kısmı İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı Laboratuvarında, kemik dokularının histolojik ve histomorfometrik incelemeleri İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri için İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alınmıştır. (29.05.2014 tarih ve 2014/60 sayılı karar)

Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Yürütücü Sekreterliği tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 44984)

3.2.1.2. Deney Hayvanları ve Grupları

Deney hayvanları Sprague Dawley türü sıçanlar, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan sağlanmıştır (Şekil 3.3). Deneylerin cerrahi aşamaları bu Anabilim Dalı'nın ameliyathanesi bünyesinde yapılmış olup, operasyon sonrası bakımları Anabilim Dalı içindeki hayvan barınaklarında gerçekleştirilmiş, iyileşme süresi boyunca gözetim altında tutulmuşlardır.



Şekil 3-3: Deney hayvanı olarak kullanılan Sprague Dawley türü sıçanın görüntüsü

Deney hayvanları $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde otomatize edilmiş odada kafeslerde saklanmışlardır. Deney süresince İstanbul Yem Sanayi tarafından hazırlanan standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu ile ad libitum beslenmişlerdir. Deney hayvanları deney süresince her metal kafes içerisinde 3 sıçan olacak şekilde muhafaza edilmiştir.

Çalışmamızda etik kurallara uygunluk açısından deneyde kullanılan sıçanların sağ tibiaları deney protokolüne dahil edilmiştir. Hayvanların post-operatif bakımları ve yaşam kaliteleri düşünülerek her bir sıçanda tek tibiada, tek kemik defekti açılarak işlemler gerçekleştirilmiştir. Bu sayede aynı zamanda kullanılan biyomateryaller arası etkileşim ihtimalinin önüne geçilmiştir.

Çalışmada, araştırmaya başlamadan önce rehber literatürler değerlendirilmiş ve çalışma hipotezine uygun olacak şekilde güç (power) analizi yapılmıştır. Çalışmada gerekli minimum örneklem sayısı güç değeri optimum (%80) tutulması sonucu ortaya çıkmıştır. Etik kurul açısından da uygunluk kriterleri değerlendirilmesi sonucu çalışmamıza 44 adet Sprague Dawley türü sıçanın dahil edilmesine karar verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 44 adet deney hayvanı 3 ana grup ve 7. ve 30. günlerde sakrifikasyon dönemlerine göre düzenlenmiş 6 alt grup içermektedir.

Belirlenen ana ve alt gruplar şu şekildedir;

Ana gruplar:

1. Grup (Standart Grup) 16 hayvandan oluşan bu grupta, osteotomi yapılan bölgelere operasyon sırasında sığır kaynaklı mineralize kemik grefti (Bio-Oss® Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) uygulandı.
2. Grup (Deney Grubu) 16 hayvandan oluşan bu grupta, osteotomi yapılan bölgelere operasyon sırasında sığır kaynaklı atelokollajen-hidroksiapatit (Hypro-Oss® Bioimplon GmbH, Munich, Germany) uygulandı.
3. Grup (Kontrol Grubu) 12 hayvandan oluşan bu grupta osteotomi yapılan bölge boş bırakıldı.

Alt gruplar:

Alt grup 1: Toplam 22 deney hayvanı kullanılan bu grupta, deney hayvanları 7. günde sakrifiye edilmiştir.

1.grup: Deney grubu - Grup I (7.gün)

8 hayvandan oluşan bu grupta her bir sağ tibiaya oluşturulan defekte sığır kaynaklı mineralize kemik grefti (Bio-Oss®) uygulandı ve post-op 7.gün sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

2.grup : Deney grubu - Grup II (7.gün)

8 hayvandan oluşan bu grupta her bir sağ tibiaya oluşturulan defekte sığır kaynaklı atelokollajen-hidroksiapatit (Hypro-Oss®) uygulandı ve post-op 7.gün sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

3.grup: Kontrol grubu - Grup III (7.gün)

6 hayvandan oluşan bu grupta her bir sağ tibiaya oluşturulan defektler boş bırakıldı ve post-op 7.gün sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

Alt grup 2: Toplam 22 deney hayvanı kullanılan bu grupta, deney hayvanları 30. günde sakrifiye edilmiştir.

1.grup: Deney grubu - Grup I (30.gün)

8 hayvandan oluşan bu grupta her bir sağ tibiaya oluşturulan defekte sığır kaynaklı mineralize kemik grefti (Bio-Oss®) uygulandı ve post-op 30.gün sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

2.grup: Deney grubu - Grup II (30.gün)

8 hayvandan oluşan bu grupta her bir sağ tibiaya oluşturulan defekte sığır kaynaklı atelokollajen-hidroksiapatit (Hypro-Oss®) uygulandı ve post-op 30.gün sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

3.grup: Kontrol grubu - Grup III (30.gün)

6 hayvandan oluşan bu grupta her bir sağ tibiaya oluşturulan defektler boş bırakıldı ve post-op 30.gün sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

3.2.1.3. Deney Hayvanı Olarak Ratlar (Sprague Dawley)

Çalışmada deney hayvanı olarak Sprague Dawley türü sıçan seçilmesinde önemli olan birkaç nokta bulunmaktadır. Bunlar:

Çalışmada elde edilebilme ve barındırma şartlarının uygunluğu ve tibia bölgesinin bu tür uygulamalara elverişli olması gibi nedenlerin yanısıra özellikle kemirgenlerin; primatlardan (insan-maymun) daha üstün kemik iyileşme potansiyeline sahip olmalarından dolayı deney hayvanı olarak sıçanlar üzerinde çalışılmasına karar verilmiştir (51). Ayrıca sıçanların boyut olarak kendilerinden büyük deney hayvanlarına göre (örneğin domuz, koyun) genel anesteziye alınma şartlarının daha basit olması (örneğin entübasyona ihtiyaç duyulmaması), operasyon sonrası bakım ve barınmalarının daha kolay olması gibi avantajları da bulunmaktadır (178).

Cinsiyete bağlı metabolizma farklılıklarının kemik oluşumu üzerinde etkisi olabileceği için sadece erkek hayvanlar tercih edildi. Literatür incelemesinde, kemik iyileşmesinin genç alıcılarda, yaşlılara göre daha iyi olduğunun bildirilmesi sebebiyle tüm deneklerin 10-12 haftalık yaklaşık $250g \pm 20g$ olmasına dikkat edilerek yaş farklılığının kemik oluşumu üzerinde göstereceği değişikliklerin elimine edilmesi amaçlanmıştır (179,180).

Tüm bu avantajların dışında sıçanlar, defekt boyutunun artırılmasına bağlı olarak tibialarında fraktür oluşma riski taşımaktadırlar. Bu durum, deney hayvanlarının kemirgen olması ve doğaları gereği çok hareketli yapıya sahip olmalarından dolayı artış gösterebilir. Aynı zamanda deney hayvanlarının genel anestezisi ve sakrifiye edilmesi için gereken anestezik madde miktarlarının birbirlerine yakın değerler olması bu iki işlemide zorlu kılmaktadır. Bu yüzden bu işlemler için uzman veteriner hekim ihtiyacı ortaya çıkmaktadır ve hekimin operasyonda bulunması gerekmektedir.

Ülkemizde üniversite kliniklerinde gerçekleştirilen operasyonlar için gereken etik kurul onay belgeleri bu tür operasyonlarda Sprague Dawley türü sıçanların kullanımına onay vermektedir. Ortopedi ve travmatoloji ile cerrahide, deneysel hayvan modelleri içerisinde Sprague Dawley türü sıçanların kullanımı sıklıkla bildirilmektedir (181).

3.2.1.4. Operasyon Ekibi ve Görev Paylaşımı

Operasyonlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'na bağlı klinik laboratuvarında tam sterilizasyon koşullarında daha önceden belirlenen kişiler tarafından uygulanmıştır. Bunlar;

- **Diş Hekimleri:** Yapılan cerrahi işlemlerin fotoğraflanarak kaydedilmesi, kullanılan malzemenin temini ve sterilizasyonu, deri ve periostun açılması sonrası ulaşılan kemiğe, trefin frez ile defekt oluşturulması, biyomateriyal uygulaması, operasyon bölgesinin kapatılması, asiste edilmesi.
- **Veteriner Hekim:** Deney hayvanlarına genel anestezi madde uygulaması, her türlü ilaç uygulamaları ve anestezi esnasında ve sonrasında deney hayvanlarının genel sağlık kontrolleri
- **Yardımcı Personel:** Operasyon öncesinde ameliyathanenin hazırlığı, sonrasında toplanması, deney hayvanlarının her türlü post operatif bakım ve beslenmelerinin sağlanması.

3.2.2. Cerrahi İşlemler

Deney hayvanlarına katı gıda verilmesi operasyondan 2 saat önce pre-operatif olarak durduruldu. Her gruptaki deney hayvanlarında genel anestezi, 10 mg/kg Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®, Parke Davis) veteriner hekim tarafından intramusküler enjeksiyonu ile sağlandı. (Şekil 3.4)



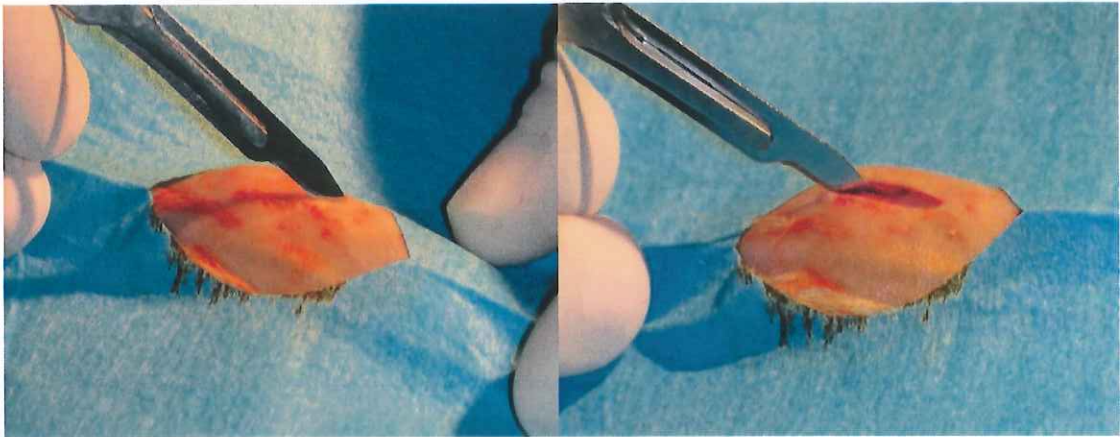
Şekil 3-4: Deney hayvanlarının anesteziğinde kullanılan anestezik maddelerin görüntüsü

Daha sonra deney hayvanlarının sağ tibialarının medial yüzleri tıraşlanarak dezenfeksiyon amacı ile povidon iyot solüsyonu (batikon) sürüldü. (Şekil 3.5).



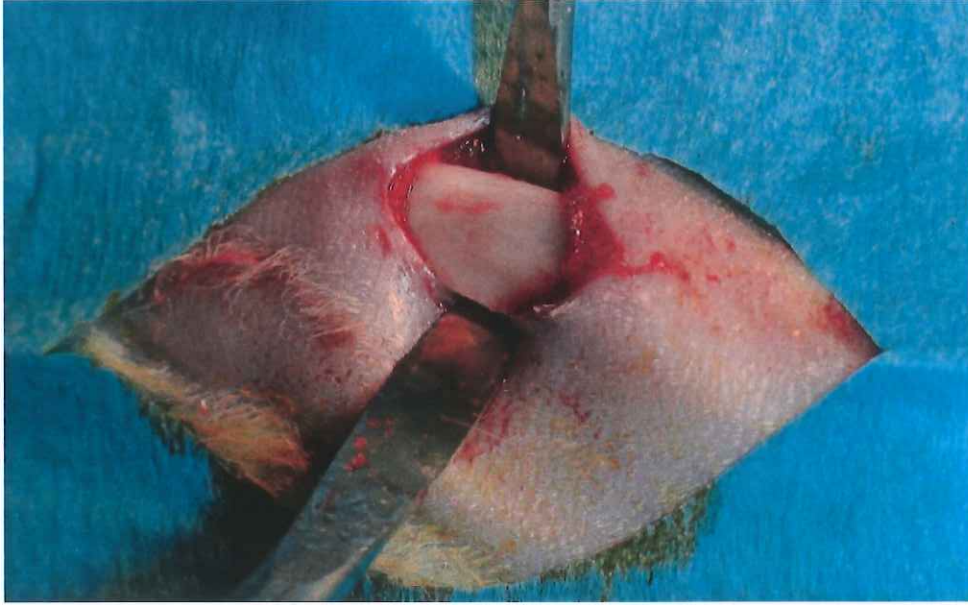
Şekil 3-5: Tıraşlanıp, povidon iyot solüsyonu (batikon) sürülmüş tibianın görünümü

Cerrahi işlemlerin tüm aşamalarında özellikle asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat edilmiştir. Genel anestezi işlemi gerçekleşen deney hayvanlarının tibiaları tıraş makinesi ile tıraşlandıktan ve povidon iyot solüsyonu tatbikinden sonra, sağ bacakları fleksiyon durumuna getirilmiştir. Tibianın medial yüzeyine erişim sağlamak amacıyla kretin orta hattına Bard-Parker 15 no lu bistüri ucu kullanarak 15 mm. uzunluğunda longitudinal yönde cilt ve cilt altı insizyonu gerçekleştirildi (Şekil 3.6).



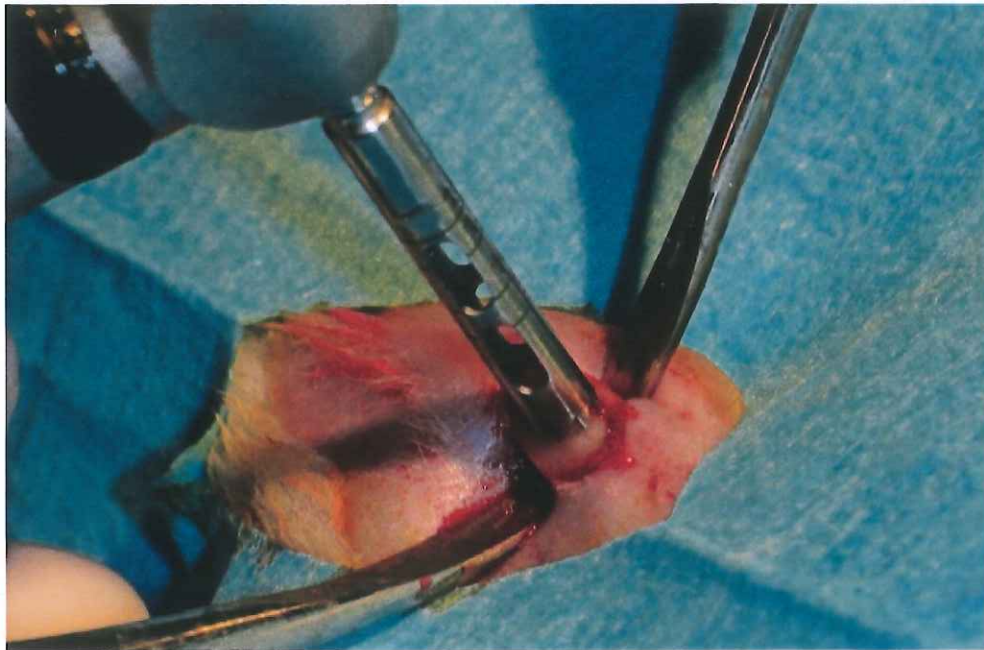
Şekil 3-6: Tibiaya yapılan insizyonun görüntüsü

İnsizyon sonrasında flep, periost elevatörü ile mukoperiostal olarak kaldırıldı ve kemik açığa çıkartıldı (Şekil 3.7).



Şekil 3-7: Açığa çıkarılmış tibia'nın görünümü

Kemiğin kolaylıkla görülebildiği rahat bir çalışma ortamının sağlanması sonrası fizyodispanlere bağlı mikromotor – anguldruva ve ucundaki 3 mm çapındaki trefin frez ile (standardizasyonu sağlama amaçlı) 200-400 devir/dakika'da steril serum fizyolojik soğutması altında kemik defekti oluşturuldu. (Şekil 3-8).

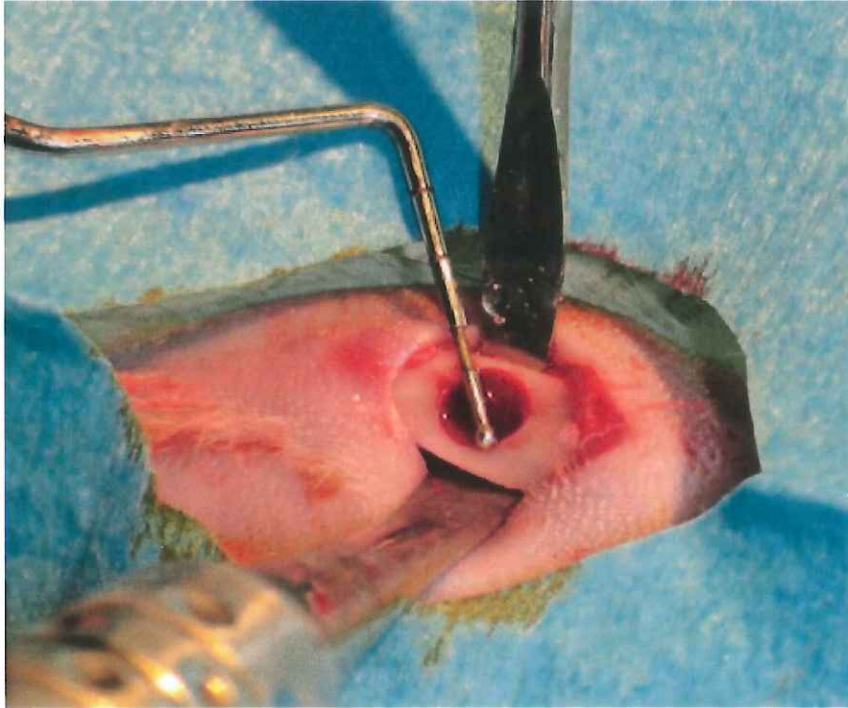


Şekil 3-8: Tibiada 3 mm çapındaki trefin frez ile kemik defekti açılması

3 mm olarak açılan defektler periodontal sonda yardımı ile kontrol edilmiştir (Şekil 3.9). Bu işlemler esnasında defekt alanı içerisindeki kemik, universal küret yardımıyla blok halinde çıkarılmıştır (Şekil 3.10).

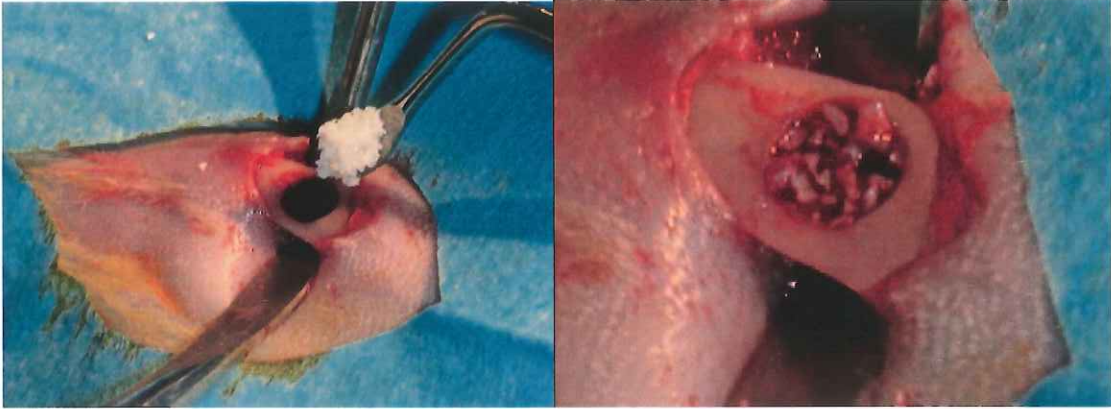


Şekil 3-9: 3mm çapında açılan kemik osteotomisinin görüntüsü

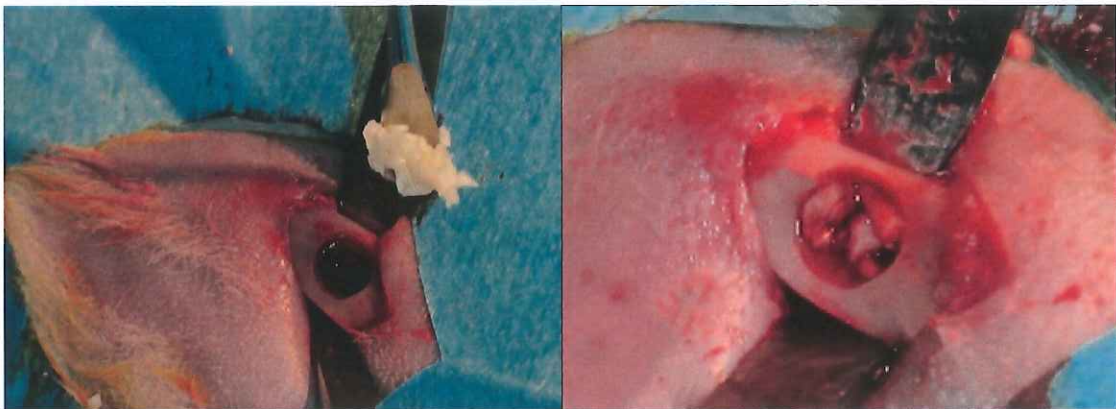


Şekil 3-10: Defekt alanı içerisindeki kemik blok çıkarılması sonrası 3mm çapındaki defekt görüntüsü

Oluşturulan 44 defektin, 16 tanesine sığır kaynaklı mineralize kemik grefti (Bio-Oss®, 0.25 mm. - 1 mm. granül boyutlu, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) (Şekil 3.11), 16 tanesine sığır kaynaklı atelokollajen-hidroksiapatit (Hypro-Oss® 0.5 mm. – 1 mm. granül boyutlu, Bioimplon GmbH, Munich, Germany) (Şekil 3.12) uygulandı ve 12 tanesi ise kontrol grubu olarak boş bırakıldı (Şekil 3.13).



Şekil 3-11: Bio-Oss® kemik greftinin defekte yerleştirilmesi



Şekil 3-12: Hypro-Oss® kemik greftinin defekte yerleştirilmesi



Şekil 3-13: Kontrol grubu olarak boş bırakılan defektin görüntüsü

Biyomateryal uygulamasından sonra defekt çevresindeki yumuşak dokular serbestlenip, dikiş araları eşit olacak biçimde 3.0 ipek iplikle (Doğsan Medikal, Trabzon, Türkiye) primer olarak kapatılmıştır (Şekil 3.14). Daha sonra deney hayvanlarının tibiaları fraktür riskinin azaltılması amacıyla flaster kullanılarak sarılmıştır. Sorunsuz uyanma seansı sonrası deney hayvanları yardımcı personel tarafından kafeslerine yerleştirilmiş ve barınaklarına götürülmüştür.



Şekil 3-14: Bölgenin 3.0 ipek suture ile suture edilmiş görüntüsü

3.2.3. Operasyon Sonrası

3.2.3.1. Post-Operatif Bakım

Uzman veteriner hekim tarafından deney hayvanlarına post-operatif enfeksiyonu engellemek amaçlı operasyon sonrası ve takip eden 2 gün intraperitoneal gentamisin (Gentavet 10mg/kg) uygulanmıştır. Post-operatif dönemde kemik iyileşmesini etkileyebileceğinden non-steroid antienflamatuar analjezikler yerine santral etkili bir analjezik olan Tramadol HCl tercih edilmiştir. Operasyonu takip eden 3 gün boyunca oral yolla günde iki kez (Contramal 2mg/kg) tramadol verilmiştir.

Operasyondan 1 hafta sonra deney hayvanlarının tibialarına sarılan flasterler çıkartılmış ve post-operatif 7. günde deri üzerindeki dikişler enfeksiyon gelişme riskini önlemek amacı ile alınmıştır. İyileşme süreci esnasında deney hayvanlarının genel sağlık durumları ve özellikle yara bölgeleri enfeksiyona karşı kontrol edilmiştir. İyileşme süreci sorunsuz geçmiş ve tüm deney hayvanları sağlıklı olarak deney sürecini tamamlamışlardır.

Bu süreç boyunca deney hayvanlarının yem ve sularının gerekli miktar ve zamanında verlip değiştirilmesi, kafeslerin bakım ve temizliği yardımcı personel tarafından yapılmıştır.

3.2.3.2. Sakrifikasyon İşlemleri

Deney hayvanları operasyondan sonraki 7. ve 30. günler sonunda, veteriner hekim tarafından yüksek doz Ketamin HCl ve Xylazine enjeksiyonu ile sakrifiye edilmiştir.

Sakrifikasyon işlemi sonrasında deney hayvanlarının tibiaları içerisinde %10'luk formaldehit bulunan önceden etiketlenerek belirlenmiş biyopsi kaplarına sırasıyla yerleştirilmiştir (Şekil 3.15 ve Şekil 3.16). Sıçanlardan alınan doku örnekleri histopatolojik ve histomorfometrik incelemeler için İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında takibe alınmıştır.



Şekil 3-15: 7. günde sakrifiye edilen sıçanların tibia kemikleri (Soldan sağa Bio-Oss®, Hypro-Oss®, Kontrol) ve %10'luk formaldehit bulunan biyopsi kapları



Şekil 3-16: 30. günde sakrifiye edilen sıçanların tibia kemikleri (Soldan sağa Bio-Oss®, Hypro-Oss®, Kontrol) ve %10'luk formaldehit bulunan biyopsi kapları

3.2.3.3. Histopatoloji ve Histomorfometri

Materyaller 1 hafta süre ile %10'luk formalinde fikse edildi. Fiksasyondan sonra tüm materyal %50'lik formik asit ve %20'lik sodyum sitrat çözeltilerinden 1'er ölçek alınarak hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon tamamlandıktan sonra defekt bölgesinden geçen kesitlerden 2 dilim çıkarılarak kesitler rutin doku takibine alındı. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5-7 mikron (μ) kalınlığındaki seri kesitler hematoksilin-eozin (H&E) yöntemiyle boyanıp ışık mikroskopunda incelenmiştir.

İnceleme sırasında bütün gruplardan 7. ve 30. günlerde elde edilen kesitler;

- Yeni kemik yapımı,
- Kemik iyileşmesi skoru,
- İltihap,
- Fibrozis,
- Nekroz,
- Yabancı cisim reaksiyonu,
- Residüel (kalan) greft materyali açısından değerlendirildi.

Bu bulguların değerlendirilmeleri sırasında "Olympus Soft imaging system AnalySIS FIVE" isimli görüntü analiz sistemi kullanıldı. Hazırlanan seri kesitlerden ışık mikroskobu altında üçer saha esas alınarak dijital görüntüler elde edildi ve değerlendirmeler yapıldı.. İltihap, yabancı cisim reaksiyonu, residüel greft materyalinin varlığı ve nekroz incelenirken yok (0), var (1) olarak değer verildi. Fibrozis incelenirken bir büyük büyütme alanında kapladıkları bölgenin yüzdesine göre 0, %5-30 (1), %30-60 (2), %60'dan fazla alanı kaplıyorsa (3) değeri verildi.

Kemik iyileşmesi değerlendirilmesinde Allen'in kırık iyileşmesi metodu kullanıldı (182) (Tablo 3.1).

Tablo 3-1: Allen'in kırık iyileşmesi skarlama sistemi (182)

İyileşme Aşamaları	Skarlama
İyileşme yok	0
Tamamlanmamış kırık oluşumu	1
Tamamlanmış kırık oluşumu	2
Ossifikasyon evresiyle tamamlanmamış kemik oluşumu	3
Erken evrede ossifikasyonla tamamlanmamış kemik oluşumu	4
Geç evrede ossifikasyonla tamamlanmamış kemik oluşumu	5
Tamamlanmış kemik oluşumu	6

Yeni kemik yapımı incelenirken ölçüm ve sayım işlemlerinde görüntü analiz sistemi yardımıyla her defekt bölgesinden hazırlanan preparatlarda büyütme alanında incelenen yeni kemik trabeküllerinin kapladıkları alan mikron kare cinsinden hesaplanarak değerlendirildi.

3.2.3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiş ve parametrelerin normal dağılıma uygun olmadığı saptanmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde

Mann-Whitney U test kullanılmıştır. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve Continuity (Yates) düzeltmesi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Deneyisel çalışma süresi boyunca, ratların uygulanan cerrahi işlemi iyi tolere ettiği, beslenmeleri açısından herhangi bir sorun ile karşılaşmadığı, herhangi bir enfeksiyon oluşmadığı ve deneklerin genel sağlık durumlarının iyi olduğu gözlemlendi.

4.2. Histopatolojik ve Histomorfometrik Bulgular

4.2.1. Işık Mikroskobu Değerlendirmeleri

4.2.1.1. 7. Gün Bulguları

İlk yedi gün içerisinde deney hayvanlarında yara iyileşmesi ile ilgili herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir. Gruplar yabancı cisim reaksiyonu ve nekroz oluşumu açısından değerlendirildiğinde hiçbir grupta nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu görülmemiştir. Grupların hepsinde defekt bölgelerinin çeşitli yoğunluklarda damardan zengin, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan aktif fibröz doku ve genç mezenkim hücreleri ile dolu olduğu gözlemlendi.

Grup I ve II’de fibröz bağ dokusu içinde greft partikülleri ve bunların etrafında çoğu kısmı greft materyali ile temas halinde ve materyalden apozisyon çizgisi ile ayrılan yeni kemik trabekülleri görüldü. Bazı bölgelerde greft materyali etrafında toplanmış osteoklastik dev hücreler görüldü. Grup III’te fibröz doku içerisinde bir bölümü anastomoz yapan, aktif osteoblastlarla çevrili yeni kemik trabeküllerinin oluşumu saptandı ve hafif derecede kronik iltihap hücresi infiltrasyonu gözlemlendi. (Şekil 4.1), (Şekil 4.2), (Şekil4,3).



Şekil 4-1: 7. gün Grup I (H&E x 100)

Fibröz doku içinde greft materyali ve defekt ucunda başlayan kemikleşme



Şekil 4-2: 7. Gün Grup II (H&E x 40)

Aktif görünümde bağ dokusu içinde greft partikülleri ve çevresinde yeni kemik yapım alanları

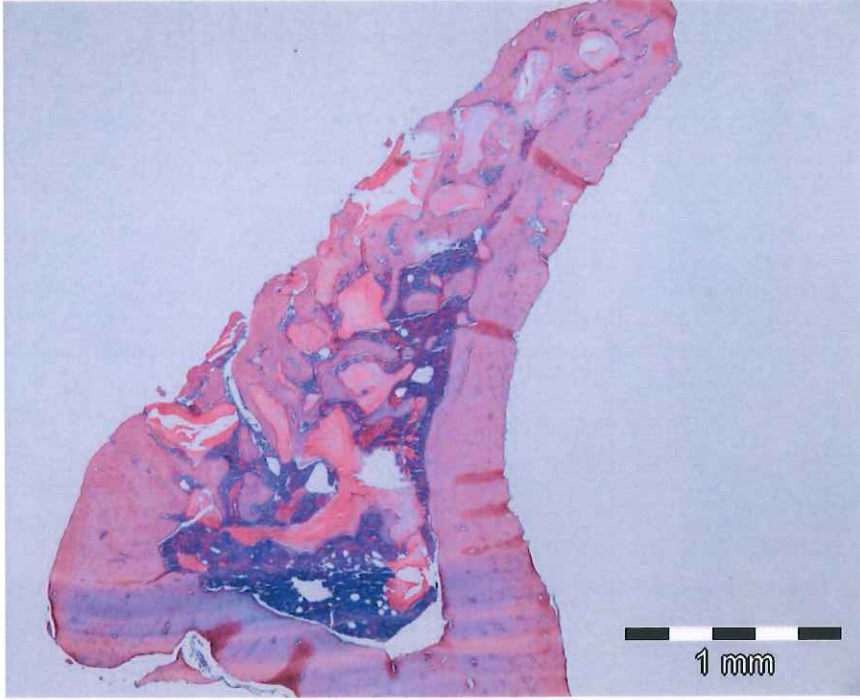


Şekil 4-3: 7. gün Grup III (H&E x 40)

Defekt uçları arasında köprülenme şeklinde ince kemik trabekülleri ve bir alanda fibrozis

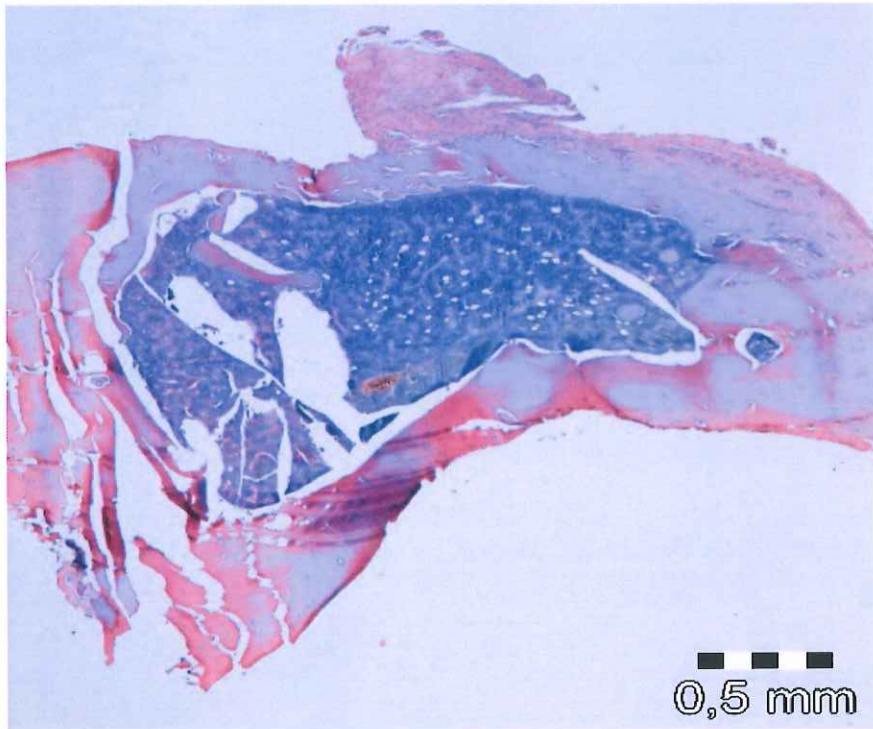
4.2.1.2. 30. gün bulguları

30 gün boyunca deney hayvanlarında yara iyileşmesi ile ilgili herhangi bir komplikasyon gerçekleşmemiştir. Gruplar nekroz, yabancı cisim reaksiyonu ve iltihap açısından değerlendirildiğinde, hiçbir grupta nekroz, yabancı cisim reaksiyonu ve iltihap görülmemiştir. Grup I ve II’de fibröz bağ dokusu içinde kalan greft partiküllerinin çevrelerinin yeni kemik dokusu ile dolu olduğu görüldü. Defektlerin içini dolduran kemik dokusunun defektlerin periosteal ve endosteal alanlarında lameller biçim almaya başladığı saptandı. Kalan greft materyalleri etraflarında daha belirgin olmak üzere, osteoklastik hücre hareketlerinin olduğu görülmüştür. Grup III’te defekt bölgesini dolduran damardan zengin, aktif fibröz dokunun yerini çoğunlukla yeni kemik yapımına bıraktığı belirlendi. Yeni kemik trabeküllerinin defekt kenarları arasında defektin üzerini öretecek şekilde anastomozlar yaparak köprü oluşturduğu görülmüştür (Şekil4.4), (Şekil 4.5), (Şekil 4.6).



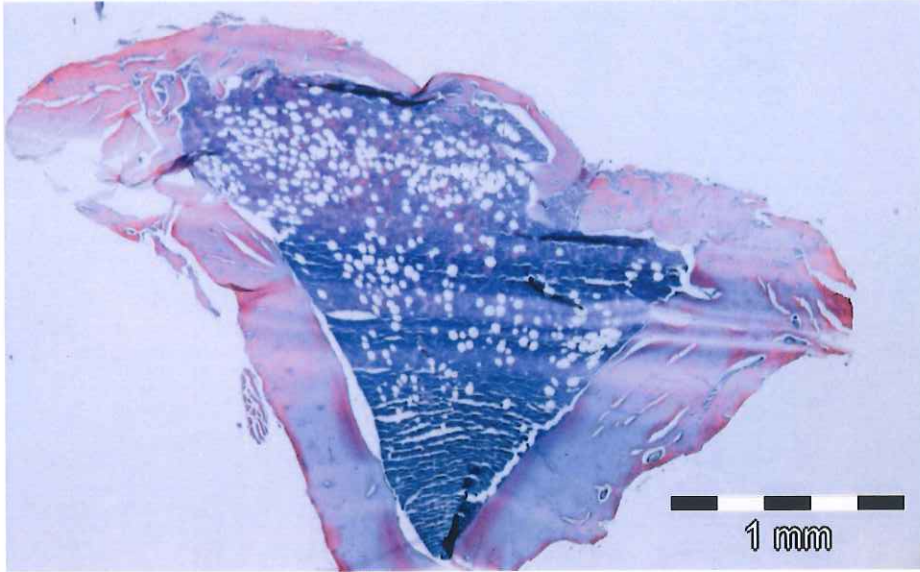
Şekil 4-4: 30. gün grup I (H&E x 40)

Defekt bölgesinde, greft materyali çevresinde yeni kemik dokusu



Şekil 4-5: 30. gün grup II (H&E x 40)

Defekt bölgesinde, defekti neredeyse tam kapatan kemikleşme ve altında az sayıda greft materyali



Şekil 4-6: 30. gün Grup III (H&E x 40)

İki defekt ucunu birleştiren, köprüleşme şeklinde yeni kemik yapımı

4.3. İstatistiksel Bulgular

Çalışmadaki değerlendirme kriterlerinden nekroz ve yabancı cisim reaksiyonu ne 7. günde ne de 30. günde hiçbir grupta gözlenmemiştir.

Tablo 4-1: Grupların 7. ve 30. günlerdeki iltihap düzeylerine göre değerlendirilmesi

İltihap	Grup I	Grup II	Grup III	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
	(medyan)	(medyan)	(medyan)	
	(Min-Max)	(Min-Max)	(Min-Max)	
7. gün	0±0 (0) (0)	0±0 (0) (0)	0,33±0,82 (0) (0-2)	0,264
30. gün	0±0 (0) (0)	0±0 (0) (0)	0±0 (0) (0)	1,000
² p	1,000	1,000	0,317	

¹ Kruskal Wallis Test

² Mann Whitney U Test

Grupların 7. gün ve 30. gündeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p_1:0.654$; $p_2:1.000$; $p>0.05$).

Grup I'de; 7. ve 30. gündeki tüm sıçanlardaki iltihap düzeyi %0-5 arasındadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Grup II'de; 7. ve 30. gündeki tüm sıçanlardaki iltihap düzeyi %0-5 arasındadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Grup III'te; 7. ve 30. gündeki iltihap düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.317$; $p>0.05$).

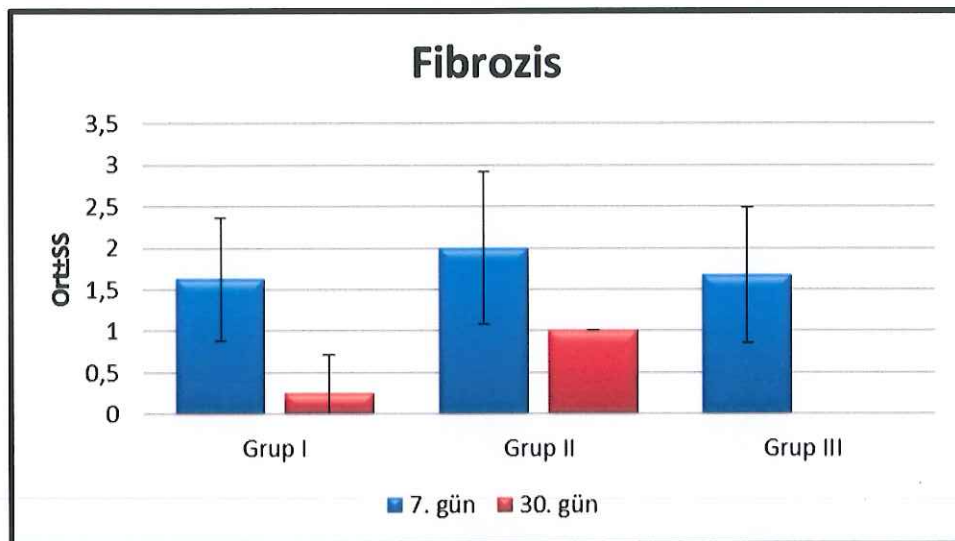
Tablo 4-2: Grupların 7. ve 30. günlerdeki fibrozis düzeylerine göre değerlendirilmesi

	Grup I	Grup II	Grup III	
Fibrozis	Ort±SS (medyan) (Min-Max)	Ort±SS (medyan) (Min-Max)	Ort±SS (medyan) (Min-Max)	¹ p
7. gün	1,62±0,74 (1,5) (1-3)	2,0±0,92 (2) (1-3)	1,67±0,82 (1,5) (1-3)	0,654
30. gün	0,25±0,46 (0) (0-1)	1,0±0 (1) (1-1)	0±0 (0) (0)	0,001**
² p	0,002**	0,009**	0,002**	

¹ Kruskal Wallis Test

² Mann Whitney U Test

** $p<0.01$



Şekil 4-7: Grupların 7. ve 30. günlerindeki fibrozis düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların 7.gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.654; p>0.05).

Grupların 30. gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.001; p<0.01). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc değerlendirmeler sonucunda Grup II'nin 30. gündeki fibrozis düzeyi, Grup I (p:0.003) ve Grup III'den (p:0.001) anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p<0.01). Grup I ve Grup III arasında 30. gündeki fibrozis düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.202; p>0.05).

Grup I'de; 7. gündeki fibrozis düzeyi, 30. gündeki fibrozis düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.002; p<0.01).

Grup II'de; 7. gündeki fibrozis düzeyi, 30. gündeki fibrozis düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.009; p<0.01).

Grup III'te; 7. gündeki fibrozis düzeyi, 30.gündeki fibrozis düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.002; p<0.01).

Tablo 4-3: Grupların 7. ve 30. günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerine göre değerlendirilmesi

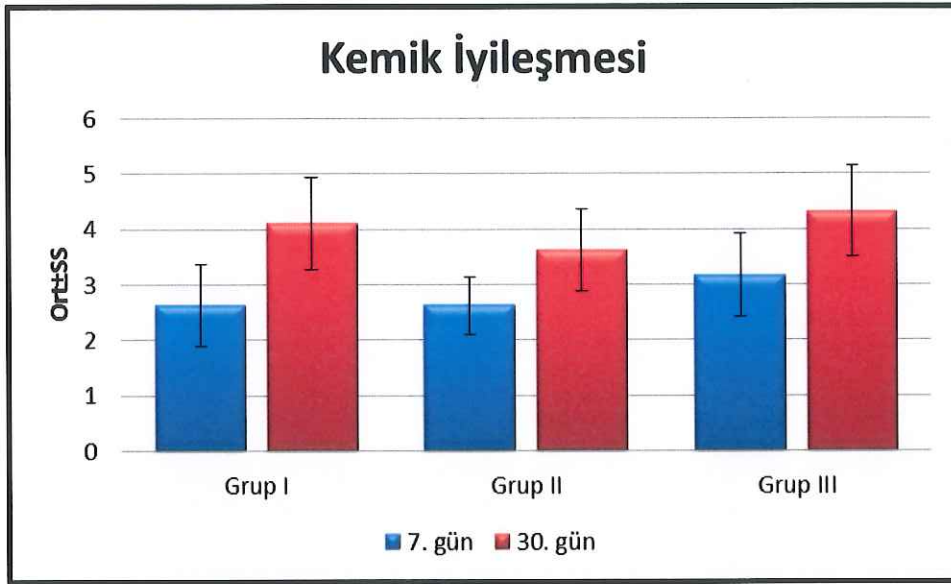
Kemik İyileşmesi	Grup I	Grup II	Grup III	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
	(medyan) (Min-Max)	(medyan) (Min-Max)	(medyan) (Min-Max)	
7. gün	2,63±0,74 (3) (1-3)	2,63±0,52 (3) (2-3)	3,17±0,75 (3) (2-4)	0,269
30. gün	4,12±0,83 (4) (3-5)	3,62±0,74 (3,5) (3-5)	4,33±0,82 (4,5) (3-5)	0,238
² p	0,011*	0,023*	0,038*	

¹ Kruskal Wallis Test

² Mann Whitney U Test

* p<0.05

** p<0.01



Şekil 4-8: Grupların 7. ve 30. günlerdeki kemik iyileşmesi düzeylerinin değerlendirilmesi

Grupların 7. gündeki kemik iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.269$; $p>0.05$).

Grupların 30. gündeki kemik iyileşme skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.238$; $p>0.05$).

Grup I'de; 30. gündeki kemik iyileşme skoru, 7. gündeki kemik iyileşme skorundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.011$; $p<0.05$).

Grup II'de; 30. gündeki kemik iyileşme skoru, 7. gündeki kemik iyileşme skorundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.023$; $p<0.05$).

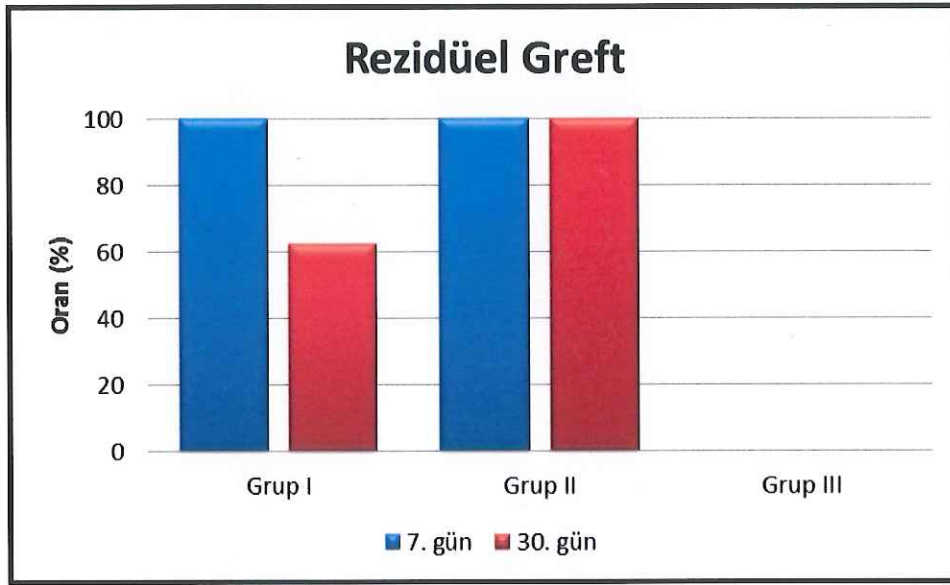
Grup III'de; 30. gündeki kemik iyileşme skoru, 7. gündeki kemik iyileşme skorundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.038$; $p<0.05$).

Tablo 4-4: Grupların 7. ve 30. günlerdeki rezidüel greft varlığına göre değerlendirilmesi

Rezidüel Greft	Grup I	Grup II	Grup III	p
	n (%)	n (%)	n (%)	
7. gün	8 (%100)	8 (%100)	0 (%0)	0,001**
30. gün	5 (%62,5)	8 (%100)	0 (%0)	0,001**
p	0,200	1,000	-	

Ki-Kare Test ve Continuity (yates) düzeltmesi kullanıldı

** $p < 0.01$



Şekil 4-9: Grupların 7. ve 30. günlerdeki rezidüel greft varlığının değerlendirilmesi

Gruplar arasında 7. günde rezidüel greft görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.01$). Grup III'de hiçbir sıçanda rezidüel greft görülmezken, Grup I ve Grup II'deki sıçanların tümünde rezidüel greft saptanmıştır ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Gruplar arasında 30. günde rezidüel greft görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.01$). Grup III'de 4. haftada hiçbir sıçanda rezidüel greft görülmezken, Grup I'de sıçanların %62,5'inde ve Grup II'deki sıçanların tümünde (%100) rezidüel greft saptanmıştır ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Grup I ve Grup II'deki sıçanlarda 30. günde rezidüel greft görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Grup I'de; 7. gündeki sıçanların %100'ünde rezidüel greft görülürken 30. günde sıçanların %62,5'inde rezidüel greft görülmüştür, ancak görülen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p:0.200$; $p>0.05$)

Grup II'de; 7. günde ve 30. günde sıçanların %100'ünde rezidüel greft görülmüştür ($p:1.000$; $p>0.05$)

Grup III'de; 7. günde ve 30. günde sıçanların hiçbirinde rezidüel greft görülmemiştir.

Tablo 4-5: Grupların 7. ve 30. günlerdeki yeni kemik oluşum alanına göre değerlendirilmesi

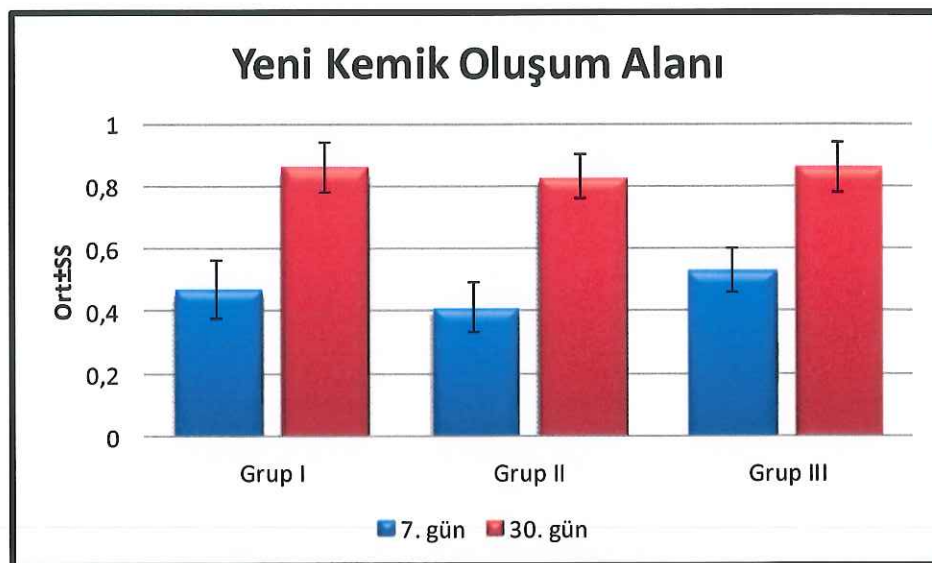
Yeni Kemik Oluşum Alanı	Grup I	Grup II	Grup III	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
	(medyan) (Min-Max)	(medyan) (Min-Max)	(medyan) (Min-Max)	
7. gün	0,47±0,09 (0,48) (0,34-0,59)	0,41±0,08 (0,37) (0,33-0,54)	0,53±0,07 (0,54) (0,41-0,59)	0,048*
30. gün	0,86±0,08 (0,87) (0,72-0,94)	0,83±0,07 (0,85) (0,75-0,94)	0,86±0,08 (0,86) (0,76-0,97)	
² p	0,001**	0,001**	0,004**	

¹Kruskal Wallis Test

²Mann Whitney U Test

* $p<0.05$

** $p<0.01$



Şekil 4-10: Grupların 7. ve 30. günlerdeki yeni kemik oluşum alanlarının değerlendirilmesi

Grupların 7. günde yeni kemik oluşum alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.048$; $p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc değerlendirmeler sonucunda Grup III'ün 7. günde yeni kemik alanı ortalaması, Grup II'den anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p:0.019$; $p<0.05$). Grup I ve Grup III'deki 7. günde yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.219$; $p>0.05$). Grup I ve Grup II'deki örnekler arasında 7. günde yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.187$; $p>0.05$).

Grupların 30. günde yeni kemik alanı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.752$; $p>0.05$).

Grup I'de; 30. günde yeni kemik alanı ortalaması, 7. günde yeni kemik alanı ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup II'de; 30. günde yeni kemik alanı ortalaması, 7. günde yeni kemik alanı ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.001$; $p<0.01$).

Grup III'te; 30. günde yeni kemik alanı ortalaması, 7. günde yeni kemik alanı ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.004$; $p<0.01$).

5. TARTIŞMA

Malformasyon, enfeksiyon, travma veya onkolojik rezeksiyon sebebiyle oluşan oral ve maksillofasiyal bölgedeki kemik defektlerinin yapısal ve fonksiyonel rekonstrüksiyon sorunu halen tatmin edici bir şekilde çözümlenmemiş olup modern cerrahinin en zor uğraşlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır (183).

Kemiğin içinde veya kenarında bulunan ve yeni kemikle dolması gereken bölgeler olarak tanımlanan kemik defektleri kemik dokusunun kendini rejenere etme ve yeniden şekillendirme özelliğiyle iyileşmekle birlikte, bu mekanizmanın yetersiz kaldığı konjenital veya travmaya bağlı olarak ortaya çıkan deformitelerin ve kemik patolojilerinin cerrahi eksizyonu sebebiyle meydana gelen geniş kemik defektlerinin tedavisinde, yeni kontür sağlanması ve kemik iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla kemik greftleri veya kemik yerine geçen materyallerin kullanımı gerekmektedir (184). Kemik grefti uygulamalarının ana amacı cerrahi bölgedeki kemik miktarını arttırmak ya da iyileşemeyen kemik dokusunun iyileşmesine katkıda bulunmaktır. Artan genel insan nüfusu, gelişmiş ülkelerde yaşlı insan nüfusunun artması, tıp ve diş hekimliğinde ilerleyen teknoloji ile beraber hastalıkların tedavi edilebilmesinin ve tedavi kalitelerinin yükselmesi uygulanan prosedürlerin de çeşitlenmesine ve güvenilirliğine olan inancın artmasına neden olmaktadır. Ortopedi, sinir cerrahisi ve diş hekimliğinde kemik defektlerinin onarımı nedeniyle gerçekleştirilen kemik greft uygulamaları, kan naklinden sonra dünya genelinde yılda yaklaşık 2.2 milyon uygulama ile en sık yapılan ikinci doku transferi işlemi olarak belirtilmektedir (114).

Kemik grefti ile defektlerin rekonstrüksiyonunda en önemli etken bağ dokusu hücrelerinin bölgeye göç edip fibrotik iyileşme prosedürünü aktif hale getirmesidir. Kemik rejenerasyon sürecinin bağ dokusuna göre yavaş olması ve osteoblastlar oluşuncaya kadar defektin bağ dokusu ile çevrelenmesi osteogenezisi negatif yönde etkilemektedir. Bu şekilde oluşan fibrotik yapının kemik dokusu gibi işlev görmeyip, kuvvetlere karşı yeterli direnci gösterememesi en önemli dezavatajıdır. Kemik dokusuna benzer şekilde sağlam olmayan fibrotik doku, defekt bölgesinin fonksiyonunu kazandıramayarak; enkapsülasyon, kaynamama (non-union), psödoartroz gibi oluşabilecek komplikasyonlara da davetiye çıkarmaktadır.

Ortaya çıkan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda, osteoindüktif ve osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olan otojen kemik greftleri öncelikli olarak tercih edilip, günümüzde bu greftler altın standart olarak kabul edilmektedir. Otojen kemik; osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon için gerekli olan kemik mineralleri, kollajen ve büyüme faktörleri ve osteoprogenitör hücreleri içermektedir. Otojen kemik greftleri aynı bireyden alınmasından dolayı hastalık taşıma riski oluşturmamaktadır. Çene, yüz cerrahisinde ve implantolojide ağız içinde simfiz, ramus ve tüberler gibi bölgelerin donör saha olarak kullanıldığı görülmektedir. İkinci bir cerrahi operasyon alanı gerektirmesi, operasyon süresinin uzaması, sınırlı miktarda bulunabilmesi, travmatik olması, donör alan morbiditesi ve komplikasyonları gibi dezavantajlardan dolayı otojen grefte alternatifler aranmıştır. Otojen greftin bu olumsuzluklarından dolayı allogreftler, ksenogreftler ve sentetik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir (140,185).

2014 yapılan deneysel bir tez çalışmasında araştırmacılar mineralize dentin sement bileşiminin 5 duvarlı kemik defektlerinin iyileşmesine olan etkisinin histomorfometrik ve histolojik analizinin in vivo olarak değerlendirilmesi sonucu defektlerin greftle rekonstrüksiyonunun önemini belirtmişlerdir (103).

Son yıllarda otojen ve allojenik kemik greftlerin dezavantajlarından dolayı ksenogreft kullanımı ile ilgili çalışmalar oldukça yaygınlaşmıştır. Ksenogreftler çeşitli hayvanlardan elde edilebilir. Bu greftler, bütün organik komponentleri uzaklaştırılarak hazırlanır. Literatürde üzerinde en çok çalışma yapılan ve en geçerli olan ksenogreft türü sığır kaynaklı kemik greftidir. Osteokondüksiyon ve biyoyumluluk özelliklerine sahip sığır kaynaklı kemik grefti, insan kansellöz kemiğine yapısal olarak çok benzerdir (186,187).

1960'lı yıllarda heterogreftlerin kullanılması popüler olmasına rağmen sığır kemiğinden elde edilen greftlerin transplantasyonundan sonra otoimmün hastalık gelişen hastaların rapor edilmesinden dolayı kullanımı azalmıştır. Allojenik veya heterojenik greft materyallerinin kullanılmasında aşılması gereken problem, immünolojik yanıttır. Dikkatli bilimsel değerlendirmeler ve deproteinizasyon işleminin daha iyi yapıldığı metotların geliştirilmesi sonucunda 1990'lardan itibaren bu ürünler sektörde yeniden yerini almış ve kullanıma girmiştir (137).

Ksenogreftlerde kollajenin immünojenik reaksiyon göstermesi biyomateryaller ile birlikte kullanılmasında ortaya çıkan en büyük sorunlardan biridir. Ana antijenik yapıyı ise kollajenin her iki tarafında bulunan ve kısa, heliks olmayan, çevre matrikslerin moleküler yapılarına bağlanarak kollajen molekülünün kovalent çapraz bağlanmasını sağlayan telopeptidler oluşturmaktadır. Atelokollajen proteolitik enzimler (pepsin, proteaz) kullanılarak antijenik telopeptidlerin kaldırılması esasına dayanarak geliştirilmiştir. Diğer kollajenler ile kıyaslandığında düşük antijenitesi sayesinde daha güvenli ve tercih edilebilir bir biyomateryal olarak öne çıkmaktadır (9,170,171,172,173). 2013 yılında piyasaya sürülen Hypro-Oss®'un %30'u Atelokollajen tip 1 ve doğal osteoindüktif elementler olan TGF, BMP, IFG'den; %70'i ise osteokondüktif doğal hidroksiapatit yapıdan oluşan ksenogrefttir (138).

Çalışmamızda deneysel kemik defektlerinde atelokollajen tip1 içerikli liyofilize ksenogreft materyalinin (Hypro-Oss®) kemik iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmamızda materyal etkinliğinin incelenmesi antijenik özellikleri deproteinizasyon işlemi ile azaltılan sığır kaynaklı anorganik ksenogreft (Bio-Oss®) ve kontrol grubu ile kıyaslanarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmamız literatürde sıçan modelinde Hypro-Oss®'un kemik iyileşmesi üzerine etkisinin incelendiği ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

Yara iyileşmesi ve bunun özel bir şekli olan kemik defektlerinin iyileşme süreci incelendiğinde yaraların spontan olarak iyileşme eğilimi içerisinde olmaları, bu tür çalışmaların en önemli avantajını oluşturmaktadır. Bu sebeple kullanılan biyomateryallerin, iyileşme sürecini hızlandırması veya yavaşlatması kolayca tespit edilebilmektedir (163).

Yeni bir malzeme veya ürün piyasaya çıkmadan önce ilk olarak in-vitro çalışmalarla denenmekte, daha sonra küçük hayvan modellerinde biyolojik uyumluluğu değerlendirilmektedir. Çalışma sonuçlarının klinik uygulamalara uyumlandırılabilmesi için seçilen deney hayvanı modellerinde görülen kemik iyileşmesinin insanlara biyolojik olarak benzerliğinin sağlanması gerekmektedir. Biyoyum testlerini değerlendirmek için fare, sıçan, ginepig, tavşan, köpek, keçi ve koyun gibi birçok farklı deney hayvanı kullanılmaktadır. Bununla birlikte bu testler intraperitoneal, subkütanöz, intramusküler ve mandibula, femur, tibia, kranial kemik gibi intraosseöz alanlarda yapılabilmektedir (188,189,190).

İnsanla yapılan çalışmalarda hasta popülasyonunun homojen olmaması, çok sayıda değişken varlığı, uygun ve homojen kontrol grubu oluşturamamak deneysel hayvan modeline yönelmemize neden olmuştur. Ratlarda yapılan çalışmalar, insanla yapılan çalışmalara göre daha kısa sürede sonuç vermektedir. Ayrıca insanla yapılan çalışmalarda hastanın programa uyumunu sağlayabilmek zordur. Yapılan çalışmaların patolojik araştırmasının yapılabilmesi için, hastadan biyopsi alınması gerekebilir ve bu da hastanın tekrar opere edilmesini gerektirir (191). Biz de bu nedenlerden ötürü deneysel hayvan modeli üzerinde çalışmayı uygun gördük.

Literatürde son yıllarda deney hayvanı olarak ratların kullanıldığı kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalar sıklıkla görülmektedir (192,193,194). Bizde yaptığımız çalışmada literatürdeki çalışmalara benzer şekilde deney hayvanı olarak ratları seçtik. Bu çalışma modelinin tercih edilmesindeki amaçlarımız:

- 1- Deney hayvanlarının yeterli sayıda temin edilebilmesi ve maliyetinin azlığı,
- 2- Uygulanacak cerrahi yöntem açısından kolay çalışılabilecek bir deney hayvanı olması,
- 3- Deneklerin tibiasında cerrahi çalışma yapabilmenin diğer bölgelere oranla göreceli olarak kolay olması,
- 4- Ratlardaki primer kemik iyileşmesinin insan kemiğinde görülen iyileşmeye bezerlik göstermesi,
- 5- Çalışılacak bölgede rat tibiasında denekler için hayati önem taşıyan anatomik yapıların (majör damarsal ve sinir yapıları) bulunmaması, kalvaryaya bölgesine açılan defektlerde beyin zarına zarar verme riskinin olması, bu nedenle açılan defekt derinliğinin yetersiz olması ve beslenmenin daha az görülmesi,
- 6- Ratların boyut olarak kendilerinden daha büyük deney hayvanlarına göre (örneğin koyun, domuz) genel anesteziye alınma şartlarının daha kolay olması (örneğin entübasyona ihtiyaç duyulmaması),
- 7- Planlanan parametrelerin basit ve hassas bir şekilde değerlendirilebilir olması,

8- Deney hayvanlarının genel yapısı ve kemik dokularının iyileşmesi ile ilgili yeterli bilgi bulunması önemli rol oynamıştır (47,178).

Çalışmamızda cinsiyete bağlı metabolizma farklılıklarının kemik oluşumu üzerine etkisi olabileceği için ve dişi ratların menstürel sikluslarına bağlı olarak gelişen hormonal değişikliklerin yara iyileşmesini etkileme olasılığını ortadan kaldırma amaçlı sadece erkek deney hayvanları kullanılmıştır (195).

Literatür incelemesinde, kemik greft uygulaması sonrası, kemik iyileşmesinin genç alıcılarda yaşlılara göre daha iyi olduğunun bildirilmesi sebebiyle tüm deneklerin 10-12 haftalık yaklaşık 250 ± 20 g olmasına dikkat edilerek yaş farklılığının kemik oluşumu üzerinde gösterebileceği olası değişikliklerin elimine edilmesi amaçlanmıştır (179,180).

Hayvan çalışmalarında örneklem sayısı ve güç (power) analizi önemli rol oynamaktadır. Örneklem sayısı, çalışmanın başlangıcında çalışmanın gücüne göre belirlenmelidir. Gereğinden az sayıda örneklem incelemek çalışma sonuçlarının gücünü azaltırken; gereğinden fazla sayıda örneklem incelemek boş yere emek ve kaynak israfına sebebiyet vermektedir. Hayvan deneylerinde ise güç değerini çok yüksek ya da çok düşük tutarak çalışma planlamak gereksiz yere hayvan kullanımına neden olmaktadır. Bu nedenle güç değerini optimum (%80) tutarak örneklem sayısı belirlemek, etik açıdan oluşabilecek sakıncaları ortadan kaldırmaktadır (196). Bu sebeple bizim çalışmamızda da araştırmaya başlamadan önce kullanılacak hayvan sayısına karar verilirken uygulanan istatistiksel yöntem ve daha önce yapılmış benzer çalışmalar belirleyici olmuş ve gerekli minimum örneklem sayısı güç değeri optimum tutularak belirlenmiştir. Bütün bunlar göz önünde bulundurularak çalışmamızda üç ana grup ve iki alt grup olmak üzere (7. gün ve 30. gün) toplam 44 adet erkek deney hayvanı dahil edilmiştir.

Ratlarda kemik iyileşmesinin histolojik olarak incelenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda yeni kemik oluşumunu ve anjiogenezinin gözlemlenmesi için 4 haftalık sürenin yeterli bir zaman dilimi olduğu görüşü hakimdir (184,197,198,199,200). Biz de çalışmamızı sonlandırmak için 30. günü tercih ettik. Çalışmada kullanılan materyallerin etkinliklerinin kemik iyileşmesinin erken dönemlerinde karşılaştırılması amacıyla ara dönem olarak 7. gün seçilmiştir. Çalışmamızda deney grubunu oluşturan atelokollajen içerikli kemik greftinin kemik rejenerasyonuna erken ve geç dönemdeki etkisinin

kıyaslanması amaçlandığından sakrifikasyon günleri 7. gün (erken) ve 30. gün (geç) olarak belirlenmiştir.

Çalışma modeli olarak kullandığımız ratlarda, belirlediğimiz süre boyunca herhangi bir yan etki ve komplikasyon ile karşılaşmamıştır. Sakrifikasyonlardan sonra elde edilen tibia kemiklerinin yapısal bütünlüklerini korudukları ve iltihapsal reaksiyonun olmadığı gözlenmiştir.

Bir kemik defektinde gerçekleşecek iyileşme oranı, çoğunlukla defektin büyüklüğüne bağlıdır. Kemik iyileşmesinin incelendiği araştırmalarda deneysel olarak oluşturulan defektlerin genellikle spontan olarak iyileşebildiği belirtilmiştir. Bu sebeple deneysel çalışmalarda kritik boyutlu defekt hazırlanması önem teşkil etmektedir. Bu noktada greftin osteojenik potansiyelinin değerlendirilmesi daha iyi yapılabilmektedir (85). Bu özelliklere sahip deneysel kemik yarası Hollinger ve Kleinschmidt tarafından osteojenik materyallerin incelenmesinde standart bir model olarak sunulmuş ve kritik boyut defekti olarak isimlendirilmiştir (86). Bu tarz defektlerde bölgeye bağ dokusu hücrelerinin göç edip fibrotik iyileşmenin prosedürünü aktif hale getirdiği rapor edilmiştir. Kemik iyileşme prosedürünün bağ dokusuna göre yavaş olması ve osteoblastlar oluşuncaya kadar defektin bağ dokusu ile dolu olması osteogenezisi olumsuz şekilde etkilemektedir. Böyle bir durum sonucu oluşan fibrotik dokunun ise kemik dokusu gibi işlev göstermeyip, kuvvetlere karşı dirençli olmaması en büyük dezavantajdır. Kemik dokusu gibi yapısal olarak bütünlük göstermeyen fibrotik dokunun, defekt alanının fonksiyonunu tekrar sağlayamaması; psödoartroz, gibi olası problemleri de gündeme getirmektedir (201).

Literatürde kemik rejenerasyonu ile ilgili rat tibiaları üzerinde yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Araştırmacılar sıçanlarda türe özgü farklılıkların kritik boyut defekt standardizasyonunu zorlaştırdığı ve farklı sonuçlar oluşmasına neden olduklarını söylemektedir (202). Defekt boyutu ile ilgili birçok farklı görüş bildirilmektedir. Bir kısım araştırmacılar rat tibialarında 2x2 mm boyutunda defektler oluştururken (203,204), 3x3 mm boyutunda defekt oluşturulan bir çok çalışma bulunmaktadır (88,192,193,205,206). Bazı araştırmacılar ise 4x3 mm boyutunda defektleri tercih etmişlerdir (89,202,207,208).

Biz çalışmamızda 3mm çapındaki trefin frez ile rat tibia kalınlıkları ve fraktür riskleri göz önüne alınarak 3x3 mm boyutunda olacak şekilde kemik defektlerini

hazırladık. Bu sayede defektlerin standart hacimli olması sağlanmıştır. Ratların çok hareketli kemirgenler olması ve tibialarının ince yapıda olmasından dolayı tibialarında daha büyük çapta açılan defektlerde fraktür riskinin artmasını engelleme amaçlı bu boyutlarda çalışmayı uygun gördük. Çalışmamızda kullanılan 44 deney hayvanının yaşı, cinsiyeti, açılan defektlerin hacmi ve anatomik lokalizasyonu standarttır. Bu standardizasyon sayesinde deney hayvanlarının özelliklerine bağlı olarak kemik iyileşmesini değiştirebilecek olası faktörlerin en aza indirgenmesi amaçlanmıştır. Büyük hacimli defektlerde yeni kemik yapımının etkinliğinin değerlendirileceği çalışmalarda tavşan, koyun gibi deney hayvanlarında çalışma modelinin tekrarlanması yararlı olacağı görüşündeyiz.

Kemik defekti ile ilgili çalışmalarda iyileşmenin hücresel düzeyde değerlendirilmesi için en uygun yöntemin histoloji ve histomorfometri olduğu bilinmektedir. Kemik hücrelerini, aktivitelerini ve kemik matriksini direkt değerlendirebilen tek yöntem histomorfometri olduğu için, histomorfometri kemiği değerlendirmede altın standart olarak kabul edilir (125). Çalışmamızda ratların tibialarında açılan 3mm kemik defektlerine yerleştirilen atelokollajen tip1 içerikli liyofilize ksenogreft (Hypro-Oss®) ve karşılaştırma amaçlı anorganik sığır kemiğinden oluşan ksenogreft (Bio-Oss®) kullanımının bu alanlarda histolojik açıdan iltihap, nekroz, yabancı cisim reaksiyonu, fibrozis, residüel greft varlığı, kemik iyileşmesinin evreleri ve yeni kemik yapım alanları 7. ve 30. günlerde (erken ve geç dönem) histolojik olarak değerlendirilmiştir.

Bio-Oss® kemiğin tamamen deproteinize edilmesiyle elde edilir. Karbonat apatit içeren anorganik sığır kemiğinden oluşan doğal bir greft materyalidir. Morfolojik olarak doğal bir yapısı olduğu, kemik ile karşılaştırıldığında daha geniş bir iç yüzeye ve poröziteye, kemik ile benzer kristal yapıya, elastikiyete, kimyasal bileşime ve kalsiyum/fosfor oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle Bio-Oss®, son yıllarda kemik greft materyali olarak periodontoloji ve maksillofasiyal cerrahi dallarında geniş kullanım alanı bulmuştur. Maksillofasiyal cerrahide sinüs liftingde, alveoler kret yükseltme işlemlerinde, dişler ve implant çevresindeki defektlerin tedavisinde, mandibula ve maksilla rekonstrüksiyonunda, çekim soketlerinin doldurulmasında kullanılmaktadır (136).

Bio-Oss®'un günümüze kadar kemik grefti olarak birçok çalışmaya konu olmasının nedeni, bu materyalin uygulandığı bölgede çok iyi kemik rejenerasyonu göstermesi, gerek genel gerekse lokal herhangi bir negatif etki oluşturmaması, immünolojik komplikasyona yol açmaması, şeklini koruyabilmesi, yapısının yeni kemik oluşumu için yardımcı iskelet görevi görmesi, greft materyali ile kemik arasında bir bağlanma gerçekleştirebilmesidir (137). Günümüze kadar yapılan deneysel ve klinik çalışmalar Bio-Oss®'un kemik dokusu yerine geçebilecek, bir greft olarak kullanılabileceğini göstermekle birlikte, (130,209,210,211,212,213,214,215,216,217) faydasına kuşku ile bakanların ve kemik iyileşmesine bir katkısı olmadığını belirten çalışmaların varlığında görülmektedir (218,219,220,221).

Çalışmamıza hidroksiapatit içerikli, sıgır kaynaklı ksenogreft olması nedeniyle deney gruplarından birine karşılaştırma amaçlı Bio-Oss® uygulanması tercih edilmiştir.

Bio-Oss®'un kullanımı ile ilgili literatürdeki ilk çalışma 1990 yılında Mandelkow ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar koyunlar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada her koyunun tibiası üzerinde her biri 6mm çapında sekiz defekt oluşturmuşlar ve bu defektlerden yedisini çeşitli seriler şeklinde Bio-Oss®, Pyrost, Otojen spongiyöz ve dondurulmuş allojenik spongiyöz kemik materyali ile doldurmuşlardır. Altı hafta sonra elde ettikleri örneklerin değerlendirilmesi sonucu tamamen inorganik materyaller olan Bio-Oss® ve Pyrost'un yeni kemik oluşumunu hızlandırmadığını, boş bırakılan defektler ile kıyaslandığında belirgin bir fark görülmediğini bildirmişlerdir (222).

Fukuta ve arkadaşları yirmi yetişkin tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada; oluşturdukları kalvaryum defektlerinin bir kısmını otojen kemik tozu, poröz hidroksiapatit granülü ve Bio-Oss® partiküllerinden herhangi biri ile doldurmuşlar, bir kısım defekti de kontrol amacıyla boş bırakmışlardır. Histopatolojik inceleme sonrası Bio-Oss®'un kemik doku ile önemli bir inflamatuvar reaksiyon oluşturmadığını, yeni kemik oluşum miktarının Bio-Oss®, hidroksiapatit ve kontrol grubunda aynı miktarda olduğunu, buna karşılık otojen kemik tozunun daha fazla oranda yeni kemik oluşumu sağladığını, bununla birlikte Bio-Oss®'un poröz hidroksiapatite benzer şekilde yeterli osteokondüktif özelliğinin olduğunu ve kemik greft materyali olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (186).

Rokn ve arkadaşları iki farklı kemik greftinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri hayvan çalışmasında tavşan kalvaryumlarına açtıkları 6,5 mm lik defektlerde Bio-Oss® ve Straumann Bone Ceramic etkinliğini kontrol grubu ile birlikte karşılaştırmışlardır. Grupların hiçbirinde yabancı cisim reaksiyonu gözlenmezken 4. hafta yeni kemik oluşum miktarları açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir (223).

Merkx ve arkadaşlarının keçiler üzerinde yaptıkları 3 ayrı deneysel çalışmada; frontal sinüsü örten kemikte 4 adet 14 mm çapında tam kalınlık kritik boyut defekti oluşturulmuş ve defektlere rastgele kortikal kemik çipsleri, kansellöz kemik çipsi, Bio-Oss®'un spongiyoz granülleri yerleştirilmiş ve diğer defektler kontrol amacıyla boş bırakılmıştır. Araştırmacılar histolojik incelemeler sonucunda; Bio-Oss® ile doldurulan defektlerin sadece kenarlarında yeni kemik oluşumunun görüldüğü ve çok az bir miktarda Bio-Oss®'un kemik dokusu ile birleştiğini bildirmişlerdir. Tek başına Bio-Oss®'un kritik boyut defekt modelinde osteokondüksiyonu stimüle etmediğini, buna karşılık aralarındaki gevşek ilişki nedeniyle yoğun osteoklastik aktiviteyi stimüle ettiğini ileri sürmüşlerdir (220).

Paknejad ve arkadaşları iki farklı anorganik kemik greftinin kemik rejenerasyonu üzerine etkilerini tavşan kalvaryalarında inceledikleri çalışmada 3 ana grup belirlemişler. 6 mm boyutunda oluşturulan defektlerin bir kısmını sığır kemiğinin organik komponentlerinden ayrılması ile oluşturulmuş doğal kemik mineral matriks (NuOss®), bir kısmını Bio-Oss® ile doldurmuşlar ve geri kalanı kontrol grubu olarak boş bırakmışlardır. 4. hafta sonunda gerçekleştirilen sakrifikasyonlar sonrası yapılan histolojik inceleme sonucu; grupların hiç birinde yabancı cisim reaksiyonu gözlemlenmemiştir. Yeni oluşan kemik miktarları açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Araştırmacılar Bio-Oss®'un kemik defektlerinde osteokondüktif bir yapı oluşturacak şekilde rahatlıkla kullanılabileceğini belirtmişlerdir (215).

Khorsand ve arkadaşları Bio-Oss® ve demineralize kemik matriksi Accell Connexus® kemik greftlerinin kemik iyileşmesi üzerine etkilerini tavşan kalvaryumlarında 6 mm lik açtıkları defektler ile incelemişler. 4 hafta sonunda gruplar arasında yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel anlamlı farklılık görülmediğini bildirmişlerdir (217).

Wenz ve arkadaşları ise yaptıkları deneysel çalışmada sığır kemiğinden elde edilen iki farklı greft materyali olan Bio-Oss® ve Osteograft/N'i protein içeriği açısından karşılaştırmışlar ve her iki greft materyalinin de protein içermediğini, sığırların süngerimsi ensefalopatisi ve bunun daha yeni bir türü olan deli dana hastalığı (Creutzfeldt Jacob Hastalığı)'nın insanlara bulaşması açısından bir risk taşımadığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Benke ve arkadaşları da; yaptıkları çalışmada Bio-Oss® greft materyalinin protein içermediğini vurgulamışlardır (224,225).

Çalışmamızda 7. ve 30. günlerde yapılan histolojik incelemelerde Bio-Oss® uygulanan grupta inflamatuvar yanıt görülmemesi Fukuta ve arkadaşları, Khorsand ve arkadaşları., Paknejad ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Bunun yanı sıra Artzi ve arkadaşları ile Torres ve arkadaşlarının Bio-Oss®'un etkinliğini inceledikleri hayvan çalışmalarında enflamatuvar yanıt gözlemlendiği belirtilmiştir. Bu farklılığın çalışma metodolojilerinin aynı olmaması, örnek sayıları farklılığı, farklı cerrahi teknikler gibi etkenlerden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Kemik defekti uçları arasında merkeze doğru köprü oluşumu kemik iyileşmesinin kalitesini belirler. Bu noktada greft materyallerini karşılaştırmak için en önemli kriteri yeni kemik yapım alanları oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda 30. günde gruplar arasında yeni kemik yapım alanları açısından Bio-Oss® uygulanan grup ile Hyro-Oss® ve boş kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık olmaması Mandelkow ve arkadaşları, Paknejad ve arkadaşları, Khorsand ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarda Bio-Oss®, diğer greftler ve boş defektler arasında yeni kemik yapım alanları açısından istatistiksel anlamlı farklılık olmaması ile uyusmaktadır. Ancak çalışmamızda Bio-Oss®'un yeni kemik oluşumunu olumsuz yönde etkilemediğini ve osteokondüktif etki gösterdiğini söyleyebiliriz.

Özellikle heterojenik greft materyallerinde rezorpsiyonun mekanizması ve miktarının anlaşılması önemli bir konudur. Genellikle greft rezorpsiyonunun, kemik ile greft materyali birleşmesinin gerçekleşmesinden önce olması tercih edilmemektedir. Bu noktada kemik greftlerinin yavaş rezorbe olması kemik oluşumu için gerekli zamanı yaratması açısından olumlu bir özellik olarak görülmektedir. Bio-Oss® kemik grefti ile yapılan çalışmalarda, materyalin rezorbe olup olmadığı ile ilgili farklı görüşler bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda greft uygulanması sonrasında rezorpsiyon bulguları

görülmediği, (226,227) bazılarında parsiyel olarak rezorpsiyon görüldüğü (213,219), bazılarında ise materyalde yoğun bir rezorpsiyon görüldüğü bildirilmektedir (87,220).

Valentini ve arkadaşları tarafından insanlarda yapılan çalışmalarda sinüs lifting işlemleri sonrasında 6. ayda ve 12. ayda alınan biyopsilerde Bio-Oss® granülleri etrafında rezorpsiyon olmadığı histolojik olarak gösterilmiştir (226,227).

Tadjoedin ve arkadaşlarının, maksiller sinüs lifting operasyonlarında değişik oranlarda otojen kemik grefti ve deproteinize sığır kemiğinin (Bio-Oss®) karıştırılarak uygulanması sonrasında 5. ve 8. aylarda alınan örneklerle yaptıkları histopatolojik incelemelerde Bio-Oss® partiküllerinin yüzeyindeki çukurlarda osteoklastların bulunduğu ve bu durumun deproteinize sığır kemiğinin osteoklastik aktivite ile rezorpsiyonunu düşündüğünü belirtmişlerdir (213).

Pinholt ve arkadaşları tarafından ratların premaksillalarında yapılan çalışmada da Bio-Oss partiküllerinin kısmen rezorbe olduğu gösterilmiştir (219).

Zitzmann ve arkadaşlarının iki aşamalı cerrahi teknik ile yaptıkları sinüs lifting işlemlerinde greft materyali olarak kullandıkları Bio-Oss®'un ilk 2 yıl zaman diliminde tamamen rezorpsiyonunun gerçekleşmediğini ve bu dönemin kemik matürasyonu için gerekli zamanı sağlayabildiğini belirtmişlerdir (228).

Bu çalışmada da 7. ve 30. günlerde yapılan histolojik incelemelerde Bio-Oss® greft materyalinin kısmen rezorbe olduğunun gözlemlenmesi literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Hypro-Oss® Atelokollajen tip 1 içerikli liyofilize sığır kaynaklı ksenogreft olarak patenti alınmıştır. BIOIMPLON GmbH and HYPRO OTROKOVICE S.R.O şirketlerinin ortaklığı ile 6 yıllık yoğun çalışma sonucu mühendis Antonin Galatik ve Dr. med. Sami Wated önderliğinde kurulmuştur (10). 2013 yılında piyasaya sürülen Hypro-Oss® %30'u Atelokollajen tip1 ve doğal osteoindüktif elementler olan TGF, BMP, IFG'den %70'i ise osteokondüktif doğal hidroksiapatit yapıdan oluşan ksenogrefttir. Kollajen liflerin BMP'ler, TGF'ler, IGF'ler ve FGF'ler gibi bazı osteoindüktif faktörleri saklayabilmesi ve yapay kemik kavitesi hazırlandığı zaman bunları matriksinden kolayca salgılayabilme özelliği Hyro-Oss® ksenogreftin içeriğinin oluşturulmasına yardımcı olmuştur (138). Hypro-Oss®, sığır kollajeninin biyomateriyaller içerisinde kullanımında oluşabilecek immunojenik reaksiyonları

ortadan kaldırma amaçlı, kollajenin her iki tarafında bulunan ve antijenik yapıyı oluşturan telopeptid bağlarının pepsin ile kaldırılması sonucu oluşan atelokollajen kullanımı esasına dayalı ksenogreft materyalidir. Hyro-Oss®'un sinüs liftingde, dikey ve yatay alveol kret ogmentasyonunda, kemik içi defektlerde, peri-implant defektlerinde, çekim soketlerinde, furkasyon defektlerinde kullanım endikasyonu bulunmaktadır (10).

Hypro-Oss®'un kullanımı ile ilgili literatürdeki ilk ve tek çalışma raporu Gazmawe tarafından yapılmıştır. Gazmawe ve arkadaşları 2014 yılında yayınladıkları vaka raporunda sığır kaynaklı liyofilize atelokollajen tip 1 içerikli ksenogreft Hypro-Oss®'un sinüs ogmentasyonunda klinik olarak kullanımını, ve implantasyon alanının histopatolojik olarak değerlendirilmesini amaçlamışlar ve çalışmayı 24 haftalık takip süresi ile tamamlamışlardır. Atrofik maksillada lateral pencere tekniğiyle yaptıkları sinüs lifting işleminde Hypro-Oss® ksenogreft materyalini kullanmışlar ve 24 hafta sonra ogmente edilen bölgeden alınan biyopsi sonrası histopatolojik inceleme gerçekleştirmişlerdir. Histopatolojik incelemede geniş hacimde yeni kemik dokusu ve minimal düzeyde bağ dokusu ile yeni kemik matriks alanlarının izlendiğini bildirmişlerdir. Yabancı cisim reaksiyonu, nekroz ve iltihap alanları gözlenmediğini belirtmişler. Greftlenen alandan alınan dokuda 24 haftalık süreçte ksenogreft partiküllerinin bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Hypro-Oss®'un kemik ogmentasyonlarında güvenle kullanılabilecek biyouyumlu bir materyal olduğunu belirtmişlerdir (138).

Bizim çalışmamız da 7. ve 30. günlerde Hypro-Oss® uygulanan grupta yabancı cisim reaksiyonu, nekroz, iltihap gözlenmemesi, fibrozis düzeylerinin düşük olması, gibi parametreler açısından Gazmawe ve arkadaşlarının vaka raporu ile paralellik göstermektedir.

Ksenogreftlerin günümüzde halen tartışma konusu olan bir özelliği rezorbsiyon süreleridir. Greftin zaman içerisinde rezorbsiyonu ile birlikte yeniden şekillenme süreci ile birlikte konakçı kemiğe dönmesi beklenir. Greftin hızlı bir şekilde yani konakçı kemik ile yer değiştirdiğini belirten çalışmalar olsa da Artzi ve arkadaşları deneysel çalışmalarında 6. Aydan itibaren kansellöz sığır kemiği mineralinde belirgin bir rezorbsiyon görülmediği ve 24. ayda greft partiküllerinin greftlenen bölgede görüldüğünü belirtmişlerdir (209). Sartori ve arkadaşları ksenogreft kullanarak sinüs

greftlemesi uyguladıkları vaka raporunda 8. ayda rezidüel greft oranını %70,2 olarak belirtmişlerdir (229). Barone ve arkadaşları 7. ayda ksenogreft yapıların greftlenen bölgede görüldüğünü bildirmişlerdir (230). Rezorpsiyon sürelerindeki değişiklikler sığır kaynaklı hidroksiapatitlerin farklı işlemlerle elde edilmesinden dolayı olabilir. Bu çalışmada 30 günlük araştırma döneminin sonunda Hypro-Oss® materyalinde rezorpsiyon görülmemiş ve tüm Hypro-Oss® örneklerinde kavitelerin, bu materyale ait partiküller içerdiği gözlenmiştir. Bu bulgu Hypro-Oss® ve literatürdeki ksenogreft ile yapılan çalışmalarda uzun dönemde defekt bölgelerinde materyalin bulunduğunu bildiren çalışmalarla uyum göstermektedir.

Hypro-Oss® ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma olmamasını materyalin henüz yeni piyasaya çıkmasına ve yeni geliştirilen bir ürün olmasına bağlamaktayız. Materyal ile ilgili az sayıda çalışma olmasının bu alanda daha fazla çalışma yapılmasını gerekli kıldığı düşüncesindeyiz. Materyal bazında az sayıda çalışma olmasına rağmen hipotezimizin çıkış noktasını oluşturan atelokollajen tip 1'in kemik iyileşmesindeki etkinliğini değerlendiren literatürde bir çok çalışma bulunmaktadır.

Itoh ve ark. yaptıkları çalışmada doku ve organlar için implante edilebilir doku iskeletlerinin antijenik etkilerinin olmaması ve biyouyumlu olmaları gerektiğinden bahsetmişlerdir. Doğal kollajen molekülünden telopeptidlerin kaldırılması sonucu üretilen atelokollajenin implante edilebilen materyaller arasında temel matriks yapıya benzer özelliklerinden dolayı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (177).

Hur ve arkadaşlarının tavşan kranyumları üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada 4. ve 8. haftada otojen kemik grefti, dondurulmuş kurutulmuş kemik grefti (SureOss®), atelokollajen tip1 sünger (Teruplug®) ve kontrol grubunu kemik iyileşmesi açısından karşılaştırmışlar. 4. ve 8. haftada yapılan histopatolojik incelemelerde deney gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla yeni kemik oluşumu gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Kemik yapım potansiyelinin otojen kemik greftinde, atelokollajen tip 1 sünger (Teruplug®) ve dondurulmuş kurutulmuş kemik greftine (SureOss®) göre daha fazla olduğunu, Teruplug® ve SureOss® arasında ise istatistiksel anlamlı farklılık olmadığını belirtmişlerdir (231).

Takechi ve arkadaşlarını atelokollajen ve hidroksiapatit içeren poly (D, L-laktid-ko-glikolik asit) (PLGA) yapının kemik dokusunun iyileşmesi üzerine yaptıkları çalışmada atelokollajen-hidroksiapatit partikülleri içeren PLGA yapının, yalnız PLGA

uygulamasına göre daha yüksek dayanıklılık direnci gösterdiğini ve atelokollajen yapının hücre bağlantısı, proliferasyonu ve yumuşak doku cevabı açısından PLGA ile kıyaslandığında daha iyi sonuçlar gösterdiğini bildirmişlerdir (174).

Kim ve arkadaşları tavşan kalvaryada defektlerinde fibrin jel ve fibrin-atelokollajen kompozit jel karışımının kemik iyileşmesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada 8 hafta sonunda fibrin jele oranla fibrin-atelokollajen kompozit jel karışımında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla yeni kemik oluşumu görüldüğünü belirtmişlerdir (176).

Bulgin ve arkadaşları yayınladıkları vaka raporunda 10 yaşındaki kız çocuğunun sağ humerusunda görülen anevrizmal kemik kistini kürete etmişler ve operasyon esnasında kemik defektinin rekonstrüksiyonunda mononükleer hücrelerinden ayrılmış otolog kemik iliğini, β -trikalsiyum fosfat ve emilebilir atelokollajen ile birlikte kullandıklarını belirtmişlerdir. Oluşturulan yapının kemik iyileşmesinde olumlu katkı sağladığını gözlemlemişlerdir. Kemik iyileşmesinin üç etkili anahtarı olan kemik matriksi, büyüme faktörleri ve hücrelerin ilgili bölgede oluşturulmasının çok önemli olduğunu belirtip; yapı içerisinde atelokollajenin taşıyıcı matriks görevini başarıyla yerini getirdiğini bildirmişlerdir (232).

Suh ve arkadaşları ozon ile okside edilmiş poli-laktik asit içerikli membranda tip 1 atelokollajeni kullanarak sıçan kalvaryalarında oluşturulan defektlere uygulamışlardır. Çalışmada kemik iyileşmesi sürecinde osteoblastların davranışlarını incelemeyi amaçlamışlardır. Atelokollajen tip 1 içerikli yapının, osteoblastların yüzey üzerindeki başlangıç bağlantısını istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırdığını gözlemlemişlerdir ve hücre büyümesini desteklediğini belirtmişlerdir. Atelokollajen tip 1'in kollajenaz proteinlerinin salınımı ile birlikte özellikle erken dönem kemik iyileşmesinde olumlu etki yaparak hücre göçünün sağlanmasına destek olduğunu bildirmişlerdir (233).

Hamanishi ve arkadaşları sıçanların diz kapaklarında 2 mm boyutunda subkondral olarak oluşturdukları kırık defektlerinde atelokollajen membran kullanımının osteogenezis üzerine etkilerini histopatolojik olarak araştırmışlardır. Atelokollajen membran kullanımının kırık defekt içerisinde bulunan ve kaynağını kemik iliğinden alan hücrelerin ve büyüme faktörlerinin korunmasını sağlayabileceğini ve bu şekilde kırık onarımında olumlu etki yaratabileceği hipotezi ile başlattıkları çalışmada 1. ve 4. hafta gen salınım sonuçlarında kemik onarımını sağlayacak Sox9,

osteokalsin ve TGF β , Runx2, Col1a1 değerlerinin atelokollajen içerikli grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda atelokollajen membran kullanımının kırıldak onarımında etkili olmadığını bildirmişler. Bu sonucun ortaya çıkmasında sinovyumdan kaynağını alan hücre ve büyüme faktörlerinin bölgeye gerçekleşebilecek göçünü atelokollajen membran kullanımının engellemiş olabileceği düşüncesi araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (234).

Missana ve arkadaşları osteoporoz tedavisinde kullanılan rekombinant insan paratiroid hormonunu, (rhPTH) ve atelokollajen tip 1'i birlikte kullanarak kemik doku mühendisliği açısından yeni bir doku iskelesi geliştirmişler. Sıçan kalvaryalarında oluşturdukları kritik boyut defektlerinde materyalin kemik yapımındaki etkinliğini incelemişlerdir. Rekombinant insan paratiroid hormonlu membran, atelokollajen tip 1 içerikli membran, rhPTH ve atelokollajen içerikli membran ve kontrol grupları arasında yapılan kıyaslama sonucunda rhPTH ile kombine kullanılan atelokollajen tip 1 içerikli membranda 3. hafta sonunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla yeni kemik yapımı görüldüğünü bildirmişlerdir. Atelokollajen tip 1'in bulgular sonucunda rhPTH için iyi bir taşıyıcı görevi gördüğü ve BMP salınımını artırması sayesinde kemik yapıcı hücrelerin farklılaşmasına ve büyümesine yardımcı olduğu belirtilmiştir (235).

Kagawa ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada sıçan kalvaryalarına açılan kemik defektlerine uygulanan çapraz bağlantısız atelokollajen matriksin kemik rejenerasyonundaki etkinliğini incelemişlerdir. Atelokollajenin tek başına osteoblastların farklılaşmasını sağlayarak kemik rejenerasyonunu arttırdığını gözlemlemişlerdir (236).

Fujioka ve arkadaşları damak yarıklarının tedavisine yararlı olabileceğini düşünerek gerçekleştirdikleri hayvan çalışmasında 50 tane 4 haftalık tavşanın 2. süt molar dişleri hizasında sert damak bölgesine bilateral olarak 4 mm çapında mukoperiostal yumuşak doku defekti açmışlardır. Defektlerin yarısına atelokollajen matriks (Terudermis®, Terumo Co., Tokyo, Japan) uygularken, geriye kalan defektler kontrol amacıyla boş bırakılmıştır. 5 ay sonra gerçekleştirilen histopatolojik incelemede atelokollajen implante edilen defektlerde, mononuklear hücrelerin ve fibroblastların infiltrasyonu gözlemlenmiştir. Normal mukoza yapısında Rete peg oluşumu görüldüğü belirtilmiştir. Atelokollajen uygulanan defektlerde kemik yüzeyi üzerinde periost

benzeri hücrelerin rejenerasyonlarını devam ettirdikleri görülürken; kontrol defektlerinin granülasyon dokusu ile dolu olduğunu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak atelokollajen matriks kullanımının maksiller gelişme evresinde damak yarıklarının onarımında skar oluşumunu azaltarak tedaviye olumlu etki yaptığı bildirilmiştir (173).

Atelokollajen tip 1'in kemik ve yumuşak dokudaki iyileşmeye etkisi ile ilgili yapılan bahsettiğimiz birçok çalışmada bu materyale karşı gelişen inflamatuvar cevabın neredeyse hiç olmadığı belirtilmektedir. Yapılan histopatolojik incelemede kullanılan atelokollajen tip 1 içerikli greft materyaline (Hypro-Oss®) karşı herhangi bir inflamatuvar veya yabancı cisim reaksiyonunun oluşmaması ve materyalin doku ile çok iyi uyum göstermesi literatürdeki çalışmaların bulgularını destekler niteliktedir.

Bizim çalışmamızda yeni kemik yapımı açısından 7. günde kontrol grubunda atelokollajen grubuna göre daha fazla yeni kemik yapımı gözlenirken, 30. günde kontrol grubu ile deney grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir. Grup içi değerlendirmelerde ise 30. gündeki kemik iyileşme düzeyi, 7. günden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu bulgu Hur ve arkadaşları ile Kim ve arkadaşları, Missana ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda geç dönemde, erken döneme göre atelokollajen tip1 kullanılan grupta kemik iyileşme skorlarının artması açısından benzerlik gösterirken; atelokollajen tip1 grubunda; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla kemik oluşumu gözlenmemesi açısından benzerlik göstermemektedir. Bu farklılığın ortaya çıkmasında kullanılan deney hayvanlarındaki değişiklikler, açılan defekt büyüklüğü, seçilen çalışma sahalarının aynı olmaması, kollajenin elde edilme kaynağı ve metod farklılığının etkili olabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda yeni kemik oluşum miktarları ve kemik iyileşme skorları açısından Bio-Oss® ve Hypro-Oss® grupları arasında 7. ve 30. günlerde istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamasını; her iki biyomateriyalin osteokondüktif potansiyellerinin benzer olması şeklinde yorumlamaktayız.

Fibrozis değerleri açısından grup içi değerlendirmelerde her iki biyomateriyal grubunda da 30. gündeki fibrozis değerleri 7. gündeki fibrozis değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktür.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada ratların tibia kemiklerinde oluşturulan kemik defektlerine atelokollajen tip 1 içerikli liyofilize sığır kaynaklı kemik greftini (Hypro-Oss) ve anorganik deproteinize sığır kaynaklı kemik grefti (Bio-Oss) ayrı ayrı

uygulanmış ve 7. ve 30. günde her iki grupta da yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. Deney ve kontrol grupları arasında yeni kemik oluşum miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Bu da atelokollajen tip 1 içerikli liyofilize ksenograft materyalinin (Hypro-Oss®) sahip olduğu osteokondüktif yapısı ile kemik defektlerinin tedavisinde etkin şekilde kullanılabilceğini göstermektedir. Çalışmamızın; diş hekimliği ve tıp pratiğinde kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan kemik greftlerinin yeni oluşacak kemiğe matris oluşturma özelliklerinin karşılaştırılması açısından ileriki çalışmalara yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

- Ratlar yapılan cerrahi işlemi iyi tolere etmiştir ve iyileşme süresi boyunca hiçbir grupta enfeksiyon veya komplikasyon meydana gelmemiştir.
- Deney gruplarında yabancı cisim reaksiyonu ve nekroz oluşumu gözlemlenmemiştir.
- Atelokollajen tip 1 içerikli liyofilize ksenogreftin vücut tarafından tolere edilebilen, doku uyumlu bir materyal olduğu ve bu kollajenin oral ve maksillofasial rekonstrüksiyon uygulamalarında güvenle kullanılabileceği görülmüştür.
- Deney grupları arasında 30. gündeki fibrozis değerleri 7. güne oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır.
- Her iki deney grubunda da fibrotik doku ile iyileşme yerine kemik yapımı ile iyileşme izlenmiştir.
- 30. gün sonunda deney ve kontrol grupları arasında yeni kemik oluşum miktarı açısından, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken, gruplar içi değerlendirmede 30. gündeki yeni kemik oluşum yüzdesi, 7. günden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunduğu saptanmıştır.
- Deney gruplarında 30. günde greft materyallerinin çok az bir kısmının rezorbe olduğu gözlenmiş, bu nedenle büyük kemik defektlerinde çöküntü ve rezorbsiyonları önlemede, kemik konturlarını düzenlemede, her iki kemik greftinde güvenle kullanılabileceğini ancak küçük kemik içi defektlerde spontan iyileşmenin de yeterli olabileceği görüşündeyiz.
- Çalışmamızda tek başına histopatolojik değerlendirmeler göz önüne alınmış olup, gelecekte yapılacak olan immunhistokimyasal ve radyolojik değerlendirmeler ile daha kapsamlı olabilecek sonuçlara ulaşılabileceği düşüncesindeyiz.
- Sonuç olarak çalışmada gerçekleştirdiğimiz histopatolojik incelemeler ışığında atelokollajen tip 1 içerikli liyofilize ksenogreftin, kemik yapımını belirli oranda hızlandırıcı bir etkisini görmemekle birlikte, osteokondüktif etkisinden dolayı kemik defektlerinde uygulanabilecek kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilemeyen, biyouyumlu bir materyal olarak güvenle kullanılabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 1999; **2**(2): 134-140.
2. Bosch C, Melsen B, Vangervik K. Importance of the Critical-Size Bone Defect in Testing Bone-Regenerating Materials. *J Craniofac Surg*. 1998; **9**(4): 310-6.
3. Stubbs D, Deakin M, Chapman-Sheath P, Bruce W, Debes J, Gillies RM, Walsh WR. In Vivo Evaluation of Resorbable Bone Graft Substitutes In A Rabbit Tibial Defect Model. *Biomaterials*. 2004; **25**(20): 5037-44.
4. Stevenson S, Emery SE, Goldberg VM. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res*. 1996; **324**: 66-74.
5. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone replacement graft. The bone substitutes. *Dent Clin North Am*. 1998; **42**: 491-503.
6. Aloy-Prosper A, Maestre- Ferrin L, Penarrocha-Oltra D, Penarrocha-Diogo M. Bone regeneration using particulate grafts. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011; **16**(2): 210-4.
7. Rocha FS, Batista JD, Zanetta-Barbosa D, Dechichi P. Effect of different storage media on the regenerative potential of autogenous bone grafts: A histomorphometrical analysis in rabbits. *J Oral Implantol*. 2013; **39**(6): 635-42.
8. Miyata T, Taira T, Noiahiki Y. Collagen engineering for biomaterial use. *Clinical Materials*. 1992; **9**(3): 139-148.
9. Takechi M, Miyamoto Y, Ishikawa K, Momota Y, Yuasa T, Tatahera S, Takano H, Minamiguchi S, Nagayama M. Histological evaluation of apatite cement containing atelocollagen. *Dental Materials Journal*. 2007; **26**(2): 194-200.
10. Wated S. Hypro-Oss®. Erişim 16.03.2013, <http://bioimplon.de/hypro-sorp-os.html>.
11. Erdem MA, Çankaya AB, Oral O, Yaltırık M, Oral CK, Kasapoğlu Ç. Kemik. *Akademik Dental Diş Hekimliği Dergisi*. 2007; **9**(1): 1-6.
12. Nordin M, Frankel VH. Biomechanics of Whole Bone and Bone Tissue. Philadelphia, *Lea and Febiger*, 1980.15-60.
13. Habal MB, Reddi AH. Bone grafts and bone induction substitutes *Clin Plast Surg*. 1994; **21**(4): 525-42.

14. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials* 2001; **22**: 2581-2593.
15. Junquiera LC, Carnerio J. Kemik. Aytekin Y, Solakoğlu S (Ed.). *Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri; 2006:141-52.
16. Naftel JP, Daley WP, Lynch CJ, Haines ED, Yang G, Fratkin JD. *Cartilage and Bone*. In: Cui (Eds.). *Atlas of histology with functional and clinical correlations*. 1th ed. Philadelphia: Lippincott Williams; 2011: 79-98.
17. Eroschenko VP. *Cartilage and Bone*. In: Di Fiore's *Atlas of Histology with Functional Correlations*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008: 79-91.
18. Gark AK. *Bone: Biology, harvesting, grafting for dental implants*. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc; 2004.
19. Baron R. *Anatomy and ultrastructure of bone*. İçinde Favus M, editor. *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
20. Garant PR. *Oral Cells and Tissues*. Illinois: Quintessence Publishing Co. Inc.; 2003: 132-51.
21. Tuskan C, Yaltırık M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Biyomateryaller. İ.Ü. Diş Hekimliği Fak. 2002; 66.
22. Soydan N. *Genel Histoloji*. İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul; 1985: 100-119.
23. Ogino Y, Ayukawa Y, Kukita T, Koyano K. The contribution of plateletderived growth factor, transforming growth factor-b1, and insulin like growth factor-I in platelet rich plasma to the proliferation of osteoblast- like cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; **101**: 724-729.
24. Çetin Ç. Kemik defektlerinin iyileşmesinde non-rezorbe biyomateryaller ile trombosit zengin plazma (PRP) ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR)'nun etkilerinin deneysel olarak araştırılması. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D, Doktora Tezi 2008.
25. Jee WSS. *Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology*. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook*. 2th. ed. CRC Press, Florida, 2001, 1-68.

26. Rubin CT, Rubin JE. Biology, physiology and morphology of bone. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 6th. Ed. Saunders Company, 2001: 1611-1633.
27. Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: Favus MJ. *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorder of Mineral Metabolism*. Lippincot-Raven Company, 1993; 3-9.
28. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. *J Bone Joint Surg. Am.*1995; 77 A: 1256.
29. Kierszenbaum AL. Demir R, editor. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık, İstanbul, 2006. 118-140
30. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*., Nobel, 1996, 9:901-2.
31. Çay HF, Sezer N. Kemik yapısı ve kemik döngüsü üzerine bir derleme. *Fiziksel Tıp Derg.* 2002; 5(3): 177-184.
32. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol 2000*. 2000; 24: 99-126.
33. Ömeroğlu H. Kas İskelet Sisteminde Temel Anatomik Oluşumların Yapısı, İşlevi, İyileşmesi ve Kemik Metabolizması. *TOTBİT Dergisi* 2010; 9(2): 78-84.
34. Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. *International Journal of Pheurmaceutics*. 2001; 221: 1-22.
35. Aslan M. Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Kemik Greftlerinin ve Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu Yönteminin Etkilerinin İncelenmesi ve Karşılaştırılması, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2002; 2-10.
36. Song WJ et al. Peripheal tissue freezing in cryosurgery. *Cryobiology* 1988; 25(2): 153-63.
37. Wozney JM, Roosen V, Byrne M., et al. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl.* 1990; 13: 149.
38. Dedeoğlu RK. DBM Beta-Trikalsiyum fosfatın deneysel kemik defektlerinde ayrı ayrı ve birlikte kullanıldıklarında iyileşme üzerine olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi 2004; İstanbul.
39. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*. 1993; 260: 920-926.

40. Aybar B. Periapikal lezyonlarda prostoglandinler (PGE2, PGF2) ve bazı biyokimyasal parametrelerin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Tez 1997; İstanbul.
41. Ballı B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme Tezi. İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi. İstanbul; 2004.
42. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. *J. Orthop. Sci.* 2000; 5(1): 64-70.
43. Kierszenbaum AL 2 : Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, 1st ed. Mosby Inc., St. Louis, Chapter 5, page 131, 2002.
44. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Fractures 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Co, 1984; 1: 147-167.
45. Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of Histology*. Philadelphia: Saunders, Elsevier: 2001.
46. Sandy C. Marks JR, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. *The American Journal of Anatomy*. 1988; 1(83): 1-44.
47. Badalov E. Vasküler endotelyal büyüme faktörünün erken dönem kemik dokusu iyileşmesi üzerindeki etkisinin deneysel sıçan modeli üzerinde histolojik ve histomorfometrik analizi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, 2014.
48. Müftüoğlu S. Kemik nasıl oluşur. *Bilim ve Teknik Dergisi*. 1993; 26(313): 907.
49. Yıldız M. Kemik iyileşmesinde trombosit zengin plazma etkisinin deneysel olarak değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 2006.
50. Yıldırım A, Tunik S, Çetin Ç, Akkuş M. Osteogeneze Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fbf) ve Kemik Morfogenetik Proteinlerin (Kmp) Rolü. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2009; 16(2): 134-140.
51. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am.* 1991; 35: 469-477.
52. Marks SC, Popoff SN. Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton. *The American Journal of Anatomy*. 1988; 183: 1-44.

53. Ün EC. Lokal olarak uygulanan rifamisininin bone morfogenetik protein salınımını ve yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi 2013.
54. Campell JT, Kaplan F. The role of morphogens in endochondral ossification. *Calcif Tissue Int.* 1992; **50**: 283.
55. Gartner LP 2, James LH. *Color Atlas of Histology*, 3rd ed. Lippincott William & Wilkins, Philedelphia. 2000; Chapter 4, page 73.
56. Kılıçoğlu SS. Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.* 2002; **55**(2): 143-150.
57. Kalfas HI. Principles of Bone Healing. *Neurosurg Focus.* 2001; **10**(4): 1-4.
58. Frost HM. The biology of fracture healing on overview for clinicians part I. *Clin Orthop Rel Res.* 1989; **248**: 283-293.
59. Oral O. L-Dopa'nın (Allojenik greft uygulanan ve uygulanmayan) kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 2000.
60. Kabaca G. Diabetik sıçanlarda selenyumun kemik iyileşmesi üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2007.
61. Brond AR, Rubin TC. *Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System.* 2 nd ed. New York: Churchill Livingstone, 1990; **1**: 93-114.
62. Peterson LJ. *Principles of oral and maxillofacial surgery.* 1 ed. Philedelphia. Lippincott-Raven Publishers; 1997.
63. Lang PL, Araujo M, Karring T. Alveolar bone formation. İçinde Lindhe J, Karring T, Lang PL editor. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* 4 th ed. Oxford: Blackwell; 2003: 866-895.
64. Jung RE, Glauser R, Schaner P, Hammerle CH, Sailer HF, Weber FE. Effect of RHBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2003; **(5)** 556-68.
65. Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Trauma Surg.* 2001; **121**: 426-8.
66. Walsh WR, Sherman P, Howlett CR, Sonabend DH. Fracture healing in a rat osteopenia model. *Clin Orthop* 1997: 218-227.

67. Lind M, Bunger C. Factors stimulating bone formation. *Eur Spine J.* 2001; **10**: 102-109.
68. Gronowicz GA, McCarthy MB. Glucocorticoids inhibit the attachment of osteoblasts to bone extracellular matrix proteins and decrease integrin levels. *Endocrinology* 1995; **136**: 598-608.
69. Atay MH, Yılmaz FR. İki farklı kemik greftinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi.* 2005; **34**(4): 172-178.
70. Atabek A. Ototreftler aracılığı ile elde edilen otojen kemik partiküllerinin ve iki farklı greft materyalinin yalın ve kombine uygulamalarının histopatolojik incelenmesi sonuçları. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. 2003.
71. Mac Intyre DR, Speculand B. Autogenous bone grafting for persistent maxillary cyst cavities. *Br Dent J.* 1983; **155**: 273-277.
72. Khan SF, Bostrom MPG, Lane JM. Bone growth factors. *Orthop Clin North Am.* 2000; **31**: 375-389.
73. Reddi AH. Bone morphogenetic protein: an unconventional approach to isolation of first mammalian morphogens. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1997; **8**(1): 11-20.
74. Cunningham NS, Paralkar V, Reddi AH. Osteogenin and recombinant bone morphogenetic protein 2B are chemotactic for human monocytes and stimulate transforming growth factor beta 1 mRNA expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; **89**(24): 11740-4.
75. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008; **16**(5): 585-601.
76. Draenert FG, Nonnenmacher AL, Kammerer PW, Goldschmitt J, Wagner W. BMP-2 and bFGF release and in vitro effect on human osteoblasts after adsorption to bone grafts and biomaterials. *Clin Oral Implants Res.* 2012; Apr 24.
77. Hsu C, Chang J, Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *J Hand Surg Am.* 2004; **29**(4): 551-563.
78. Giannobile WV, Hernandez RA, Finkelman RD, Ryan S, Kiritsy CP, D'Andrea M, Lynch SE. Comperative effects of platelet-derived growth factor-BB and

- insulin-like growth factor-I, individually and in combination, on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *J Periodontol Res*. 1996; **31**(5): 301-312.
79. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Platelet-Rich Plasma: A source of multiple autologous growth factors for bone grafts. In: *Tissue Engineering, Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Ed: Carol Stream, Quintessence Publishing Co, Illinois. 1999; 71-83.
 80. Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev*, 1989; **10**(1): 68-91.
 81. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Medicine*. 2000; **6**(3): 389-395.
 82. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular control of angiogenesis. *Interventional Reviews of Immunology*. 2002; **21**: 33-49.
 83. Schimitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop*. 1986; **205**: 299-308.
 84. Bozkaya S. Maksillofasiyal cerrahide kritik boyut defekti kavramı. *Ondokuz Mayıs Univ Dis Hekim Fak Derg*. 2005; **6**(1): 49-54.
 85. Develioğlu H. Kritik boyutlu ve kritik boyutlu olmayan defektler. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2003; **6**(1): 60-3.
 86. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg*. 1990; **1**: 60-8.
 87. Kleinschmidt JC, Hollinger JO. Animal models in bone research. In: Mutaz HB, Reddi AH, editors. *Bone grafts & bone substitutes*. Philadelphia: WB Saunders Company. 1992. 133-46.
 88. Duarte PM, Marues MR, Bezerra JP, Bastos MF. The effects of caffeine administration on the early stage of bone healing and bone density. A histometric study in rats. *Archives of Oral Biology*. 2009; **54**: 717-722.
 89. Melo LG, Nagata MJ, Bosco AF, Ribeiro LL, Leite CM. Bone healing in surgically created defects treated with either bioactive glass particles, a calcium sulfate barrier, or a combination of both materials. A histological and histometric study in rat tibias. *Clin Oral Implants Res*. 2005; **16**(6): 683-91.
 90. Bernabe PF, Melo LG, Cintra LT, Gomes-Filho JE, Dezan E Jr, Nagata MJ. Bone healing in critical-size defects treated with either bone graft, membrane, or

- a combination of both materials: a histological and histometric study in rat tibiae. *Clin Oral Implants Res.* 2012; **23**(3): 384-8.
91. Erdoğan D, Hatipoğlu M, Görgün M, Ilgaz C. *Genel Histoloji*. Hatipoğlu yayınevi. Ankara. 1999; 107-117.
 92. Boretos JW, Eden M. *Contemporary biomaterials, material and host response, new technology and legal aspects*. Noyes Publications, Park Ridge New Jersey, 1984.
 93. Kümbüloğlu Ö, Oral O. Biyomateryaller. *E.Ü. Dişhek Fak Derg* 2013; **34**(1): 27-33.
 94. Branemark PI, Breine U, Adell R, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intraosseous anchorage of dental prosthesis. *Scand J Plas Reconstr Surg* 1969; **3**: 81-100.
 95. Hench LL, Wilson J. Introduction in: *Introduction to Biomaterials*. 1 st ed, World Specific, Singapore, 1993.
 96. Stauffer RN, Chao EYS. Femur in: *Orthopedic Basic Science*. American Academy of Orthopedic Surgeons, ABD, 1994; 573.
 97. Steinemann SG. Metal implants and surface reactions. *Injury*. 1996; **27**(3): 16-22.
 98. Cao WP, Hench LL. Bioactive materials. *Ceramic International*, 1996; **22**: 493-507
 99. Jablonski P, Goh BL, Maguire J, Glowoski I, Howden BO, Thomson NM, Stein AN. Apoptosis and the expression of genes of the Bcl-2 family and TGF-beta 1 in rat renal allografts transplanted after donor-specific blood transfusion. *Transplant Proc* 2005; **37**(1): 93-95.
 100. Viljanen VV, Lindholm TC, Gao TJ, Lindholm TS. Low dosage of native allogenic bone morphogenetic protein in repair of sheep calvarial defects. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1997; **26**: 389-93.
 101. Tuz HH, Akal UK, Cambazoğlu M, Kisnisci RS. Use of Spongius Bone Chips and Fascia Temporalis on Alveolar Bone Defects. *Turk J Med Sci* 2004; **34**: 179-185.
 102. Moharamzadeh K, Freeman C, Blackwood K. Processed bovine dentin as a bone substitute. *Br J Oral Maxillofacial Surg* 2008; **46**(2): 110-3.

103. Altın N. Mineralize Dentin Sement Bileşiminin 5 Duvarlı Kemik Defektlerinin İyileşmesine Olan Etkisinin Histomorfometrik ve Histolojik Analizinin İn Vivo Olarak Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2014; İstanbul
104. Eratalay K, Tözüm T, Güncü G, Tulunoğlu İ. Posterior mandibular bölgede 'split kret' tekniği kullanılarak implant yerleştirilmesi. *GÜ Diş Hek Fak Derg* 2006; **23**(3): 183-187.
105. Çetiner S, Zor F. Dental implantolojide başarıyı etkileyen faktörler. *GÜ Diş Hek Fak Derg* 2007; **24**(1): 51-56.
106. Atılğan SS. Kalsiyum Sülfat partikülleri ile β -Trikalsiyum Fosfat/Hidroksiapatit granüllerinin kemik içi kavitelerinde osteogenezis üzerine olan etkilerinin deneysel olarak karşılaştırılması. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2006; Diyarbakır.
107. Albrektsson T, Sennerby L, Tjellström A. Advanced bone healing concepts in craniomaxillofacial reconstructive and corrective bone surgery. In: Greenberg AM, Prein J Eds. *Craniomaxillofacial Reconstructive and Corrective Bone Surgery*. Principles of Internal Fixation Using the AO/ASIF Technique, London: Springer; 2002: 124-138.
108. Perry CR. Bone repair techniques bone grafts and bone substitutes. *Clin Orthop* 1999; **360**: 71-86.
109. Moore WR, Graves SE, Bain GI. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001; **71**(6): 354-36.
110. Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma* 1989; **3**: 192-195.
111. Gigante A, Cappela M, Manzotti S, Cecconi S, Greco F, Di Primio R, Mattioli-Belmonte M. Osteoinduction properties of different growth factors on cells from non-union patients: in vitro study for clinical application. *J Biol Regul Homeost Agents* 2010; **24**(1): 51-62.
112. Elsalanty ME, Genecov DG. Bone grafts in craniofacial surgery. *Craniomaxillofac Trauma Reconstruction* 2009; **2**: 125-134.

113. Goldberg VM. Bone grafts and their substitutes: facts, fiction and futures. *Orthopedics* 2001; **24**(9): 875-876.
114. Brydone AS, Meek D, MacLaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H* 2010; **224**(12): 1329-43.
115. Misch CM, Misch CE. *Intraoral autogenous donor bone grafts for implant dentistry*. In: Misch CE Ed. *Contemporary implant dentistry*, St Louis: C.V. Mosby; 1999: 497-508.
116. Ersu B. İmplant diş hekimliğinde kullanılan ağız içi otojen kemik greftleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2007; **10**(2): 135-140.
117. Benlidayı ME. Sinüs tabanı greftlemesi ve eş zamanlı implant yerleştirme işlemlerinde sığır kaynaklı spongioz hidroksiapatit blok ve granül hidroksiapatit greft materyallerinin deneysel olarak karşılaştırılması. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş hekimliği fakültesi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi, 2008; Adana.
118. O' Keeffe RM, Reimer BL, Buttersfield SL. Harvesting of autogenous cancellous bone graft from the proximal tibial metaphysis: A review of 230 cases. *J Orthop Trauma*, 1991; **5**: 469-474.
119. Catone GA, Reimer BL, McNeir D, Ray R. Tibial autogenous cancellous bone as an alternative donor site in maxillofacial surgery: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg*, 1992; **50**(12): 1258-1263.
120. Bauer T, Muschler G. Bone graft materials. *Clin Orthop Relat Res* 2003; **413**: 281-290.
121. Kaya A. Kemik defektlerinin iyileşmesinde rifamisin ila allojenik, alloplastik ve heterojen kemik greftlerinin etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Diş hekimliği fakültesi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi 2013; Diyarbakır.
122. Çetik Ö, Türker M. Kemik bankacılığının dünü ve bugünü. *TOTBİD Dergisi*, 2010; **9**(2): 94-100.

123. Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi* 2004; 3(3-4): 21-34.
124. Kaya Y, Şahin S. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinin periodontal kemik defektlerinde uygulanımı ve son gelişmeler. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2010; 34(1-2): 37-45.
125. Gençdoğan S. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kritik boyutlu kemik defektlerinde uygulanan sığır kaynaklı demineralize kemik greftinin kemik iyileşmesine olan etkisinin otojen, allojen ve sentetik greftlerle karşılaştırılmasının histomorfometrik olarak incelenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 2014; Sivas
126. Alan H. Maksiller sinüs yükseltilmesi operasyonlarında, doğal mineralize hidroksilapatit greftleri ile trombositten zengin plazma karıştırılmış doğal mineralize hidroksilapatit greftlerinin klinik, radyolojik, histolojik ve histomorfolojik karşılaştırılması. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 2009; Diyarbakır.
127. Asselmeier MA, Caspari RB, Bottenfield S. A review of allograft processing and sterilization techniques and their role in transmission of the human immunodeficiency virus. *Am J Sports Med* 1993; 21: 170-175.
128. Nather A. Musculoskeletal tissue banking in Singapore: 15 years of experience (1988-2003). *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2004; 12: 184-190.
129. Spector M. Anorganic bovine bone and ceramic analogs of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. *Clin Plast Surg* 1994; 21(3): 437-444.
130. Accorsi-Mendonça T, Conz MB, Barros TC, Sena LA, Soares GA, Granjeiro JM. Pyhsicochemical characterization of two deproteinized bovine xenografts. *Braz Oral Res* 2008; 22(1): 5-10.
131. Kao ST, Scott DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2007; 19(4): 513-521.
132. Pıkdöken L, Gürbüz B, Küçükodacı Z, Urhan M, Barış E, Tezulaş E. Scintigraphic, histologic and histomorphometric analyses of bovine bone mineral and autogenous bone mixture in sinus floor augmentation: a randomized

- controlled-trial results after 4 months of healing. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; **69**(1): 160-169.
133. Karaca İ, Türker M, Akbay C. Experimental investigation of bone regeneration using pyrost in animals. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.* 1994; **36**: 95-101.
134. Efeoğlu A. Periodontal tedavide kemik greftleri. *Akademik Dental Dişhekimliği Dergisi.* 2002; **4**(1): 1-13.
135. Rekow D. Informatics challenges in tissue engineering and biomaterials. *Adv. Dent. Res.* 2003; **17**: 49-54.
136. Bozkaya S1, Karaca İ, Oygür T, Barış E. Deproteinize kemik greftinin (Bio-Oss®) kemik iyileşmesi üzerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi. *Klinik Bilimler Dergisi* 2008; **2**(2): 87-97.
137. Bozkaya S2. Maksillofasiyal cerrahide kemik rejenerasyonunu kolaylaştırmak için greft materyali olarak deproteinize sığır kemiği mineralinin (Bio-Oss®) kullanımı. *Klinik Bilimler Dergisi* 2006; **1**(1): 61-70.
138. Gazmawe A. Sinus augmentation with atelo-collagenated bovine bone graft Hypro-Oss™. *Implants* 2014; **15**(2): 36-38.
139. Timoçin N, Kaynar A, Öztürk S, Sungur A, Demiryont M. Biocoral uygulanan kemik defektlerinde iyileşmenin radyonüklit ve histopatolojik yöntemlerle incelenmesi. *İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 1993; **3**: 173-178.
140. Tomak Y, Dabak N, Kökçü C, Gülman B, Karaismailoğlu TN, Andaç A. Allogreft kullanımı ve kemik bankası üzerinde deneyimlerimiz. *Acta Orthopaedica Traumatologica Turcica*, 2000; **34**: 139-146.
141. Rabie AB, Wong RW, Hagg U. Composite autogenous bone and demineralized bone matrices used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br. J Oral Maxillofac Surg.* 2000; **38**(5): 565-570.
142. Dumitrescu AL. *Chemicals in Surgical Periodontal Therapy. Bone Grafts and Bone Graft Substitutes in Periodontal Therapy.* Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011: p. 73-144.
143. Murugan R and Ramakrishna S. Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology* 2005; **65**: 2385-2406.

144. Proussaefs P, Lozada J, Valencia G, Rohrer MD. Histologic evaluation of a hydroxyapatite onlay bone graft retrieved after 9 years: a clinical report. *J Prosthet Dent*, 2002; **87**: 481-484.
145. Allison DC, Lindberg AB, Samimi B. A comparison of mineral bone graft substitutes for bone defects. *US Oncology & Hematology* 2011; **7**(1): 38-49.
146. Moy PK, Lundgren S, Holmes RE. Maxillary sinus augmentation: histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*, 1993; **51**: 857-862.
147. Carranza FA, Newman MG, Takei HH. *Carranza's Clinical Periodontology*, 9. Ed. USA WB. Saunders Co. 2002; 812-819.
148. Turner TM, Urban RM, Gitelis S, Haggard W, Richelsoph K. Resorption evaluation of a large bolus of a calcium sulfate in a canine medullary defect. *Orthopedics* 2003; **26**: 577-579.
149. Sakallıoğlu U, Yavuz Ü. İnterproksimal kemik içi defektlerin rekonstrüksiyonunda biyoaktif cam içerikli alloplastların etkinliğinin incelenmesi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2006; **30**(1): 17-24.
150. Sarsılmaz F, Sarsılmaz C. Ortopedide kullanılan polimer esaslı kompozit malzemeler. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 2003; **3**: 113-117.
151. Kallela I, Laine P, Suuronen R, Lindquist, Lizuka T. Assessment of material- and technique related complications following sagittal split osteotomies stabilized by biodegradable polylactide screws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radial Endod* 2005; **99**(1): 4-10.
152. Stahl SS, Froum SJ, Tarnow D. Human clinical and histologic responses to the placement of HTR polymer particles in 11 intrabony lesions. *J Periodontol* 1990; **61**: 269-274.
153. Kekilli E, Yağmur C, Ertem K, Türkbilen B. Kemik greftlerinde nükleer tip uygulamaları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005; **25**: 261-279.
154. Yukna RA, Mayer ET, Amos SM. 5-year evaluation of durapatite ceramic alloplastic implants in periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989; **60**(10): 544-51.
155. Di Lullo GA, Sweeney SM, Korkko J, Ala-Kokko L, San Antonio JD. Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most

- abundant protein in the human, type I collagen. *J Biol Chem.* 2002; **227**(6): 4223-31.
156. Aktaş Z. Sert doku onarımına yönelik makrogözenekli kollajen-hidroksiapatit matriks yapıların geliştirilmesi ve hücre kültüründe kullanımı. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 2011; Ankara.
 157. Fratzl P, Weinkamer R. Nature's hierarchical materials. *Progress in materials* 2007; **52**(8): 1263-1334.
 158. Söderhall C, Marenholz I, Kerscher T, Rüschen-dorf F, Esparza-Gordillo J, Worm M. Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. *Plos Biol.* 2007; **5**(9): 242.
 159. Massaro EJ, Rogers JM. *The skeleton Biochemical, Genetic and Molecular Interactions in Development and Homeostasis*. Totawa, NJ: Humana Press Inc; 2004 Preface.
 160. Everson AG. *Applied Histochemistry of Simple and Glycosylated Proteins*. Histochemistry, (Ed), Livingstone 4 th edition. Longman Group Limited, 1985; 538-602.
 161. Cowin SC. *Bone Mechanics Handbook*. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; 1: 1-68.
 162. Deng HW, Liu YZ. *Current Topics in Bone Biology*. Singapour: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2005.
 163. Güngörmüş M. Tavşanlarda oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine heterolog tip1 kollajenin etkisinin histopatolojik ve radyolojik olarak incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 1996; Erzurum.
 164. Micheletti G, Onorato I, Micheletti L. Heterologous, Lyophilized, Non-Denatured Type-1 Collagen in Dentistry. *Int J Tiss Reac* 1992; **14**: 202-205.
 165. Gürkan B, Yaltırık M, Koçak H, Çebi Z, Orak O, Bilgiç B. Kollajenin (Osteovit) osteogenez üzerindeki etkisinin deneysel olarak araştırılması. *Türk Patoloji Dergisi* 1999; **15**(1-2): 22-24.
 166. El Deeb M, Roszkowski MT, El Hakim I. Extracranial and mandibular augmentation with hydroxyapatite-collagen in induced diabetic and nondiabetic rats. *J Oral and Maxillofac Surg* 1991; **49**: 165-170.

167. Eppley BL, Deltino JJ. Collagen tube repair of the mandibular nerve: A preliminary investigation in the rat. *J Oral Maxillofac Surg* 1988; **46**: 41-47.
168. Mian M, Beghe F, Mian E. Collagen as a Pharmacological Approach in Wound Healing. *Int J Tiss Reac* 1992; **14**: 1-9.
169. Liu SH, Yang RS, Al-Shaikh R, Lane JM. Collagen in tendon, ligament and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res* 1995; **282**: 250-272.
170. Yılmaz C. Kıkırdak yaralanmalarının tedavisinde matriks rehberli otology kondrosit implantasyonu. *TOTBİD Dergisi* 2010; **9**(3): 164-174.
171. Hanai K, Kojima T, Ota M, Onodera J, Sawada N. Effects of Atelocollagen Formulation Containing Oligonucleotide on Endothelial Permeability. *Journal of Drug Delivery*. 2012; **2012**: 1-9.
172. Ochiya T, Nagahara S, Sano A, Itoh H, Terada M. Biomaterials for gene delivery: Atelocollagen-mediated Controlled Release of Molecular Medicines. *Current Gene Therapy* 2001; **1**: 31-52.
173. Fujioka M, Fujii T. Maxillary Growth following Atelocollagen Implantation on Mucoperiosteal Denudation of the Palatal Process in Young Rabbits: Implications for Clinical Cleft Palate Repair. *Cleft Palate-Craniofacial Journal*. 1997; **34**(4): 297-308
174. Takechi M2, Ohta K, Ninomiya Y, Tada M, Minami M, Takamoto M, Ohta A, Nakagawa T, Fukui A, Miyamoto Y, Kamata N. 3-Dimensional composite scaffolds consisting of apatite-PLGA-atelocollagen for bone tissue engineering. *Dental Materials Journal* 2012; **31**(3): 465-471.
175. Galbavy S, Lezovic J, Horecky J, Vanis M, Bakos D. Atelocollagen / Hydroxylapatite composite material as bone defect filler in an experimental on rats. *Bratisl Lek Listy* 1995; **96**(7): 368-370. Abstract.
176. Kim BS, Kim JH, Choi JG, You KH, Lee J. The effects of fibrinogen concentration on fibrin / atelocollagen composite gel: an in vitro and in vivo study in rabbit calvarial bone defect. *Clin Oral Imp Res* 2014; **0**: 1-7.
177. Itoh H, Aso Y, Furuse M, Noishiki Y, Miyata T. A Honeycomb Collagen Carrier for Cell Culture as a Tissue Engineering Scaffold. *Artif Organs* 2001; **25**(3): 213-217.
178. Bongio M, van den Beucken JJ, Nejadnik MR, Tahmasebi Birgani Z, Habibovic P, Kinard LA, Kasper FK, Mikos AG, Leeuwenburgh SC, Jansen JA.

- Subcutaneous tissue response and osteogenic performance of calcium phosphate nanoparticle-enriched hydrogels in the tibial medullary cavity of guinea pigs. *Acta Biomater.* 2013; **3**: 5464-5474.
179. Hosny M, Sharawy M: Osteoconduction in Young and Old Rats Using Demineralized Bone Powder Allografts. *J Oral Maxillofac Surg* 1985; **43**: 925.
 180. Irving JT, Le Bolt SA, Schneider EL: Ectopic Bone Formation and Aging. *Clin Orthop Relat Res.* 1981; **154**: 249-253.
 181. Öztuna V. Ortopedi ve Travmatolojide Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri (Temel İlkeler, Etik unsurlar ve Modeller). *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi* 2007; **6**(1-2): 47-55.
 182. Allen HL, Wase A, Bear WT. Indomethacin and aspirin: Effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. *Acta Orthop Scand* 1980; **51**: 595-600.
 183. Rabie ABM, Lie KEN, Jie RKP. Integration of endochondral bone grafts in the presence of demineralized bone matrix. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996; **25**: 311.
 184. Çılbrır HÖ, Karaca İ, Sabuncuoğlu B, Akbay C. Demineralize kemik tozunun kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi.* 1999; **2**(2): 117-121.
 185. Tomin E, Beksaç B, Lane JM, Amerika Birleşik Devletlerinde ortopedik girişimlerde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış. *J Arthroplasty Arthroscopic Surg.* 2002; **13**(2): 114-129.
 186. Fukuta K, Har-Shai Y, Collares MV, Lichten JB, Jackson IT. Comparison of inorganic bovine bone mineral particles with porous hydroxyapatite granules and cranial bone dust in the reconstruction of full-thickness skull defect. *J Craniofac Surg* 1992; **3**(1): 25-29.
 187. Piatelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piatelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; **14**(6): 835-840.
 188. Mastrogiacomo M, Corsi A, Francioso E, Di Comite M, Monetti F, Scaglione S, Favia A, Crovace A, Bianco P, Cancedda R. Reconstruction of

- extensive long bone defects in sheep using resorbable bioceramics based on silicon stabilized tricalcium phosphate. *Tissue Eng* 2006; **12**(5): 1261-1273.
189. Brandacher G, Grahammer J, Sucher R, Lee WP. Animal models for basic and translational research in reconstructive transplantation. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2012; **96**(1): 39-50.
 190. Hunziker EB. Tissue engineering of bone and cartilage. From the preclinical model to the patient. *Novartis Found Symp* 2003; **249**: 70-78.
 191. Roach HI, Shearer JR, Archer C. The choice of an experimental model. A guide for research workers. *J Bone Joint Surg Br* 1989; **71**(4): 549-553.
 192. Grewal BS, Keller B, Weinhold P, Dahners LE. Evaluating effects on deferoxamine in a rat tibia critical bone defect model. *Journal of Orthopaedics* 2014; **11**: 5-9.
 193. Kido HW, Tim CR, Bossini PS, Parizotto NA, Castro CA, Crovace MC, Rodrigues ACM, Zanotto ED, Filho OP, Anibal FF, Renno ACM. Porous bioactive scaffolds: characterization and biological performance in a model of tibial bone defect in rats. *J Mater Sci: Mater Med* 2015; **26**: 74.
 194. Miles JD, Weinhold P, Brimmo O, Dahners L. Rat tibial osteotomy model providing a range of normal to impaired healing. *J Orthop Res* 2011; **29**: 109-115.
 195. Khadra M, Kasem N, Haanaes HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; **97**(6): 693-700.
 196. Süt N. Klinik araştırmalarda örneklem sayısının belirlenmesi ve güç (power) analizi. *RAED Dergisi* 2011; **3**(1-2): 29-33.
 197. Schmid J, Wallkamm B, Hammerle CH, Gogolewski S, Lang NP. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. *Clin Oral Implants Res* 1997; **8**: 244-248.
 198. Tuncel Ş, Ozan F, Aydın F, Yıldız H, Bora OA. Denerve sıçan femurunda hiperbarik oksijen tedavisinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi. *Ege Tıp Dergisi* 2013; **52**(1): 20-26.

199. Özcan A, Yüncü M, Dalkız M, Yapar M. Kemik defektlerinin iyileşmesinde hidroksilapatit'in etkisinin değerlendirilmesi (Deneysel Çalışma) *T Klin Diş Hek Bil* 2000; **6**: 138-144.
200. Göğüş A, Şener N, Akman Ş, Bilgiç B. Kemik defektlerinin iyileştirilmesinde kalsiyum sülfat ve kalsiyum hidroksiapatitin karşılaştırılması. *Hacettepe Ortopedi Dergisi* 2001; **11**(2): 49-54.
201. Kaya B, Ünlü G. Kistektomi ve apikal rezeksiyon operasyonlarındaki kemik defektlerinde sentetik alloplastlar ile ksenojenik greftlerin uygulanması. *Dicle Tıp Dergisi* 1999; **26**(4): 103-116.
202. Ribeiro LLG, Bosco AF, Nagata MJH, Nascimento de Melo LG. Influence of bioactive glass and/or acellular dermal matrix on bone healing of surgically created defects in rat tibiae: A histological and histometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; **23**: 811-817.
203. Esteves JC, Jr Marcantonio E, Faloni APS, Rocha FRG, Marcantonio RA, Wilk K, Intini G. Dynamics of bone healing after osteotomy with piezosurgery or conventional drilling- histomorphometrical, immunohistochemical, and molecular analysis. *Journal of Translation Medicine* 2013; **11**: 221.
204. Pipi-Favaro E, Feitosa SM, Riberio DA, Bossini P, Oliveira P, Parizotto NA, Renno ACM. Comperative study of low-intensity pulsed ultrasound and low-level laser therapy on bone defects in tibias of rats. *Lasers Med Sci* 2010; **25**: 727-732.
205. Xu W, Ganz C, Weber U, Adam M, Holzhüter G, Wolter D, Frerich B, Vollmar B, Gerber T. Evaluation of injectable silica-embedded nanohydroxyapatite bone substitute in a rat tibia defect model. *International Journal of Nanomedicine* 2011; **6**: 1543-1552.
206. İşler SC, Demircan S, Çakarar S, Çebi Z, Keskin C, Soluk M, Yüzbaşıoğlu E. Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper® on early bone healing. *J Appl Oral Sci.* 2010; **18**(4): 409-414.
207. Truedsson A, Wang JS, Lindberg P, Gordh M, Sunzel B, Warfvinge G. Bone substitute as an on-lay graft on rat tibia. *Clin Oral Impl Res* 2010; **21**: 424-429.

208. Schwartz Z, Doukarsky-Marx T, Nasatzky E, Goultschin J, Ranly DM, Greenspan DC, Sela J, Boyan BD. Differential effects of bone graft substitutes on regeneration of bone marrow. *Clin Oral Impl Res* 2008; **19**: 1233-1245.
209. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: Histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol* 2000; **71**(6): 1015-1023.
210. Torres J, Tamimi FM, Tresguerres IF, Alkhraisat MH, Kharaisat A and Lopez-Cabarcos E. Effect of solely applied plated-rich plasma on osseous regeneration compared to Bio-Oss: A morphometric and densitometric study of rabbit calvaria. *Clin Implant Dent Relat Res* 2008; **10**(2): 106-112.
211. Kasabah S, Simunek A, Krug J, Lecaro MC. Maxillary sinus augmentation with deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and implanted dental implant system. Part II. Evaluation of deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and implant surface. *Acta Medica* 2002; **45**(4): 167-171.
212. Piatelli A, Degidi M, Di Stefano DA, Rubini C, Fiorini M, Strocchi R. Microvessel Density in alveolar ridge regeneration with autologous and alloplastic bone. *Implant Dent* 2002; **11**(4): 370-375.
213. Tadjoeidin ES, De Lange GL, Bronckers AL, Lyaruu DM, Burger EH. Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus elevation. A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J Clin Periodontol* 2003; **30**(3): 261-270.
214. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran DL. Clinical evaluation of Bio-Oss: A bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Clin Periodontol* 1999; **26**(7): 421-428.
215. Paknejad M, Rokn AR, Yaghobee S, Moradinejad P, Heidari M, Mehrfard A. Effects of two types of anorganic bovine bone on bone regeneration: A histological and histomorphometric study of rabbit calvaria. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences*. 2014; **11**(6): 687-695.
216. Aybar B1, Yalçın S, Gürel A, Yazar TT, Emes Y, Yıldırım F, Yeşildere T. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ve çeşitli greft materyallerinin kemik

- defektleri üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi. *T Klin Dis Hek Bil* 2001; 7: 22-28.
217. Khorsand A, Ghahroudi AAR, Motahhari P, Rad MR, Shayesteh S. Histological evaluation of Accell Connexus® and Bio-Oss® on quality and rate of bone healing: a single blind experimental study on rabbit's calvarium. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences*. 2012; 9(2): 116-126.
 218. Stassen LF, Hislop WS, Still DM, Moos KF. Use of anorganic bovine bone in periapical defects following apical surgery: A prospective trial. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1994; 32(2): 83-85.
 219. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation in Rats by Bio-Oss. *Scand J Dent Res* 1991; 99(2): 154-161.
 220. Merckx MA, Maltha JC, Freihofer HP, Kuijpers-Jagtman AM. Incorporation of three types of bone block implants in the facial skeleton. *Biomaterials* 1999; 20(7): 639-645.
 221. Carmagnola D, Berglund T, Araujo M, Albrektsson T, Lindhe J. Bone healing around implants placed in a jaw defect augmented with Bio-Oss. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2000; 27(11): 2029-2035.
 222. Mendelkow HK, Hallfeldt KK, Kessler SB, Gayk M, Siebeck M, Schweiberer L. New bone formation following implantation of various hydroxyapatite ceramics. Animal experiment with bore hole models of the sheep tibia. *Unfallchirurg* 1990; 93(8):376-379. Abstract.
 223. Rokn AR, Khodadoostan MA, Ghahroudi AA, Motahhary P, Kharrazi Fard MJ, Bruyn H, Afzalifar R, Soolar E, Soolari A. Bone formation with two types of grafting materials. A histologic and histomorphometric study. *Open Dent J* 2011; 5: 96-104.
 224. Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials* 2001; 22(12): 1599-1606.
 225. Benke D, Olah A, Mahler H. Protein-chemical analysis of Bio-Oss bone substitute and evidence on its carbonate content. *Biomaterials* 2001; 22(9): 1005-1012.

226. Valentini P, Abensur D, Densari D, Graziani JN, Hammerle C. Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res* 1998; **9**(1): 59-64.
227. Valentini P1, Abensur D, Wenz B, Peetz M, Schenk R. Sinus grafting with porous bone mineral (Bio-Oss) for implant placement: A 5 year study on 15 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000; **20**(3): 245-253.
228. Zitzmann NU, Scharer P. Sinus elevation procedures in the resorbed posterior maxilla. Comparison of the crestal and lateral approaches. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; **85**(1): 8-17.
229. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro CA, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Impl Res* 2003; **14**: 369-372.
230. Barone A, Aldini NN, Fini M, Giardino R, Calvo Guirado JL, Covani U. Xenograft versus extraction alone for ridge preservation after tooth removal: a clinical and histomorphometric study. *J Periodontol* 2008; **79**: 1370-1377.
231. Hur JW, Yoon SJ, Ryu SY. Comparison of the bone healing capacity of autogenous bone, demineralized freeze dried bone allograft, and collagen sponge in repairing rabbit cranial defects. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 2012; **38**: 221-230.
232. Bulgin D, Irha E, Hodzic E, Nemec B. Autologous bone marrow derived mononuclear cells combined with β -tricalcium phosphate and absorbable atelocollagen for a treatment of aneurysmal bone cyst of the humerus in child. *Journal of Biomaterials Applications* 2012; **28**(3): 343-353.
233. Suh Hwal, Hwang YS, Lee JE, Han CD, Park JC. Behavior of osteoblasts on a type I atelocollagen grafted ozone oxidized poly L-lactic acid membrane. *Biomaterials* 2001; **22**: 219-230.
234. Hamanishi M, Nakasa T, Kamei N, Kazusa H, Kamei G, Ochi M. Treatment of cartilage defects by subchondral drilling combined with covering with atelocollagen membrane induces osteogenesis in a rat model. *J Orthop Sci* 2013; **18**: 627-635.

235. Missana LR, Jammal MV. Critical size defect regeneration by rhPTH-collagen membrane as a new tissue engineering tool. *J Biomed Mater Res Part A* 2014; **102**: 4358-4364.
236. Kagawa R, Kishino M, Sato S, Ishida K, Ogawa Y, Ikebe K, Oya K, Ishimoto T, Nakano T, Maeda Y, Komori T, Toyosawa S. Chronological histological changes during bone regeneration on a non-crosslinked atelocollagen matrix. *J Bone Miner Metab* 2012; **30**: 638-650.

ETİK KURUL KARARI



I.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2014/ 60

29 / 05 / 2014

Sayın: Prof. Dr. Hakkı TANYERİ
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Karar No : 2014/ 60

Baskıno : 16.05.2014

Sorumluluğunu üstlendiğimiz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Dok. Öğr. Mert ATIKLER**'e ait "Deneyisel Kemik Defektlerinde Atelokollajen Tipli İçerikli Liyofilize Ksenograft Materyalinin Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi" isimli projemiz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	44
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	Haziran 2014/ Mayıs 2015	

Prof. Dr. Alev AKTODUN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALDIRIK
İÜ HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Prof. Dr. Cenk ÇAKATAY
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yardımcı Doç. Dr. Altan ARMAÇ
Üye

Üzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak ÖLCÜN
Mak. Ybk. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	MERT	Soyadı	ATIKLER
Doğ.Yeri	Balıkesir	Doğ.Tar.	25.07.1987
Uyruğu	TC	TC Kim No	34162030278
Email	matikler@hotmail.com	Tel	05324172427

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2010
Lisans	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2010
Lise	Balıkesir Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	iyi	iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	iyi
Excel	iyi
Powerpoint	iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Saruhanoglu A, Oflluoglu D, Ondur İ, Atikler M, Tanyeri H. Apeksifikasyonu tamamlanmamış santral kesici dişin apikal bölümünde bulunan yabancı cisim: Olgu sunumu. *Türk Diş Hekimliği Dergisi*. 2012; 20(15): 110-114.

Saruhanoglu A, Ergun S, Ofluoğlu D, Atikler M, Tanyeri H. Parotis bezinde lokalize tükürük bezi taşının intra-oral yaklaşımla çıkarılması. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2012; 6: 21-23.

Saruhanoglu A, Atikler M, Ergun S, Ofluoğlu D, Tanyeri H. Comparison of two different labial salivary gland biopsy incision techniques: A randomized clinical trial. *Med Oral Patol Oral Cir Buccal* 2013; 1(18): 851-855.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Yüzme

Tango

