



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI BOYUTTAKİ KEMİK
ALLOGREFTLERİNİN YENİ KEMİK
OLUŞTURMA POTANSİYELLERİNİN
DENEYSEL HAYVAN MODELİNDE
İNCELENMESİ**

Can ERDAYANDI

UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. Cem ÜNGÖR

TRABZON- 2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI BOYUTTAKİ KEMİK
ALLOGREFTLERİNİN YENİ KEMİK
OLUŞTURMA POTANSİYELLERİNİN
DENEYSEL HAYVAN MODELİNDE
İNCELENMESİ**

Can ERDAYANDI
ORCID: 0000-0002-0532-6531

UZMANLIK TEZİ

Doç Dr. Cem ÜNGÖR
ORCID: 0000-0002-2899-2836

TRABZON-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

01.06.2022
Can ERDAYANDI

İthaf

*Bu uzmanlık tezimi, her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman
esirgemeyen eşime ve aileme ithaf ediyorum.*



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, bilgi ve birikimlerini bana aktarmasından mutluluk duyduğum sevgili hocam ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Cem ÜNGÖR'e,

Asistanlığım süresince üzerimde emeği geçen, bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan kıymetli hocalarım Doç. Dr. Yavuz Tolga KORKMAZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Onur YILMAZ'a, Dr. Öğr. Üyesi Efe Can SİVRİKAYA'ya,

Histopatoloji alanındaki bilgi ve birikimiyle yaptığı katkılarından dolayı Zeynep SAĞNAK YILMAZ'a

Uzmanlık eğitimim boyunca en büyük destekçim olan biricik eşim ve eş kıdemlim Gökçe Elif ERDAYANDI'ya

Her zaman destekçim olan, emeklerinin karşılığını ödeyemeyeceğim sevgili ailem Hüseyin ERDAYANDI, Leyla ERDAYANDI, Alphan Hüseyin OFLUOĞLU, Kevser OFLUOĞLU, Kamil ERDAYANDI ve Nurbala Göksu OFLUOĞLU'ya

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan zevk aldığım sevgili arkadaşlarım Bayram SÜLEYMANLI, Gültekin ONAT, Nejdet KOÇAK, Yüksel ÇAKMAK, Sercan YILMAZ, Cavid İHTİYAROV, Hüseyin YALÇINKAYA, Sezai ÇİFTÇİ, Sefa Merve ARIKAN, Fatih GİRGİN, Cavad BAHTİYARLI, Ayşenur SAKAL, Halenur VAR, Emil MAHAMMADLI, Emre ULUBAY, Helin Merve ÖZALP ve Ayşe BAYRAKTAR arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım bölümümüz hemşireleri ve çalışanlarına,

Tez çalışmamda sarf malzeme ve teçhizat temininde maddi desteğini esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinasyon birimine (Proje Kodu: TDH-2021-9692)

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Arş. Gör. Can ERDAYANDI

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER..... vi

TABLolar DİZİNİ..... viii

ŞEKİLLER DİZİNİ..... ix

RESİMLER DİZİNİ..... x

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ xi

ÖZET xii

ABSTRACT xiii

1. GİRİŞ VE AMAÇ..... 1

2. GENEL BİLGİLER 1

2.1. Kemik 1

2.1.1. Kemik Hücreleri 2

2.1.1.1. Osteoblastlar 2

2.1.1.2. Osteositler..... 2

2.1.1.3. Osteoklastlar 3

2.1.1.4. Osteoprogenitör Hücreler 4

2.1.1.5. Kemikteki Diğer Tip Hücreler..... 4

2.1.2. Kemik Matriksi..... 5

2.1.2.1. Organik Matriks..... 5

2.1.2.2. İnorganik Matriks 5

2.1.3. Kemik Zarları 6

2.1.3.1. Periosteum 6

2.1.3.2. Endosteum 7

2.1.4. Kemik Dokusu Tipleri 8

2.1.4.1. Primer Kemik Dokusu 8

2.1.4.2. Sekonder Kemik Dokusu..... 8

2.2. Kemikleşme (Ossifikasyon) 10

2.2.1. İntramembranöz Kemikleşme..... 10

2.2.2. Endokondral Kemikleşme 11

2.3. Kemik Büyümesi ve Remodelling.....	12
2.4. Kemik Dokusunun İyileşmesi	13
2.4.1. İnflamasyon Evresi	13
2.4.2. Onarım Evresi.....	13
2.4.3. Remodeling Evresi	14
2.5. Kemik Graft Materyalleri	14
2.5.1. İdeal Kemik Graft Materyalinin Özellikleri	16
2.5.2. Kemik Graftlerinin Başarı Kriterleri	17
2.5.3. Kemik Graftlerinin Sınıflandırılması.....	17
2.5.3.1. Otograftlar	19
2.5.3.2. Allograftlar	20
2.5.3.2.1. Demineralize Kemik Matriksi	22
2.5.3.2.2. Morselize ve Kancellöz Allograftlar	22
2.5.3.2.3. Osteokondral ve Kortikal Allograftlar.....	23
2.5.3.3. Ksenograftlar	23
2.5.3.4. Alloplastik Graftlar.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	25
3.3. Deneye Hazırlık.....	26
3.4. Cerrahi Prosedür	27
3.5. Ötenazi ve Histolojik Örneklerin Toplanması.....	31
3.6. Histopatolojik Değerlendirme	32
3.7. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	35
4.1. Histopatolojik Bulgular	35
4.2. Gruplara Ait İstatistiksel Bulgular.....	42
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇLAR.....	61
7. KAYNAKLAR.....	62
EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Kemiğin biyokimyasal yapısı	6
Tablo 2.	Histolojik skorlama sistemi	33
Tablo 3.	Gruplara ait histolojik bulguların toplam ham skorları	42
Tablo 4.	Grupların skor değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonucu	43
Tablo 5.	Grupların ikili karşılaştırılması	44
Tablo 6.	Osteoblast verisine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonucu	45
Tablo 7.	Osteoblast gruplarının ikili karşılaştırılması	46
Tablo 8.	Osteosit verisine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonucu	47
Tablo 9.	Osteoblast gruplarının ikili karşılaştırılması	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Kemiğin hücreleri	2
Şekil 2.	Periosteum ve endosteum	7
Şekil 3.	Primer ve sekonder kemiğin morfolojik yapısı	8
Şekil 4.	Yassı kemikte iç ve dış yüzeylerdeki kompakt kemik ve arasındaki süngerimsi kemiğin şematik görünümü	9
Şekil 5.	Kemiğin lameller yapısı, Havers ve Volkman kanalları	10
Şekil 6.	İntramembranöz kemikleşme	11
Şekil 7.	Endokondral kemik oluşumu	12
Şekil 8.	Kemiğin onarımı	14

RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Sayfa
Resim 1. Osteosit	3
Resim 2. Osteoklastlar	4
Resim 3. Endosteum	7
Resim 4. Ratların barındırılması	25
Resim 5. Ratların gruplandırılması	26
Resim 6. Oluşturulan defekt alanı	27
Resim 7. Defektin greftle doldurulması	28
Resim 8. Bölgenin tabakalı süturasyonu	28
Resim 9. Bölgenin primer kapatılması	29
Resim 10. Büyük partiküllü greft grubuna ait greftler	29
Resim 11. Küçük partiküllü greft grubuna ait greftler	30
Resim 12. Blok greft	30
Resim 13. Defekte göre uyumlanmış blok greft	31
Resim 14. Çıkarılan doku spesimeni	32
Resim 15. Kontrol grubundan alınan örnekte osteositler ve kemik iliği mesafesi	35
Resim 16. Küçük partiküllü greft grubunda allogreft yapıları çevresinde dev hücre reaksiyonu, fibrozis ve vaskülarizasyon	36
Resim 17. Küçük partiküllü greft grubunda allogreft yapısı çevresinde dev hücre reaksiyonu ve fibrozis	37
Resim 18. Büyük partiküllü greft grubunda matür kemik oluşumları yanı sıra immatür kemik yapıları	38
Resim 19. Sadece defekt oluşturulan grupta osteositlerden oluşan matür kemik yapısı ve polimorfonükleer lökositlerden oluşan akut inflamasyon, apse formasyonu	39
Resim 20. Blok greft grubuna ait örnekte allogreft etrafında immatür kemik yapıları ve eşlik eden fibrozis ile vaskülarizasyon	40
Resim 21. Blok greft grubuna ait örneğin diğer bir alanında matür kemik yapısı	41

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ALP	Alkalen Fosfataz
IL-1	İnterlökin-1
PGE-2	Prostaglandin E2
IGF-1	İnsüline benzer büyüme faktörü-1
nm	Nanometre
BMP	Kemik Morfojenik Proteini
HA	Hidroksiapatit
DKM	Demineralize Kemik Matriksi
DDKKA	Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti
DK	Dondurulmuş Kemik
DKKA	Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti
HIV	Human Immunodeficiency Virus

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece

Formüller

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroksiapatit Kristalleri
Ca	Kalsiyum
P	Fosfor
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Kalsiyum Fosfat

ÖZET

Farklı Boyuttaki Kemik Allogreftlerinin Yeni Kemik Oluşturma Potansiyellerinin Deneysel Hayvan Modelinde İncelenmesi

Kemik sert dokusunda önemli kayıpların olduğu durumlarda kemiğin iyileşmesi sekteye uğrayabilmektedir. Kemik iyileşmesini desteklemek amacıyla kemik greftleri oral ve maksillofasial cerrahide sıklıkla uygulanmaktadır. Kemik greftlerinin tür, boyut ve yapı bakımından çeşitli olması farklı etkinlik düzeylerini ortaya çıkarmaktadır. Bizde çalışmamızda farklı boyuttaki kemik allogreftlerinin yeni kemik oluşturma potansiyellerini deneysel hayvan modelinde incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda toplam 49 adet Wistar cinsi rat kullanıldı. Cerrahi işlem uygulanmayan grupta 5 adet hayvan vardı. Tibial defekt oluşturulan diğer 4 grubun her birinde 11 hayvan vardı. Defekt oluşturulan gruplar büyük partiküllü greft (3-5 mm), küçük partiküllü greft (0,5-1 mm) ve blok greft ile dolduruldu. Bir gruba ise kemik grefti koyulmadı. 8 hafta sonunda çıkarılan dokudan alınan kesitlerde yeni kemik oluşumu histopatolojik olarak incelendi.

Çalışma sonunda skorlamaya göre küçük partiküllü greft grubunda kemikleşme kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktü. Kontrol grubuna ait osteosit hücrelerinin sayısı diğer grupların osteosit sayılarından anlamlı derecede fazlaydı. Grupları sıraladığımızda skorlama ve osteosit hücre sayıları koreleydi. Büyük partiküllü greft grubuna ait osteoblast hücrelerinin sayısı diğer grupların osteoblast hücre sayısından anlamlı derecede fazlaydı. Yine, kontrol grubunun osteoblast sayısı küçük partiküllü greft, blok greft ve defekt grubunun osteoblast sayısından anlamlı derecede fazlaydı. Partikül boyutunun yeni kemik oluşumuna etkisini değerlendirebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Kemik allogrefti, Kemik defekti, Kemik iyileşmesi

ABSTRACT

In cases where there is significant loss of bone hard tissue, the healing of the bone may be interrupted. Bone grafts are frequently used in oral and maxillofacial surgery to support bone healing. The diversity of bone grafts in terms of type, size and structure reveals different levels of effectiveness.

A total of 49 Wistar rats were used in our study. There were 5 animals in the group that did not undergo surgery. There were 11 animals in each of the other 4 groups with tibial defect. Defect-formed groups were filled with large-particle graft (3-5 mm), small-particle graft (0,5-1 mm) and block graft. Bone graft was not placed in one group. New bone formation was examined histopathologically in sections taken from the tissue removed at the end of 8 weeks.

At the end of the study, according to the scoring, ossification in the small particle graft group was significantly lower than in the control group. The number of osteocytes of the control group was significantly higher than the osteocytes of the other groups. Scoring and osteocyte cell counts correlated when we ranked the groups. The number of osteoblast cells of the large particle graft group was significantly higher than the osteoblast cell number of the other groups. Again, the osteoblast count of the control group was significantly higher than the osteoblast count of the small particle graft, block graft and defect group. More studies are needed to evaluate the effect of particle size on new bone formation.

Key Words: Bone allograft, Bone defect, Bone healing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik greftleri, alveolar kemiğin rekonstrüksiyonu için oral ve maksillofasiyal cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca konjenital ve travmatik defektlerin tedavisi ile geniş tümör veya kistlerin çıkarılmasından sonra çenelerin rekonstrüksiyonu sıklıkla kemik greftleriyle gerçekleştirilmektedir (1,2). İdeal kemik grefti; osteojenik potansiyeli ile birlikte osteogenezi stimüle etmek için osteoindüktif ve kan damarları ile hücrelerin büyümesi için optimal koşulların oluşturulması için osteokondüktif olmalıdır (3).

Otojen kemik; bulunabilirliğinin sınırlı olmasına, ek cerrahi gereksinimine ve komplikasyonlarına rağmen ideal materyal olarak kabul edilmektedir (4–6). Otojen kemiğin bu dezavantajlarından dolayı kemiğin allojenik, ksenojenik ve alloplastik türleri daha sık kullanılmaktadır (7–9).

Kemik greftlerinin başarısını artırmaya yönelik çalışmalar güncel konulardandır. Kemik rejenerasyonu; kemik greft materyalinin kullanımı, boyutu, tipi ve defektin yapısı gibi birçok değişkenden etkilenmektedir (10). Greftin partikül boyutunun kemik iyileşme yanıtı üzerine etkili bir kriter olmasının en büyük nedenlerinden birisi olarak yüzey-hacim oranının farklı olması düşünülmektedir (11).

Bununla birlikte, optimal kemik rejenerasyonuna ulaşmak için en uygun kemik partikül boyutu hakkındaki mevcut bilgiler sınırlı görünmektedir. Bu çalışmanın amacı, farklı boyutlardaki kemik allogreftlerinin yeni kemik oluşturma potansiyellerinin değerlendirilmesidir.

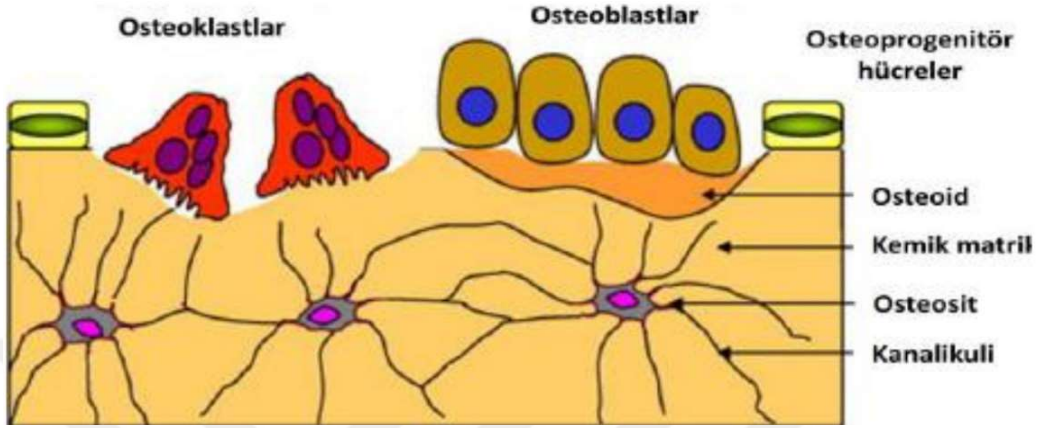
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik

Kemik; yapısı ve bileşimi itibarıyla vital, dinamik bir bağ dokusudur. Kemiğin iki ana işlevi vardır: Hareket ve koruma için mekanik bütünlüğün sağlanması ve mineral homeostazı ile ilişkili metabolik yollara katılım. Ayrıca kemik, hematopoezin birincil bölgesidir (12). Kemik dokusu dişte bulunan mine dokusundan sonra en sert ve kıkırdak dokudan sonra strese karşı en dayanıklı dokudur (13). Yaşam boyu remodelasyonu devam eden kemik metabolik, endokrinal ve mekanik değişimlere karşı duyarlı olan aktif bir dokudur (14). Kendi kendini tamir edebilme özelliği olan bu doku skar oluşturmada iyileşebilen tek dokudur (15).

2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik hücresel elemanları osteoblastlar, osteoklastlar, osteositler ve osteoprogenitör hücrelerdir.



Şekil 1. Kemik hücreleri(16)

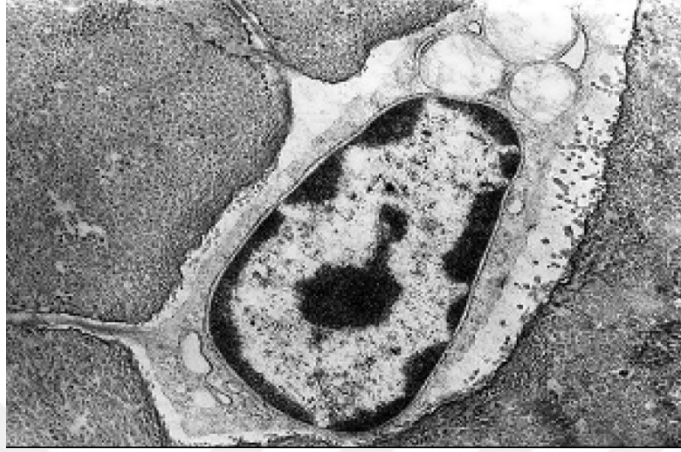
2.1.1.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar, ekstrasellüler matriksi üreten ve mineralizasyonundan sorumlu hücrelerdir. Osteoblastlar yağ ve enerji metabolizmasını düzenleyen osteokalsin salgılanması yoluyla endokrin aktiviteye de sahiptir (17). Osteoklastların farklılaşmasında rol alan bu hücreler yüksek oranda alkalen fosfataz(ALP) aktivitesi gösterirler (18,19). Kemik oluşumunun aktif olduğu bölgelerde periosteumun altında düzenli bir şekilde diziler halinde sıralanırlar (20). Osteoblastlar osteodin sentezlerler ve bunların etrafında kümeleşirler. Bu döneme osteoblast maturasyonu denir ve yaklaşık 10 gün sürer (13). Matriks sentezi, daha önceden sentezlenmiş matrikse temas eden yüzeylerde gerçekleşir. Böylece kalsifiye olmamış ve yeni oluşmuş matriks, daha önceden sentezlenmiş olan matriks ve osteoblastlar arasında yer alır. Bu duruma kemik apozisyonu denir. Zamanla kalsiyum tuzlarının bu bölgeye çökmesi ile kalsifikasyon tamamlanır (19,21).

2.1.1.2. Osteositler

Kemik ana hücreleri olarak bilinen hücrelerdir. Osteoblastların morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin farklılaşmasıyla oluşurlar. Uzantıları yardımıyla osteositler, diğer osteositlerle ve yüzeydeki osteoblastlarla bir iletişim kurarlar. Osteositler, yıkım durumunda etkilenen ilk hücre grubudur ve böyle bir durumda sürekli temas halinde oldukları osteoklastları uyarak kemik rezorpsiyonunu tetikleyen hücre rolünü üstlenirler (22).

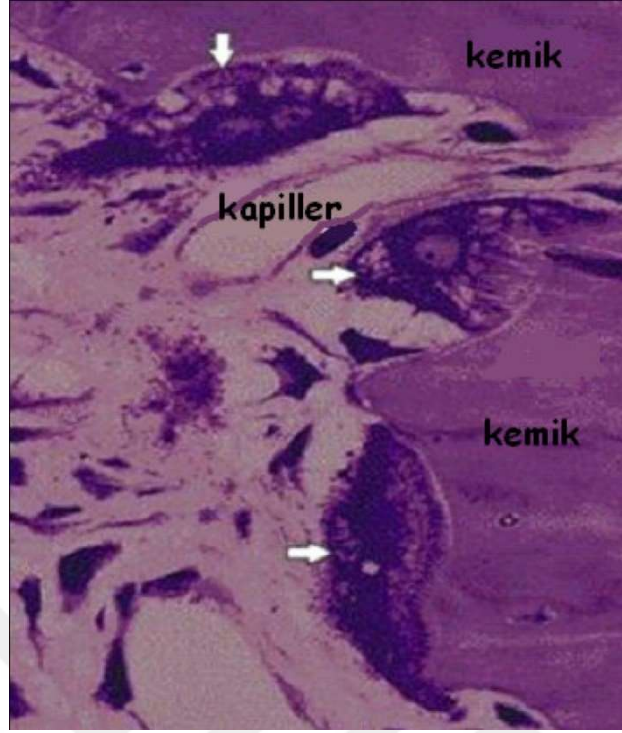
Kemikte devamlılığı sağlayan bu hücreler dokunun mekanik ve kimyasal değişikliklere hızla yanıt vermesini sağlar ve bu sayede adaptasyona yardımcı olurlar (13).



Resim 1. Osteosit(20)

2.1.1.3. Osteoklastlar

Kemik dokusunu ve kalsifiye kartilajı rezorbe eden ve kemik yıkımından sorumlu olan hücelere osteoklast adı verilir. Mononükleer progenitör hücrelerin kombinasyonu ile şekillenen osteoklastlar büyük ve çok çekirdekli hücrelerdir (23). Kemikte Howship lak nası şeklinde adlandırılan alanlarda bulunurlar. Hücrenin yapısında göze çarpan belirgin bir kutuplaşma vardır. Çekirdekler hücrenin düzgün sınırlı dış bölümünde yer alır. Kemiğin rezorbsiyonundan sorumlu olan bölümün ise daha girintili çıkıntılı sınırları vardır. Bu girintili çıkıntılı alana dantel kenar denir. Bu yapı osteoklastların karakteristik görüntüsünü oluşturur. Rezorbsiyonu içerdikleri proteolitik enzimler ve kollejenazla gerçekleştirirler. Sonuçta rezorbe olan dokuyu basit hareketler ile dantel kenardan hücre içine alırlar. Osteoklastlar, hematopoetik kökenli monositlerin birleşmesiyle oluşurlar (20). Osteoblast ve osteoklastların beraber fonksiyon görmesi kemiğin yapım-yıkım döngüsünü etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (24,25).



Resim 2. Osteoklastlar(20)

2.1.1.4. Osteoprogenitör Hücreler

Mezenkimal dokulardan köken alan kemik dokusunun temel hücrelerine osteoprogenitör hücreler denir. Periostun iç kısmında, endosteum ve Havers kanallarında inaktif olarak bulunan bu hücreler, uyarıldıkları takdirde osteoblastlara farklılaşır ve kemik yapımında görev alırlar. Bu uyarı, kemiğin doğal büyüme süreci, kemiğin kırılması veya hasarı olabilir (26).

2.1.1.5. Kemikteki Diğer Tip Hücreler

Makrofajlar, fibroblastik hücreler, mast hücreleri ve endotel hücreleri kemik dokusunda bulunan diğer hücre tipleridir. Makrofajlar, tam olarak sindirilmeyen matriksi uzaklaştırırlar. Bu işlevi kolajenaz ve lizozomal enzimleri kullanarak gerçekleştirirler. Bu hücreler aynı zamanda osteoprogenitör hücrelerin kopyalanmasını stimüle eden ve remodeling aşamasında yer alan IL-1(interlökin-1) ve PGE-2(prostaglandin E2)'nin kaynağıdır. Fibroblastik hücreler, IGF-1(insüline benzer büyüme faktörü-1) ve somatomedin üretir, lokal düzenleyicilerin üretiminde yer alır ve kemik gelişiminde önemli bir stimülasyon rolü üstlenirler. Mast hücreleri, rezorpsiyon süreçlerinden geçen ve rezorpsiyonu artıran heparin üreten kemik bölgelerinde görülür. Endotel hücreleri bazı

büyüme faktörlerini üretir. Ayrıca rezorpsiyonu uyarırlar ve intraosseöz kan akışını etkileyen en önemli prostasiklin kaynağıdır (27).

2.1.2. Kemik Matriksi

Kemiğin 2 temel bileşeni %30-35 oranında organik matriks, %65-70 oranında ise inorganik matrikstir (28).

2.1.2.1. Organik Matriks

Kemiğin organik matriksinin %90-96'sı kollajenlerden oluşurken %4-10'u ise kollajen yapıda olmayan diğer protein yapıdaki esas maddeden oluşmaktadır. Kollajen bağ dokusunun temel bileşenidir ve dokudan dokuya yapısal olarak farklılık gösterir. Organik kemik matriksinin temel yapısı tip I kollajenden oluşmaktadır. Bununla birlikte daha az miktarda tip III, V, XI ve XIII kollajen içermektedir. Ayrıca matrikste çeşitli sitokinler, glikozaminoglikanlar, büyüme faktörleri, proteoglikanlar; osteopontin, osteonektin, osteokalsin gibi glikoproteinler ve sialoproteinler bulunmaktadır. Osteopontin, hücrelerin matrikse bağlanmasını sağlar. Osteonektin kollajenleri ve hidroksiapatit(HA) kristallerini birbirine bağlar. Osteokalsin ise kan yolu ile gelen kalsiyumu yakalar ve osteoklastları stimüle eder. Kemiğin kollajeni yoğun, dirençli bir yapıya sahiptir ve az çözünür. Bu dirençli ve lifli yapı inorganik matriksin oluşabilmesi için gerekli ortamı sağlar (28).

2.1.2.2. İnorganik Matriks

Kemiğin inorganik matriksinin en önemli bileşeni HA kristalleridir($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Kristaller yaklaşık olarak enlemesine 25 ila 75 nm ve uzunlamasına 200 nm olmak üzere oldukça küçük boyutlardadır. Bu özellik kristallere yüzey-hacim oranı fazlalığı sağlar. Yüzeyde bulunan kristallerin etrafında sudan oluşan bir kabuk mevcuttur. Hidrasyon kabuğu denilen bu kabuk sayesinde, iyonlar hidrasyon kabuğu ile kristalin yüzey kısmı arasında serbest bir şekilde hareket edebilir (29). Kemiğin dayanıklılığı ve sertliği inorganik matriks tarafından sağlanır (28).

Tablo 1. Kemik biyokimyasal yapısı

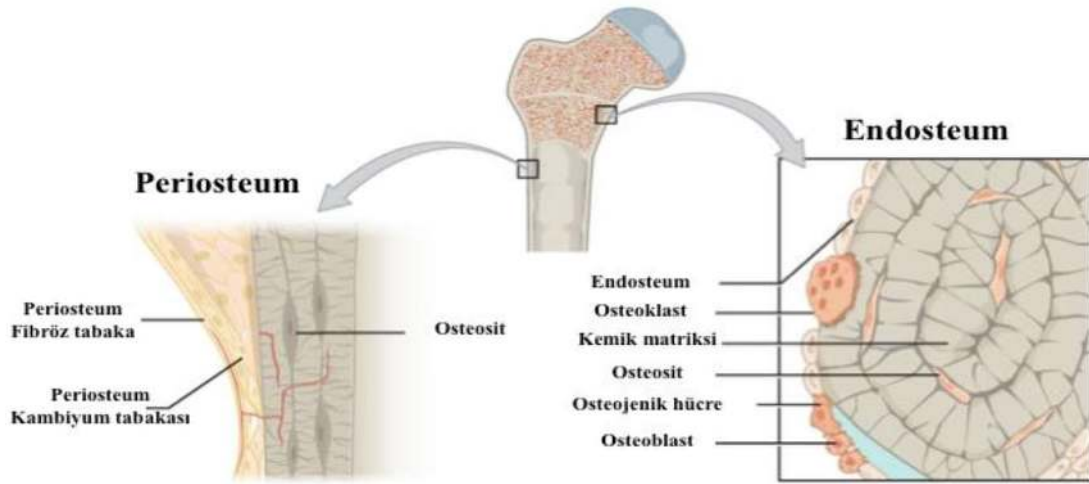
KEMİK DOKUSU		
%65 İnorganik yapı	%33 Organik matriks	%2 Su
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (magnezyum, karbonat flor, stronsiyum, sitrat)	%90 Kollajen protein	%10 Kollajen olmayan protein
Kemik kollajeni tip 1'dir (30). En sık rastlanılanları osteokalsin, osteonektin, osteopontindir (31,32).		

2.1.3. Kemik Zarları

Periosteum ve endosteum adı verilen kemik zarları kemik yapımından sorumlu hücreler ve bağ dokusu ile örtülüdürler (20).

2.1.3.1. Periosteum

Kemik dış yüzeyinde bulunmaktadır. Dış yüzeyinde fibroblastlardan ve kollejen liflerden oluşan fibröz tabaka, iç yüzeyinde ise osteojenik tabaka bulunur (33). Fibröz tabakada kan damarları, sempatik ve duyuusal sinir lifleri de bulunmaktadır (34). İç tabakada bulunan osteoprogenitör hücreler travmaya karşı sekonder olarak aktive olma yeteneğine sahiptir. Periosteumun esas görevleri kemik tamiri için destek sağlamak, kemiği beslemek, apozisyonel kemik büyümesini sağlamaktır (20). İçerisindeki kollajen lif demetleri sharpey liflerini oluşturur. Sharpey lifleri matriks içine doğru uzanarak periosteumla kemiği birbirlerine bağlar (35).



Şekil 2. Periosteum ve endosteum(36)

2.1.3.2. Endosteum

Kemiğin iç yüzeyinde bulunmaktadır. Kalın bir tabakadır. Osteoprogenitör hücrelere sahiptir. Bu hücreler osteoblastlara, kemik matriksini salgılayan hücrelere veya kemik iç yüzeyini döşeyen astar yapısına dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Kemik yapımının yanı sıra hematopoez yetenekleri de vardır (37).

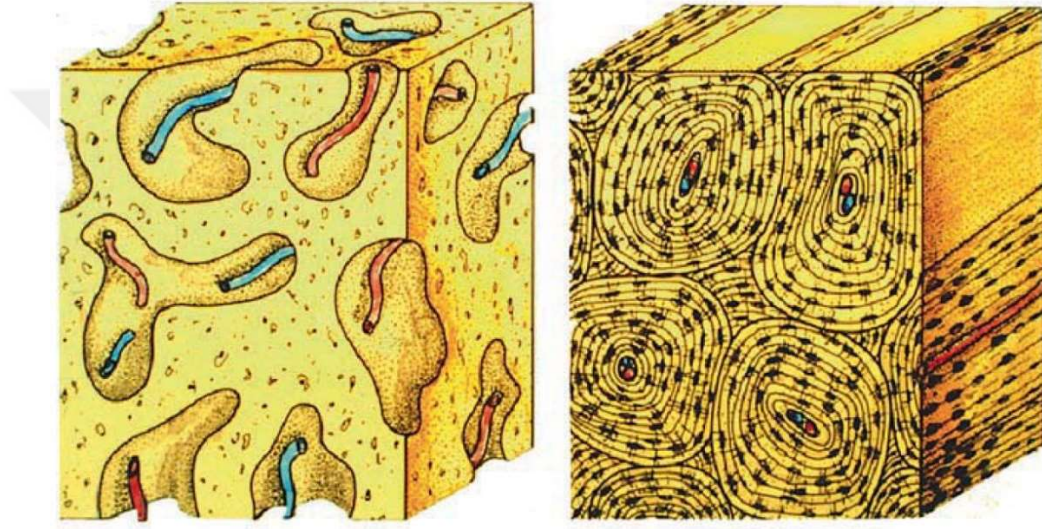


Resim 3. Endosteum (38)

2.1.4. Kemik Dokusu Tipleri

2.1.4.1. Primer Kemik Dokusu

İntrauterin hayatta bulunan ve ilk şekillenen kemik dokusudur. Olgunlaşmamış kemik dokusu olarak da isimlendirilir. Kırık iyileşmesi sırasında oluşan ilk kemik dokusudur. Kollajen lifleri düzensizdir. Mineral miktarı azdır. Yetişkinlerde primer kemik dokusu; alveol kemiğinde, kafatasının yassı kemiklerinin sutura bölgelerinde ve tendonla kemiğin birleşim bölgelerinde bulunur (39).

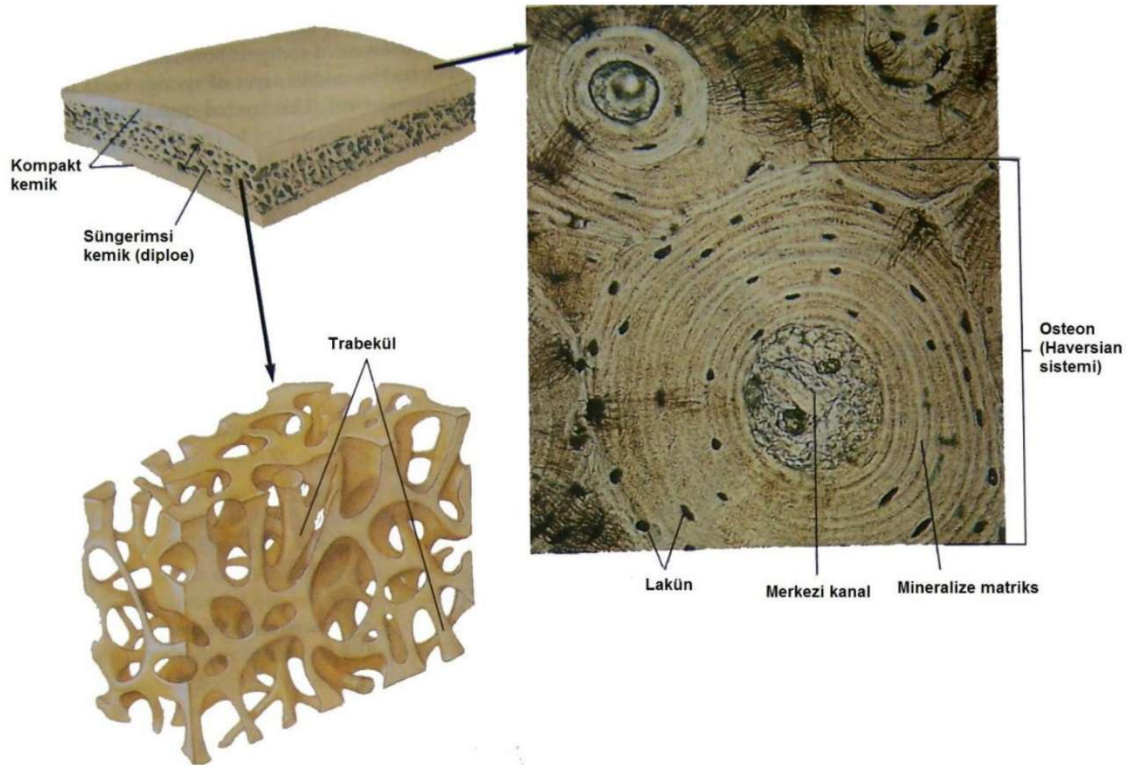


Şekil 3. Primer ve sekonder kemiğin morfolojik yapısı (40)

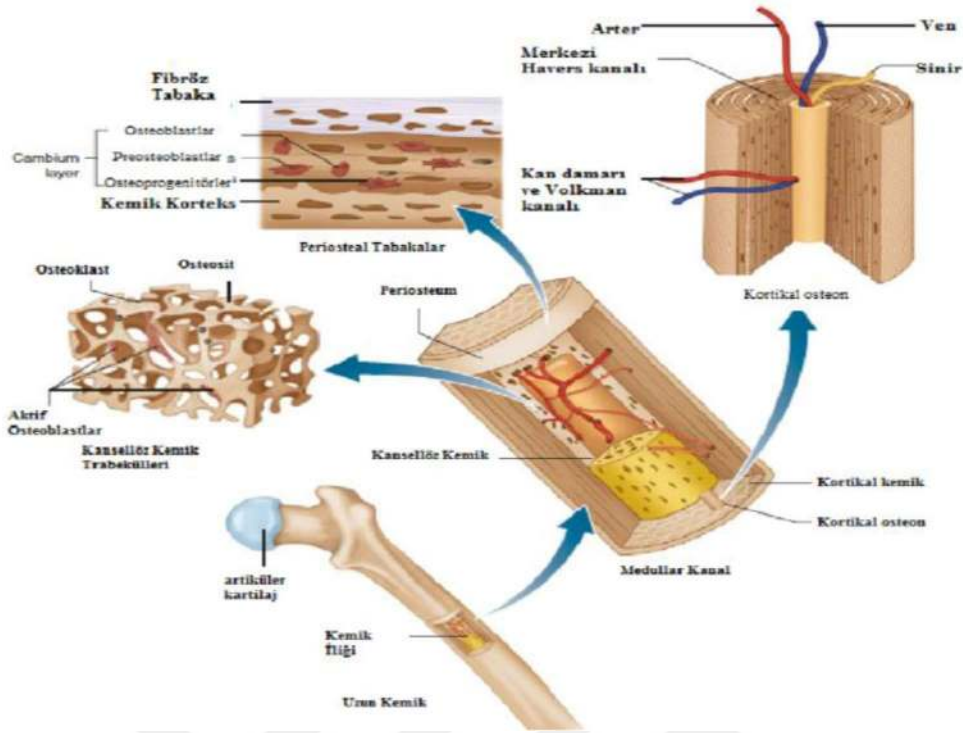
2.1.4.2. Sekonder Kemik Dokusu

Erişkinlerde bulunan olgun kemik türüdür. Sekonder kemik dokusunun kollajen lifleri düzenlidir. Nörovasküler yapıların çevresinde osteon(havers) denilen sistemi oluşturur (39). Havers sistemi iç dairesel, dış dairesel ve interstisyel lamellerden oluşur. İç dairesel lameller kemik iliği çevresinde, dış dairesel lameller ise periostun altında yerleşimlidir. Bu lameller arasında interstisyel lameller ve havers sisteminin diğer komponentleri yerleşmiştir (41). Sekonder kemik dokusu iki alt gruba sahiptir; Spongioz kemik ve kompakt kemik. Spongioz kemik yapısal olarak kompakt kemiğe benzese de süngerimsi bir yapıya sahiptir. Düşük yoğunluklu ve daha esnektir. Trabeküler yapısı nedeniyle kemik iliği ile doludur ve bu yüzden kanlanması yüksektir (37). Uzun ve kısa kemiklerin epifiz ve metafizlerinin iç kısımları ile yassı kemiklerin iç kısımları spongioz kemikten oluşmaktadır. Kompakt kemik

dokuya çıplak gözle bakıldığında homojen ve kompakt görünür. Kollajen lifleri düzenlidir. Mikroskopik incelemesinde kemiğin uzun eksenine paralel seyreden Havers kanalları ve bunları birbirine bağlayan Volkman kanallarından oluşur. Matriksi sertleşmiş kemik dokusunun beslenmesi bu kanallarda bulunan kan damarlarından çıkan besleyici maddelerin difüzyonu ile sağlanır. Volkman kanalları periosteum ve endosteum arasında yerleşmiştir. Nörovasküler yapıların endosteum ve periosteum arasındaki aynı zamanda haversian sistemle olan bağlantısını sağlar (42).



Şekil 4. Yassı kemikte iç ve dış yüzeylerdeki kompakt kemik ve arasındaki süngerimsi kemiğin şematik görünümü(43)



Şekil 5. Kemiğin lameller yapısı, Havers ve Volkman kanalları(44)

2.2. Kemikleşme (Ossifikasyon)

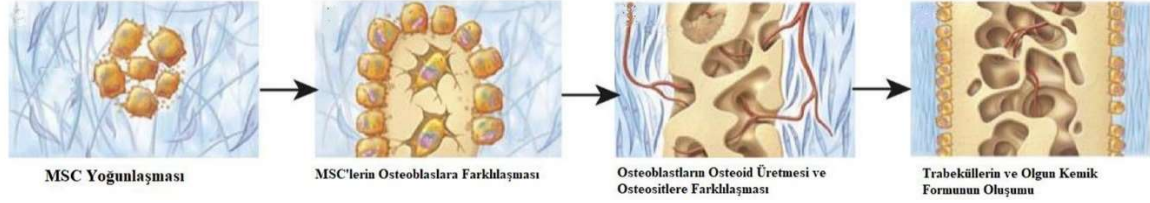
Kemiği üreten hücreler ve sonuçta oluşan aynı olsa da kemik üretiminde intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki farklı mekanizma vardır (45).

2.2.1. İntramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme; kemiğin, embriyonel dönemde bağ dokusu olan mezenkimal doku üzerinden oluşmasıdır. Mezenkimal hücreler hızla bölünerek osteoprogenitör hücrelere dönüşür; onlarda osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar kemik doku ara maddesini sentezler ve osteositlere dönüşürler. Osteositlerden salgılanan osteoid doku, kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) iyonları ALP enziminin etkisiyle birleşerek kalsiyum fosfatı $[Ca_3(PO_4)_2]$ oluşturur. Yassı kemiklerde bu şekilde kemikleşme görülür (46).

Kafatasında bulunan yassı kemiklerin hem iç hem de dış yüzeylerinde intramembranöz kemikleşme çok baskındır. Büyüme ve gelişme tamamlanıncaya kadar onlara paralel olmak zorunda olduğundan, kafatası kemikleri iç yüzeydeki osteoklastlar tarafından rezorbe olurken, dış yüzeyde oluşturulan yeni lameller yapılarla sürekli büyürler. Bu süre bittiğinde kompakt kemik oluşur. Bu sürekli gelişimin sonunda iç ve dış olmak üzere

iki kat kompakt kemik oluşur. Bunların arasındaki iç kısım süngerimsi bir yapı olarak kalır (20,22).

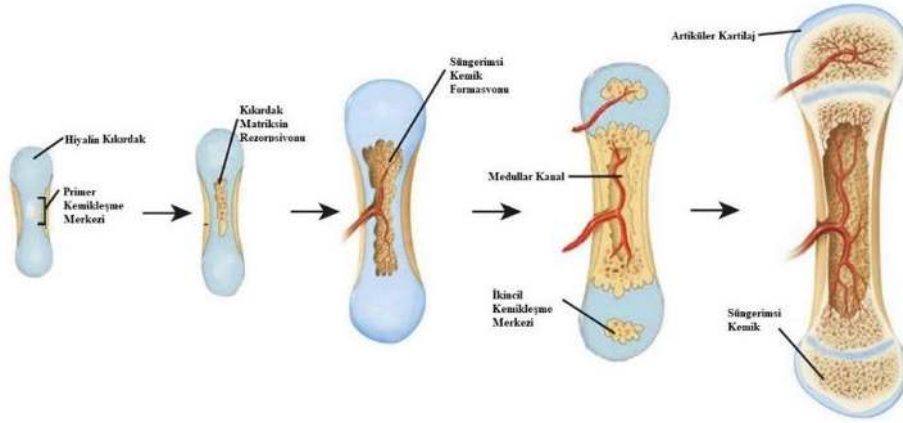


Şekil 6. İntramembranöz kemikleşme(47)

2.2.2. Endokondral Kemikleşme

Kemiğin bağ dokudan hiyalin kıkırdaka dönüşüp daha sonra oluşmasıdır. Enkondral kemikleşmede embriyonik mezenkimal hücreler, gelişmekte olan kemiğin yaklaşık boyut ve şeklinde kıkırdak bir kalıp oluşturmak için yoğunlaşırlar (48). İki farklı evreden oluşan endokondral ossifikasyon süreci, kondrositlerin hipertrofisi ve yıkımı ile başlar, mezenkimal hücrelerin kıkırdak dokusunu rezorpsiyonu ve osteoblastlara dönüşmesi ile devam eder (49).

Uzun ve kısa kemiklerde görülen bu kemikleşme modeli en çok uzun kemiklerde belirgindir. Basit bir hiyalin kıkırdak modeli ile başlayan süreç, kemik dokusunun oluşumu ile tamamlanır. Kemiğin yuvarlak uç kısımlarına epifiz, orta silindirik kısımlarına diyafiz adı verilir. Endokondral kemikleşme yaklaşımında diyafizden epifize yaklaştıkça epifiz bölgelerinde sekonder kemikleşme noktaları belirir. Bu eski ve yeni kemikleşme merkezleri arasında bir kıkırdak yapı kalır ve epifiz plağı olarak adlandırılır. Kemikleşme tamamlanana kadar, kıkırdak hücreleri epifiz plaklarından diyafizlere bölünür, çoğalır ve sürekli olarak kemik dokusu ile değiştirilir. Belli bir yaşa kadar kemiklerde görülen uzama bu şekilde olur. Büyüme ve gelişmenin tamamlanmasıyla birlikte epifiz plakları da kemikleşir (20).



Şekil 7. Endokondral kemik oluşumu(47)

2.3. Kemik Büyümesi ve Remodelling

Kemik büyümesi var olan kemiğin bir kısmının rezorpsiyonu aynı esnada diğer kısmının apozisyonu ile meydana gelir. Kemikte rezorpsiyon, apozisyonundan daha azdır ve bu durum kemik büyürken şeklini de korumuş olur.

Kemik remodelingi 5 aşamadan oluşmaktadır:

1. Aktivasyon: Osteoklastlar, osteoblast prekürsör hücreleriyle etkileşim sonucunda farklılaşır ve kemiği rezorbe etmek için remodelingin gerçekleşeceği alana göç ederler.
2. Rezorpsiyon: Aktive olan osteoklastlar kemiğin yüzeyine tutunur ve salgıladıkları enzimler ile kemik rezorpsiyonunu gerçekleştirirler.
3. Geri dönüşüm: Bu aşamada osteoklastların rezorpsiyonu sonucunda oluşan kavitede, kemik yüzeyindeki makrofaj benzeri tek çekirdekli hücrelerin aktivasyonu ile bir sement hattı oluşur. Sonrasında rezorpsiyon kavitelerine osteoblastlar yönlendirilir.
4. Formasyon: Bu aşamada mezenkimal prekürsörlerden farklılaşan osteoblastlar tarafından kemik sentezi meydana getirilir. Osteoblast aktivasyonu yaklaşık 2-3 ay boyunca sürer ve osteoid dokunun kalsifikasyonu meydana gelir. Kalsifikasyon tamamlandıktan sonra osteoblastların şekli yassı bir hal alır ve remodeling biter.
5. Dinlenme: Bu aşama oluşan kemik dokusunun remodeling siklusları arasındaki sürecini temsil eder (13).

2.4. Kemik Dokusunun İyileşmesi

Kırılmış veya zarar görmüş kemikte iyileşme birçok fizyolojik ve biyokimyasal süreci bünyesinde barındırır. Kemik dokusunun iyileşmesi 3 aşamada gerçekleşir:

1. İnflamasyon evresi
2. Onarım evresi
3. Remodelasyon evresi

Enfeksiyon varlığında, kan akımının yetersiz olduğu durumlarda ve herhangi bir kemik hastalığının varlığında iyileşme gecikebilmektedir. Ayrıca kortikal kemiğin mitotik aktivitesi spongioz kemiğinkinden daha azdır ve bu yüzden iyileşme daha yavaş olmaktadır (50).

2.4.1. İnflamasyon Evresi

Yaralanmanın ardından organizmanın ilk beş günde verdiği yanıtı denir. Kemiğe gelen etki sonucunda komşu kaslarda, damarlarda, yumuşak dokularda ve kemik zarlarında hasar meydana gelir. Damarlardaki hasar sonucunda oluşan yırtılma hematoma neden olur. İlk üç gün mezenkimal hücreler bölgeye göç eder. Bazofiller ve mast hücrelerinin histamin ve bradikinin gibi mediatörleri salmasıyla beraber damar geçirgenliği artar. Oluşan hematom kemik ve yumuşak doku arasındaki boşluğu doldurarak osteoblast ve kondroblastlara farklılaşan olgunlaşmamış hücrelerin bölgeye gelmesini sağlar. Üç-dört gün içerisinde hematom yerini granülasyon dokusuna bırakır. Granülasyon dokusu iskemiye neden olur. İskemi sonucu yıkım gerçekleşir. Oluşan nekrotik dokular fagositozla yok edilir (20).

2.4.2. Onarım Evresi

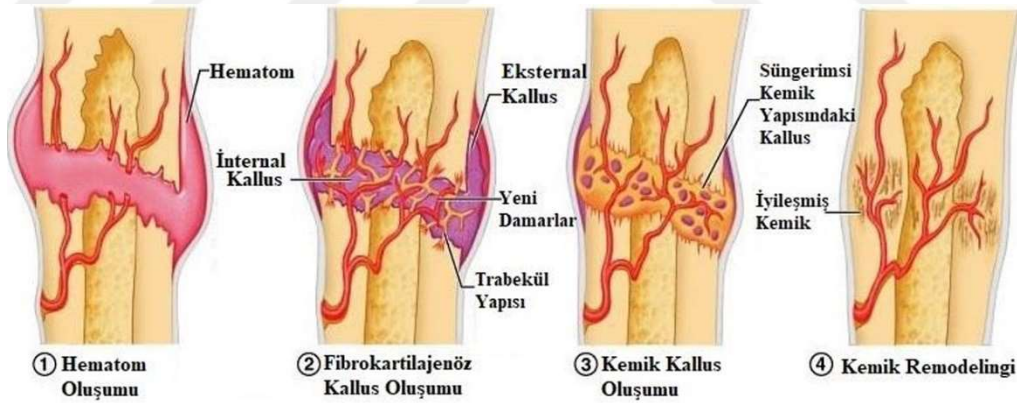
Hematom oluşumundan kallus oluşumuna kadar devam eden, yaklaşık olarak 4. ve 40. günler arasında oluşan evredir. Bölgedeki mezenkimal hücreler ilk önce fibroblastlara daha sonra osteoblastlara dönüşürler. Fibroblastlar kollajen lifleri ve kondroblastları oluştururlar. Osteoblastlar mineralize osteoit dokuyu oluştururlar. Fibroblastların ve kondroblastların sentezlediği kollajen ve glikozaminoglikanlarla birlikte bir hafta sonra matriks sentezi en üst düzeylere ulaşır. Daha sonra bu bölgede fibröz dokular, olgunlaşmamış kemik dokusu, kıkırdak dokusu kallusu meydana getirir. Kallus yeni kemik

oluşumunu sağlayacaktır. Kallusun oluşumu ve daha sonra osteoid dokunun mineralizasyonu 4-16 hafta sürer. Evre, periost ile bölgenin kapanmasıyla sona erer (51).

2.4.3. Remodeling Evresi

Remodeling, en uzun süren evredir. Bu dönemde kallus yerini düzenli lamellar kemiğe bırakır. Medullar kanal ve lamellar yapı yeniden oluşur (50).

Yapım safhasında fragmanlar arasında kalan boşluğun büyük olması yeniden yapılanmanın süresinin uzamasına sebep olur. Bu sürecin tamamlanmasıyla kallusun büyümesi yavaşlar; remodelingi ve olgunlaşması başlar (46,79,80). Olgun kallus tarafından dokudaki devamlılık yeniden sağlandığı ve ossifiye kallus köprüsü sayesinde fiziksel kuvvetler iletildiği sürece; kallus, stres çizgileri boyunca yeniden şekillenmeye başlar (81,82). Primer kemik düzensiz bir kemiktir ve lameller kemik değildir. Primer kemik oldukça uzun bir süreç olan remodeling fazının sonrasında düzgün olan lameller kemiğe dönüşür. Salgılanan kemik morfogenetik proteinleri (BMP) gibi faktörler remodeling döneminde olayları yönlendirirler. Osteoklastlar ise kemiği rezorbe ederler ve bu sayede bu sürece katılırlar (61-64).



Şekil 8. Kemiğin onarımı(52)

2.5. Kemik Greft Materyalleri

Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu amacıyla günümüzde biyolojik veya sentetik kökenli çok sayıda kemik greft materyali kullanılmaktadır. Ogmentasyon operasyonlarında kullanılan greft materyalleri çeşitlilik göstermektedir (53,54).

Kemik greft materyallerinin 3 ana biyolojik unsuru vardır. Bunlar osteojenite, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyondur (53,54).

Osteojenite; greftin, içerisinde bulunan canlı osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonu sonucunda osteosit ve osteoblast hücrelerine dönüşme yeteneğine sahip olmasıdır. Bu hücreler greftin osteojenik potansiyelinden sorumludurlar. Bu yolla kemik dokusunun bulunmadığı bölgelerde yeni kemik dokusu oluşumu sağlanır (53,54). Osteogenez mekanizmasına sahip tek greft materyali otojen kemik materyalleridir (55,56). Kemik greftleri; osteoblast oluşumuna uğrayabilen osteoprogenitör hücrelerin ya da osteoblastların canlılıklarını korumaları ile ve alıcı dokudaki osteoblast sayısını artırmaları ile osteogenezde artışı sağlar (57).

Osteoindüksiyonda; yerleştirilen kemik grefti çevredeki kemik dokularında bulunan osteoblastları etkiler ve osteoblastlar greftin içine doğru yer değiştirir. Sonuçta yeni kemik dokusu oluşur (53,54). İstenilen bölgede kemik oluşumunu hızlandırmak için kullanılabildiği gibi kemiğin olmadığı veya kemiğin büyütölmek istendiğı bölgelere de uygulanabilir (56,58,59).

Osteokondüksiyon, alıcı kemikten vasköler ve perivasköler yapıların grefte ulaşması için greftin çatı görevi göre yeni kemik oluşumunu destekleyebilmesidir. Osteokondüksiyon, kemik tamirinde en çok bilinen mekanizmadır. Kemik grefti ve alloplastik materyalin; sağlam kemiğin veya hücrelerin üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Osteokondüksiyon, kortikal kemikte veya kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda yerleştirilen allojenik kemiğin büyük segmentlerinde oluşur. Sonuçta bu materyaller, pasif bir çatı görevi üstlenirler (53,54). Osteokondüktif greftlerin yapısında osteogenezi uyuracak bir mekanizma olmadığından, yumuşak doku gibi osteoblastlardan yoksun bir dokuya uygulanırsa o bölgede kemik gelişimi gözlenemez. Bu nedenle alloplastik greftler gibi sentetik greftler sadece osteokondüktif özelliklere sahiptir (58).

Kemik grefti uygulamalarında greft materyali ve alıcı saha, kemik dokusunun oluşumunda birbirlerine yardımcı olurlar. Kemik transplantasyonlarında sonuçların başarılı olabilmesi için, alıcı sahadaki fibroblastik hücre çoğalması ve vaskölarite ile beraber aynı zamanda transplante edilecek kemiğin osteojenik kalite ve kantitesi de önemlidir (60).

Otojen dokuların transplantasyonları bazı cerrahi ve teknik problemler taşırsalar da immunolojik komplikasyona yol açmazlar. Ancak oral cerrahide kullanılan kemiğin allogreft ve ksenogreftlerde reddedilme fenomeni önemlidir. Hücresel düzeyde, greftin alıcı

tarafından yabancı cisim olarak algılanması, alıcıda greftin yok edilmesi şeklinde bir yanıtı yol açabilir. Bu olayı T lenfositleri gerçekleştirir. Bu yanıt hemen ortaya çıkmamaktadır. Latent periyodun uzunluğu alıcı ile verici arasındaki antijenik özelliklerin benzerliği ile ilgilidir (61).

Greftlerdeki immun cevabı önlemek için greftin yapısındaki antijenik özellikleri değiştirilerek, alıcının normal immun defansını stimüle edemeyecek hale getirilir. Greftin istenilen duruma getirilmesi için kaynatma, deproteinize etme, dondurma, dondurup kurutma, radyasyon uygulama yöntemleri geliştirilmiştir. Dondurma ve dondurup kurutma uygulamalarında immun cevaba sebep olan hücreler canlılıklarını yitirirken, matriks içeriği korunur (60).

2.5.1. İdeal Kemik Greft Materyalinin Özellikleri

- Greft materyali toksik olmamalı,
- Antijenik olmamalı,
- İritan olmamalı,
- Minimal enflamatuar reaksiyona sebep olmalı,
- Karsinojenik olmamalı,
- Biyomekanik olarak dokuların fiziksel özelliklerine uyum gösterebilmeli,
- Biokorozyona karşı dirençli olmalı,
- Kolay uygulanabilmeli ve şekillendirilebilmeli,
- Kolay elde edilebilmeli veya üretilibilmeli,
- Uygulandıkları bölgede osteojenik özellik göstermeli,
- Çevre dokular ile uyumları iyi olmalı,
- Bioadeziv olmalı,
- Fonksiyonel kuvvetlere karşı koyabilecek güç ve esneklikte olmalı,
- Çabuk iyileşmeli,
- Ucuz olmalı,
- Enfeksiyona dirençli olmalıdır (3).

2.5.2. Kemik Greftlerinin Başarı Kriterleri

Kemik dokusunda bulunan hücrelerden sadece osteoblastlar yeni kemik oluşumunu sağlayabilir. Olgunlaşmamış mezenşimal hücrelerin osteoblastlara dönüşmesi ve osteoblastların matriks oluşturması greftlerin başarılı olabilmesi için gereklidir (62). Eğer alıcı bölgede osteoblast yoksa başka bir yerden taşınmalıdır (63,64). Bu mümkün değilse komşu kemikten veya periosttan kan yoluyla osteoblastlara dönüşmek amacıyla mezenşimal hücrelerin alıcı bölgeye gelmesi sağlanmalıdır. Alıcı bölgede osteoblastların yetersiz sayıda olması greftin başarısızlığına neden olur (65,66). Alıcı bölgede lokal doku direncini azaltacak enfeksiyon, skar, yabancı cisim gibi sebepler olmamalıdır. Alıcı bölgenin vaskülarizasyonu iyi olmalıdır. Dokunun ve greftin kanlanması yetersiz olduğunda hücreler canlı kalamayacağı için rejeneratif iyileşme gözlenmez. Bunun ötesinde yetersiz kanlanma durumunda fibrin pıhtı da oluşmaz (67,68). Fibrin pıhtı mezenşimal hücrelerin göçü, bölünmesi ve osteoblastlara dönüşmesi için ilk matriksi hazırlar (66,69).

Greft uygulanan bölgeye yeterli şekilde fikse edilmelidir. Greftin üzerinin primer kapatılması dokunun devamlılığını sağlayarak kanlanmayı arttıracaktır. Ayrıca greft tükürükteki enzimlerden, dış kuvvetlerden ve oral kavitedeki diğer elemanlardan korunmuş olacaktır. Dolayısıyla defektin üzeri gergin olmadan primer sütürasyonla kapatılmalı ve hematoma oluşmamalıdır (70).

2.5.3. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması

Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftlenen bir sınıflaması aşağıdaki gibidir (71,72):

1-Otogreftler (Otojen kemik grefti)

- a. Kortikal kemik
- b. Kansellöz kemik
- c. Kortiko-kansellöz kemik

2-Allogreftler

- a. Taze dondurulmuş kemik
 - b. Dondurulmuş kurutulmuş kemik
 - c. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik
- İzogreft: Taze kansellöz kemik iligi

3-Ksenogreftler (Heterojen kemik grefti)

- a. Demineralize edilmiş kemik

b. Proteini çıkarılmış kemik

4- Biyomateryaller (Alloplastlar)

I. Doku kaynaklılar

- a. Dentin
- b. Sement
- c. Kıkırdak
- d. Sklera
- e. Duramater vs.

II. Metaller

III. Jelatin film

IV. Polimerler

- a. Polimetilmetakrilat
- b. Proplast
- c. Polyaltioxanone
- d. Poliamide Metch
- e. Polyglactin 910
- f. Sert doku replasmanı
- g. Polietilenler
- h. Polipropilen
- ı. Silikonlar
- j. Politetrafluoroetilen (Teflon)

V. Kalsiyum Sülfat

VI. Kalsiyum Karbonat

VII. Kalsiyum Fosfatlar

- a. Rezorbe olanlar
- b. Rezorbe olmayanlar

Jablanski ve Boyne ise greft materyallerinin sınıflandırılmasını immunolojik orijinlerine göre yapmıştır (73):

1. Otojen Greftler (Otogreftler)
2. Homojen Greftler (Homogreftler)
 - a. Allojen Greftler (Allogreftler)
 - b. İzogen Greftler (İzogreftler)
3. Heterojen Greftler (Heterogreftler, Ksenogreftler)

Kemiğin inorganik yapısına benzer, yapay yoldan elde edilen sentetik greft materyalleri (alloplastik greftler) de vardır. Bu alloplastik greft materyalleri kullanımlarının kolay olması nedeniyle diğer greft materyallerine alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Greftleme konusunda gerçekleştirilen ilerlemeler ile çenelerdeki kemik defektlerinin onarımında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu greftler kendilerine öz avantaj ve dezavantajlara sahiptir (74).

2.5.3.1. Otogreftler

Bu greftler aynı bireyden elde edilen greft materyalleridir. “Altın standart” olarak kabul edilmektedir. Osteojenik hücrelerin yanı sıra iyileşme için gerekli olan osteoindüktif ve osteokondüktif elementleri de sağlar. Diğer greft materyallerinin aksine, canlı hücreler bulundurmaktadır. Genellikle tip I kollajenden oluşan matriks proteinleri, sialoprotein, osteopontin, osteokalsin, osteonektin, fibronektin ve BMP de içermektedir. En büyük avantajlarından birisi immünolojik olarak uyumlu olmalarıdır (75,76).

Ağız içi otojen greftlerin elde edildiği yerler; simfiz, ramus, tüber, ekzostozlar veya cerrahi hazırlık bölgeleridir. Anatomik sınırlamalar nedeniyle ağız dışı bölgelerden greft alınmasını gerektiren bazı durumlar ortaya çıkabilir. Bu bölgeler; iliak krest, tibia, posterior ilium, kaburga ve kafatasıdır. Otojen greftler genellikle kortikal kemik, trabeküler kemik ve kemik iliğini hep beraber içerecek şekilde alınır. Bu greftler, saklama şartlarına göre 2 saate kadar canlılığını koruyabilir. Greftleme işleminden önce kullanılacak olan greft materyali eğer kuru bir ortamda saklandıysa 30 dakika içinde greftin içerdiği hücreler canlılığını yitirmektedir (77).

Otojen kemik grefti altın standart olarak kabul edilse de diğer kemik greftleriyle karşılaştırıldığında, cerrahi verici bölgedeki sınırlamalar ve tedavinin invaziv olması, alınan miktarın kısıtlı olması gibi noktalarda hastalar için durumun zorlaşması nedeniyle dezavantajlıdır. Ağız dışı otojen greft alımı, hematoma oluşumu, sinir yaralanması, fitik oluşumu, enfeksiyon, arter yaralanması, kırık, kozmetik kusurlar ve bazen kronik ağrı dahil olmak üzere komplikasyonların %8.5-20'si ile ilişkili olabilir (53).

Otojen greftler, elde edilmesi ya da uygulama prosedürü esnasında kontamine edilmedikçe biyouyumlu ve güvenlidirler. Otojen greftler hidrofilik olduklarından dolayı kan ya da serum fizyolojik ile ıslatılarak uygulanır. Bütün otojen greftler rezorbe olma potansiyeline sahiptirler. Rezorpsiyon miktarını, hastaya bağlı sistemik, lokal faktörler ve greftin alım yöntemi etkiler (78). Farklı alım yöntemleri, greft partikül morfolojilerinin farklı

olmasına ve büyüme faktörleri ya da canlı hücre içeriğinin etkilenmesine neden olur (79). Herhangi bir işlem görmeyen kansellöz kemikte, kortikal kemiğe göre daha fazla osteogenez sağlayan hücre bulunur, bu durum maksillar kansellöz kemiğin mandibular kortikal kemikten daha fazla hücre içerdiğini ortaya koymaktadır (80).

2.5.3.2. Allogreftler

Allogreftler, biyolojik açıdan aynı tür bireylerden alınan greft materyalleridir. Allogreftler, canlı bireylerden veya kadavralardan elde edilebilirler ve maksillofasiyal ve ortopedik cerrahide sıklıkla kullanılırlar. Allogreftler de otogreftlerle benzer faktörlerden etkilenirler. Standart oluşturmak için donör taraması ve alınan materyalin makroskobik olarak değerlendirilmesinin yapılması gerekir (81).

Allogreftlerin başarıları otojen kemik greftlere göre daha düşüktür. Osteojenik özellikleri bulunmaz. Alıcı bölge ile kaynaşma süreleri daha uzundur. Ayrıca az da olsa bakteriyel ve viral hastalık taşıma olasılıkları vardır ve immünolojik reaksiyon oluşturabilirler. Ek olarak allogreftin kalitesi verici bireye ve bölgeye göre değişiklik gösterir (82).

Allogreftler greftin yapısına göre kortikal, kansellöz, kortikokansellöz ve osteokondral olarak sınıflandırılırlar. Hazırlaması aşamasında; taze olarak uygulanma, dondurulma, dondurulup-kurutulma, kimyasal koruyucular uygulanması, deproteinize edilme ve çözücüler ile dehidrate edilme gibi yöntemlerle uygulanabilir hale getirilirler. Allogreftlerin canlı hücre içermelerinden dolayı immün reaksiyon oluşturma ihtimallerinin yüksek olması, taze şekilde uygulanmasını engeller. Bu nedenle, allogreftlerin uygulanması için içerdikleri canlı hücrelerin uzaklaştırılması gerekmektedir (81).

Partikül kemik allogreftleri, mineralize veya demineralize olarak sağlanır. Demineralizasyona uğramış allojenik kemik, demineralize kemik matriksi(DKM) veya demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DDKKA) olarak adlandırılır. DKM, kas gibi ortotopik olmayan bölgelerde kemik oluşumunu artırır ve osteoindüktif olarak kabul edilir. Demineralize edilmiş kemiğin, BMP'lerle temasından dolayı maksimum osteoindüktif potansiyel sağladığı gösterilmiştir (83).

Allogreftlerde dondurma -70 °C'de derin dondurma ve -196 °C'de sıvı azot ile dondurma olarak ikiye ayrılır. Dondurma işlemi ile allogreftlerde, osteoindüktif ve osteokondüktif özellikler kaybolmaz. Allogreftlere, gliserinli, civalı veya formaldehitli

bileşikler kimyasal koruyucu olarak kullanılır. Çözücü kimyasallar ile dehidratasyon işlemi elde edilir. Greftler çözücüler ile dehidrate edilirken hidrojen peroksit ve aseton uygulanır. Enfeksiyon riski hidrojen peroksit ile düşürülürken, dokudaki yağlar ve suyun uzaklaştırılması aseton ile sağlanır (82).

Allogreftlerin hazırlama yöntemlerine göre; taze allogreft, dondurulmuş ve kurutulmuş kemik allogrefti(DKKA), demineralize dondurulmuş ve kurutulmuş kemik allogrefti(DDKKA) gibi çeşitleri vardır (71,72).

Taze allogreftler, canlı donörden alınırlar ve olabildiğince az işlem görerek alıcı bölgeye aktarılırlar. Greftte bulunan kemik iliği ve periost hücreleri büyük oranda antijenik olduğundan grefti reddetme ihtimali yaklaşık olarak %50 civarındadır. Hastalık taşıma ihtimalleri de yüksek olduğundan genellikle kullanılmazlar (84,85). Bu gibi dezavantajların üstesinden gelebilmek amacıyla çeşitli yollarla greft sterilize edilmeye çalışılmıştır. Bu şekilde de antijenik özelliklerinin azalması sağlanmaya çalışılmıştır (86).

Dondurulmuş kurutulmuş kemik (DKKA) greftler, DK greftlerin dehidrate ve liyofilize edilmesi sonucu elde edilirler. Bu işlemler sonucu proteinlerinin yapısı bozulur ve immünojenik yanıt oluşturma riskleri azalır. Osteoindüktif özellikleri kaybolur. Sadece osteokondüktif özellikleri kalır. Kollajen lifler üzerinde mikro çatlakların oluşmasına neden olduğu için greftin mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkiler (87).

Demineralize edilerek dondurulmuş ve kurutulmuş (DDKKA) greftler ise DK greftlere, asit uygulanması sonrası ısı, dehidratasyon, liyofilizasyon, gama ışınları ve etilen oksit uygulanması ile elde edilir. Klinik olarak sadece osteokondüktif etki gösterir. DKKA greftlerde, kemiğin inorganik yapısının çıkarılmasından dolayı yapısal sağlamlığında çok fazla kayıp meydana gelir. Bu kayıp nedeni ile yük taşıyan alıcı sahalarda yeterli desteği sağlayamayacağı unutulmamalıdır (88).

Allogreftler otojen greftler gibi partikül veya bloklar halinde üretilir. Allogreftlerin genel avantajı, otojen kemik ile benzer mekanik özellikleri sağlaması, kollajen matriks ve doğal proteinleri içermesidir. Kullanım özellikleri otojen kemik ile karşılaştırıldığında, greftleme için gerekli olan cerrahi sürenin azalması ve kullanılabilirliklerinin artması avantajlarıdır. Olası hastalık bulaşma riski olması ise dezavantajıdır. Allogreftlerin kemik artırımındaki başarıları otojen kemik greftlere göre daha düşüktür. Osteojenik özellikleri bulunmaz ve alıcı bölge ile uyum sağlama süreleri daha uzundur (77).

2.5.3.2.1. Demineralize Kemik Matriksi

Demineralize kemik matriksi, farklı derecelerdeki osteoindüktif etkileri ve osteokondüktif etkileriyle kemikteki kayıpları doldurmak için kullanılır. DKM çabukça revaskülerize olur. Otolog kemik iliğinin uygulanması için iyi bir taşıyıcıdır. DKM'nin elde edilmesi Urist ve arkadaşlarının bulduğu, daha sonradan Reddi ve Huggins'in geliştirdiği yöntemle olmaktadır. Bu yöntemde allojen kemik ezilir ve ardından üç saat hidroklorik asitte demineralize edilir. Etanol, steril su ve etil eter ile yıkanarak kalan asitler temizlenir. DKM'nin elde etme aşamalarına göre farklılıklar vardır. Ekstrasellüler matrikste bulunan büyüme faktörleri ve proteinler ile DKM'nin biyolojik aktivitesi sağlanır. DKM'nin osteoindüktif kapasitesi; kemiğin işlenmesine, sterilizasyon yöntemine, saklama şekline ve donöre göre farklı olabilir. Dondurulmuş-kurutulmuş toz, jel, ezilmiş granüller veya macun şeklinde farklı formları vardır (59). Bu formlar gliserol, kalsiyum sülfat, hyaluronik asit ve jelatin ile karıştırmayla elde edilebilir. Aşırı doz DKM uygulamasından sonra nefrotoksik ve nörotoksik etkiler görülebilir (89,90). Bu nedenle gliserol karıştırılarak oluşturulan DKM kullanılacağına yüksek dozda kullanılmamaya ve renal fonksiyon bozukluğu olan hastalarda kullanılmamaya dikkat edilmelidir. Büyük kemik kayıplarında demineralize kemik matriksi, kansellöz greftle karıştırılarak otolog kemik greftininin arttırılması ve yoğunlaştırılması sağlanmış olur. Aynı zamanda otolog kemik greftlerinin uygulanamadığı hastalarda bir alternatiftir. Perkütan olarak demineralize kemik matriksi ve otolog kemik iliğinin kullanımı bu tip olgularda değerlendirilmelidir (59). Hem osteokondüktif hem de osteoindüktif matriksle beraber osteoprogenitör hücrelerin anında beslenmesini sağlamak için otolog kemik iliği ile kompozit greft olarak demineralize kemik matriksi kullanılabilir. DKM bazı dezavantajları da vardır. Sonuçta allojen bir madde olan DKM, HIV(Human immunodeficiency virüs) bulaştırma potansiyeli taşır. Ancak alıcı seçimi esnasında yapılan değerlendirmeler ve dekalsifikasyon işlemi sırasında virüsün inaktive olması nedeniyle bu risk çok düşüktür (59).

2.5.3.2.2. Morselize ve Kansellöz Allogreftler

Morselize ve kansellöz allogreftler osteokondüktiftir ve esas olarak kompresyonda olmak üzere bir miktar mekanik destek sağlar. Çoğunlukla dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve vakumla paketlenme ile korunurlar ve otolog süngerimsi kemiğine benzer aşamalardan geçerler. Küretaj sonrası kemik kistleri gibi kemik defektlerini doldurmak için kullanılabilir. Morselize allogreft ayrıca otojen kansellöz kemiği

güçlendirmek ve otolog kemik kaynağı sınırlı olduğunda daha büyük defektleri doldurmak için de yararlıdır. Bulaşıcı hastalık bulaşma riski çok azdır, ancak kullanımı, iliak krest kemiğinin alınması ihtiyacını ve bununla ilişkili morbiditeyi ortadan kaldıracaktır (59).

2.5.3.2.3. Osteokondral ve Kortikal Allogreftler

Osteokondral ve kortikal allogreftler, büyük kemik veya eklem kayıplarından sonra rekonstrüksiyon için pelvis, kaburgalar, femur, tibia ve fibula gibi iskeletin çeşitli bölgelerinden toplanır. Tüm kemik, eklem parçaları veya mevcut kemiği desteklemek için kortikal destek şeklinde çeşitleri mevcuttur. Kortikal kemiği stabilize etmek, yeniden oluşturmak ve kemik kusurlarını doldurmak için kullanılırlar. Bu greftler osteokondüktiftir ve anında yapısal destek sağlar. Derin dondurularak veya dondurularak kurutularak korunurlar. Derin dondurulmuş allogreftler malzeme özelliklerini korur ve çözöldükten hemen sonra implante edilebilirken, dondurularak kurutulmuş allogreftler, implantasyondan önce rehidrasyondan sonra bile torsiyon ve bükölme açısından kırılğan ve zayıf olabilir. Yine, osteokondral ve kortikal allogreftler kullanıldığında bulaşıcı hastalık bulaşması bir risktir. Otolog greft alma prosedürlerinden kaçınmak isteyen hastalarda yapısal destek gerektiren rekonstrüktif prosedürler için kortikal allogreftlerin kullanılabilir (59).

2.5.3.3. Ksenogreftler

İnsan dışı yani farklı türler arasında nakledilen greftlerdir. Sınırlı rezorptif potansiyele sahiptir. Ksenogreftler, kemik defektlerini onarmak, bir iskelet görevi görmek için çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır (91).

Klinik uygulamada sığır kemiği ve doğal mercan olmak üzere iki ksenogreft türü vardır. Doğal kaynaklı kemik greftleri, sentetik greftlere kıyasla daha fazla osteokondüktivite sergiler. Ksenogreftler, sınırsız miktarda materyal tedariki ve kemik elde etmekte fazladan işlem ihtiyacını ortadan kaldırdıkları için iyi alternatiflerdir (92).

Isı ve kimyasal işleme, osteojenik bileşenlerin çoğunu kemikten uzaklaştırmakla beraber potansiyel hastalık bulaşma riskini tamamen ortadan kaldırmaz (sığır süngerimsi ensefalopati) (93).

İnorganik sığır kemik greftinin, mineral bileşimi, mikro gözenekli yapıya sahip, doğal olarak türetilmiş ve deproteinize edilmiş bir mineralidir. Bu greft malzemesinin, insanda, klinik ataçman seviyesinde ve kemik içi defektlerde sert doku artırımında olumlu sonuçları olmuştur (92).

Ksenogreftler sığırdan elde edilebildiği gibi, at, domuz gibi diğer hayvan kaynaklarından da elde edilebilir. Domuz kemiği grefti, ağırlıklı olarak Ca ile P'tan oluşan gözenekli bir inorganik kemik greft materyalidir. İnorganik kemik mineral matriksi, biyolojik olarak uyumludur, birbiriyle bağlantılı makro ve mikro gözenekli yapıya sahiptir ve yüksek oranda osteokondüktiftir. Yeni kemiğin oluşumunu ve büyümesini destekler (94).

Sığır kaynaklı kemik grefti partikülleri ve blokları, alveolar kret artırımını prosedürleri ve kemik içi defektlerin doldurulması için kullanılmıştır (95). Sığır kaynaklı kemik bloğu greftleri, yüksek osteokondüktif potansiyele sahiptir, bu greftler doğası gereği kırılmalıdır. Bu özellik onları vida sabitleme prosedürleri sırasında veya uygulanmasından sonra başarısız olmaya elverişli hale getirir (96).

2.5.3.4. Alloplastik Greftler

Katı ya da kafes şeklindeki metaller, kalsiyum trifosfat seramikleri, HA, gözenekli polimerler ve diğer sentetik materyallerin kombinasyonundan oluşurlar. Bu biyomateriyaller mikropöröz veya pöröz olmayan, rezorbe olan veya rezorbe olmayan yapıda olabilirler (57).

En sık kullanılan materyallerden biri rezorbe olan trikalsiyum fosfattır. Diğeri ise çok az rezorbe olan veya hiç rezorbe olmayan hidroksiapatittir. Boşluğun korunması ve yeni oluşacak kemik için çatı görevini üstlenmesi amacı güdüldüğünde, HA kısa ve uzun dönemli kullanımda uygun bir malzemedir. Ancak boşluğun hastanın kemiği tarafından hızla doldurulması ve hızlı rezorpsiyon gerektiğinde trikalsiyum fosfat daha iyi bir seçimdir (97).

Boyut ve formlarının çeşitli olması, verici bölge olmaması, kolay uygulanması ve operasyon süresinin az olması alloplastların avantajlarından. Bunun yanı sıra osteojenik ve osteoindüktif özelliklerinin olmaması, yabancı cisim reaksiyonu ve inflamasyon bölgesinde rezorpsiyon gerçekleşme ihtimali gibi dezavantajları vardır (98).

Bizde çalışmamızda farklı partikül boyutlarındaki kemik allogreftlerinin yeni kemik oluşturma potansiyellerini değerlendirmeyi ve bu konuda literatüre katkıda bulunmayı amaçladık.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı ile yürütülmüştür. Çalışmamızda kontrol grubunda 5 diğer 4 grupta 11'er adet olmak üzere 49 adet 12 haftalık 250-300 gr ağırlığında Wistar cinsi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar çalışmaya başlanmadan önce sistemik enfeksiyon ve anatomik malformasyon açısından değerlendirilmiştir. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde her grup farklı kafeslerde ve aynı şartlarda olacak şekilde barındırılmışlardır. Deney süresince penceresiz ortamda 12 saat gece 12 saat gündüz ortamını sağlayacak şekilde yapay aydınlatma kullanılmıştır. Uygun sıcaklık ($20^{\circ}\text{C} \pm 2$) ve havalandırma tertibatı olan ortam sağlanmıştır. Hayvanlar standart yemlerle beslenmiştir. İki haftalık ortama alışma süresi ve stres düzeyinin en aza inmesi beklendikten sonra çalışmaya başlanılmıştır.



Resim 4. Ratların barındırılması

3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

1. Kontrol Grubu: Bu gruptaki 5 sıçana cerrahi işlem yapılmamıştır. Ratların normal anatomisini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. 8. haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

2. Defekt grubu: Bu gruptaki 11 sıçanın tibiasına defekt oluşturulmuş ve herhangi bir greft materyaliyle doldurulmamıştır. 8 haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.
3. Küçük partiküllü (0,5-1 mm) greft grubu: Bu gruptaki 11 sıçanın tibiasına defekt oluşturulmuş ve defekt küçük partiküllü greftle doldurulmuştur. 8. haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.
4. Büyük partiküllü (3-5 mm) greft grubu: Bu gruptaki 11 sıçanın tibiasına defekt oluşturulmuş ve defekt büyük partiküllü greftle doldurulmuştur. 8. haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.
5. Blok greft grubu: Bu gruptaki 11 sıçanın tibiasına defekt oluşturulmuş ve defekt blok greftle doldurulmuştur. 8. haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiştir.



Resim 5. Ratların gruplandırılması

3.3. Deneye Hazırlık

Gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra ratlara xylazin hidroklorür 10 mg/kg (Rompun, 23,32 mg/ml, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve ketamin hidroklorür 50 mg/kg (Ketalar, 50 mg/ml, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) kombinasyonunun intraperitoneal yolla enjeksiyonu ile gerekli sedasyon sağlanmıştır. Daha sonra ratların bacağı traş edilmiştir. Povidon iyot(Betadine® sol. Kansuk, Türkiye) solüsyonu ile ilgili bölge silinmiştir.

3.4. Cerrahi Prosedür

Hayvanlar hazırlandıktan sonra tibiaya ulaşmak amacıyla kemiğin uzun eksenine paralel, 25 mm uzunluğunda cilt kesisi yapılmıştır. Künt diseksiyonla kemiğe ulaşılmıştır. Mikromotora bağlı bir piyasemen ve çelik rond frez yardımıyla serum fizyolojik irrigasyonu altında dizin 10 mm distalinde 3 mm çapında 4 mm derinliğinde monokortikal kemik defekti oluşturulmuştur. Cerrahi alan serum fizyolojik ile yıkanmıştır. Greft uygulanacak gruplarda defektler kansellöz küçük partiküllü (0,5-1 mm), büyük partiküllü (3-5 mm) ve blok allogreftler (Atident®, Atigen-cell, Türkiye) ile doldurulmuştur. Dokular 3/0 poliglaktin suture ile primer olarak suture edilmiştir.



Resim 6. Oluşturulan defekt alanı



Resim 7. Defektin greftle doldurulması



Resim 8. Bölgenin tabakalı sutureasyonu



Resim 9. Bölgenin primer kapatılması



Resim 10. Büyük partiküllü greft grubuna ait greftler



Resim 11. Küçük partiküllü greft grubuna ait greftler



Resim 12. Blok greft



Resim 13. Defekte göre uyumlanmış blok greft

3.5. Ötenazi ve Histolojik Örneklerin Toplanması

Sıçanlar servikal dislokasyon yöntemi kullanılarak sakrifiye edilmiştir. Bütün hayvanların sakrifikasyonunu takiben diseksiyonla tibialarına ulaşarak tibiaları çıkarılmıştır. Alınan örnekler histopatolojik inceleme için %10 formaldehit çözeltisi içerisinde laboratuvara alınmıştır.



Resim 14. Çıkarılan doku spesimeni

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmamızın histopatolojik değerlendirmesi Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda yapılmıştır. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra alınan kemik dokuları, %10 paraformaldehit'de tespit edilmiştir. Sonrasında dekalsifikasyon için %10 EDTA (pH 7.4) solüsyonunda yumuşayınca kadar bekletilmiştir ve her gün solüsyon yenilenmiştir. Dokular yumuşadıktan sonra tekrar suda yıkanmış ve ardından rutin ışık mikroskopi takibi yapıp parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan Leica mikrotom (Leica, Germany) ile 5 µm kalınlığında alınan kesitler için adheziv lamalar kullanılmıştır. Ardından alınan kesitlerde hematoksilin-eozin boyamalar gerçekleştirilmiştir. Ardından kesitler dehidrate edilip, ksilenle şeffaflandırma sonrası kapatılmış ve ışık mikroskobunda değerlendirilmeye alınmıştır.

Doku örneklerinde ışık mikroskobu düzeyinde yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. Yeni kemik oluşumunu değerlendirmek amacıyla bir skorlama sistemi ve hücre sayımı kullanılmıştır. Bu skorlamada defekt alanında yeni kemik oluşumu,

korteksin yeniden yapılanması ve kemik iliği değişiklikleri değerlendirilmiştir. Hücre sayımı için osteoblast ve osteosit sayımı eşit büyüklükte alanlardan yapılmıştır.

Tablo 2. Histolojik skrolama sistemi

Kategori:		Skor
Defekt alanında yeni kemik oluşumu	Tam kemik oluşumu	3
	Orta derecede kemik oluşumu (%50'den fazla)	2
	Düşük derecede kemik oluşumu (%50'den az)	1
	Yeni kemik oluşumunun hiç olmaması	0
Korteksin yeniden yapılanması	Tümüyle yeniden yapılanan korteksin varlığı	2
	Medulla boşluklarının varlığı	1
	Yeniden yapılanmanın hiç olmaması	0
Kemik iliği değişiklikleri	Erişkin tipi yağlı iliğin oluşması	4
	İliğin 2/3'ünde yeni doku oluşması	3
	İliğin 1/3'ünde yeni doku oluşması	2
	Fibröz doku oluşumu	1
	Kırmızı ilik	0
Maksimum toplam skor:		9

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmada yer alan değişkenlerin normal dağılıma uygunluk gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılan değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde Ortalama $\pm$ SS (standart sapma), normal dağılmayan değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde ortanca, ÇAG (Çeyreklikler arası genişlik) ve minimum-maksimum değerleri verildi.

Gruplarının histolojik skorlar açısından karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi, osteoblast ve osteosit hücre sayıları açısından karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı.

Gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenen değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında Bonferroni metodu tercih edildi.

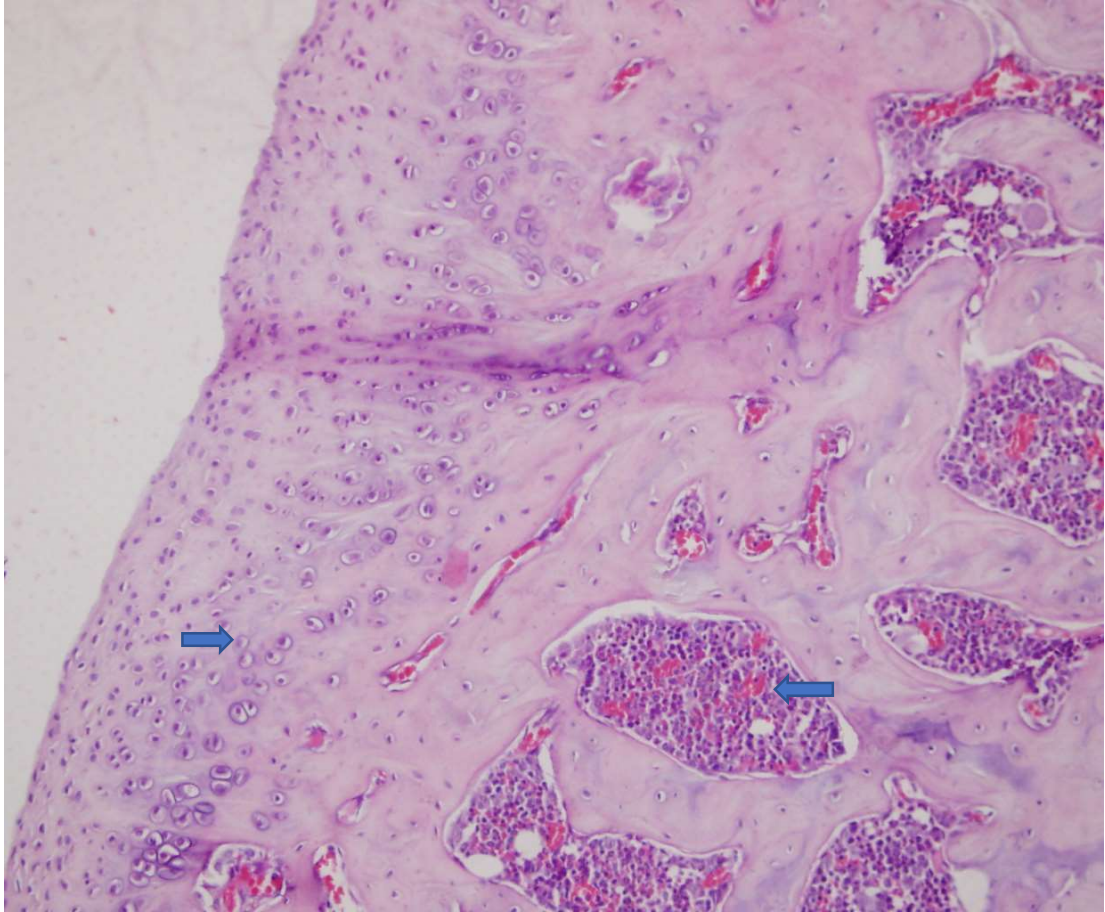
İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

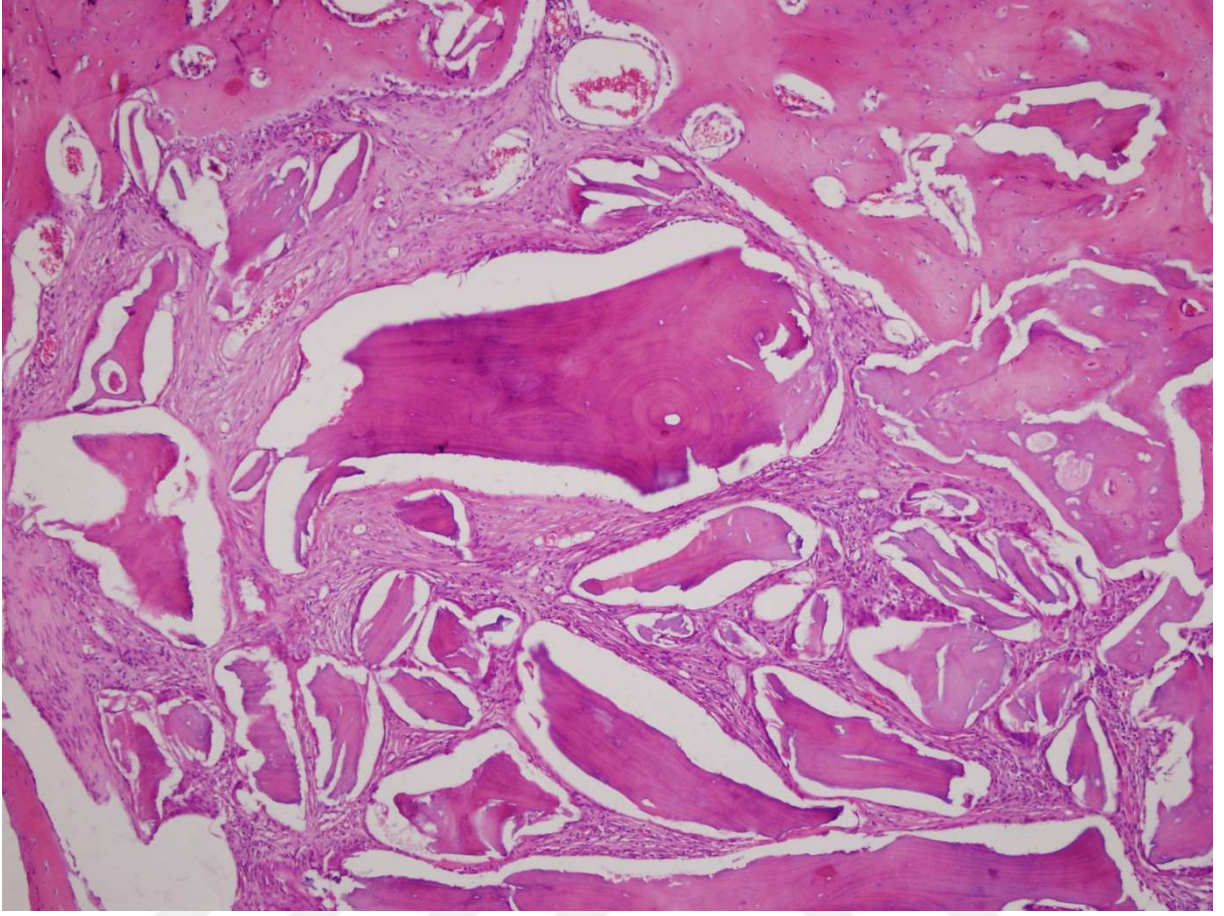
Çalışmada hiçbir rat kaybedilmedi ve çalışma dışı bırakılmadı. Ratlar standart yaş ve kilodaydı. Bu nedenle yaş ve kiloya bağlı anlamlı farklılıklar aranmadı. Kemik dokusu bütün hayvanlarda bütünlüğünü korumuştur ve normal yapıdaydı. Büyük partiküllü greft grubundan 4 ratta, küçük partiküllü greft grubundan 6 ratta ve blok greft grubundan 5 ratta yabancı cisim dev hücre tipinde hücrelere rastlandı. Büyük partiküllü greft grubu, küçük partiküllü greft grubu ve defekt grubunda ikişer adet ratta enfeksiyon görüldü. Blok greft grubunda ise bir ratta enfeksiyon vardı.

4.1. Histopatolojik Bulgular



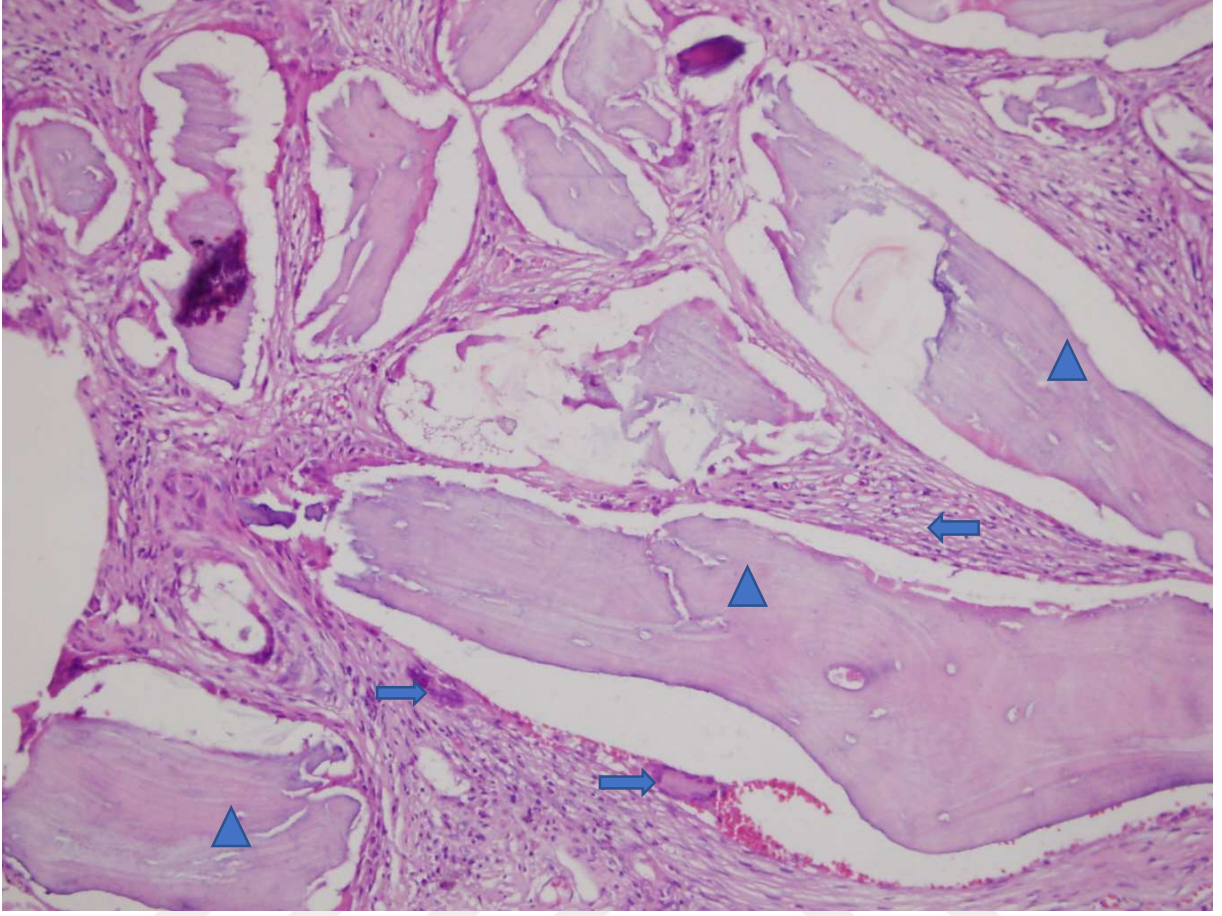
Resim 15. Kontrol grubundan alınan örnekte osteositler ve kemik iliği mesafesi (sağ ok: osteosit, sol ok: kemik iliği mesafesi)

Kontrol grubuna ait doku kesitlerinde yoğun immatür ve matür kemik trabekülleri ile kemik iliği mesafesi izlenmektedir (Resim 15).

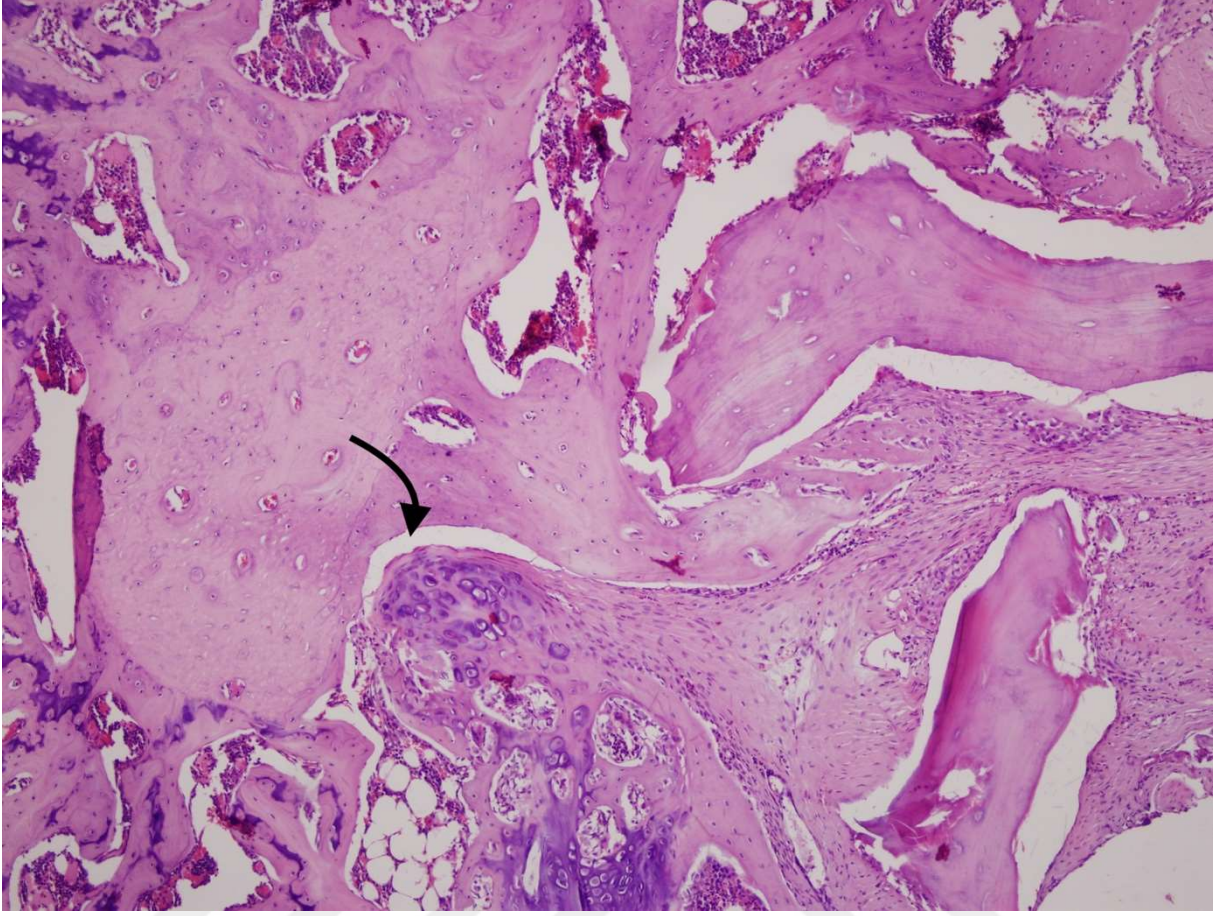


Resim 16. Küçük partiküllü greft grubunda allogreft yapıları çevresinde dev hücre reaksiyonu, fibrozis ve vaskularizasyon

Küçük partiküllü greft grubunda genel olarak korteks yeniden yapılanma başlamış olup defekt alanında yeni kemik oluşumu bazı alanlarda başlamıştır. Ayrıca örneklerin bir kısmında greft yapısı etrafında yaygın aktif kronik inflamasyon, apse formasyonu ile dev hücre reaksiyonu izlenmektedir (Resim 16-17).

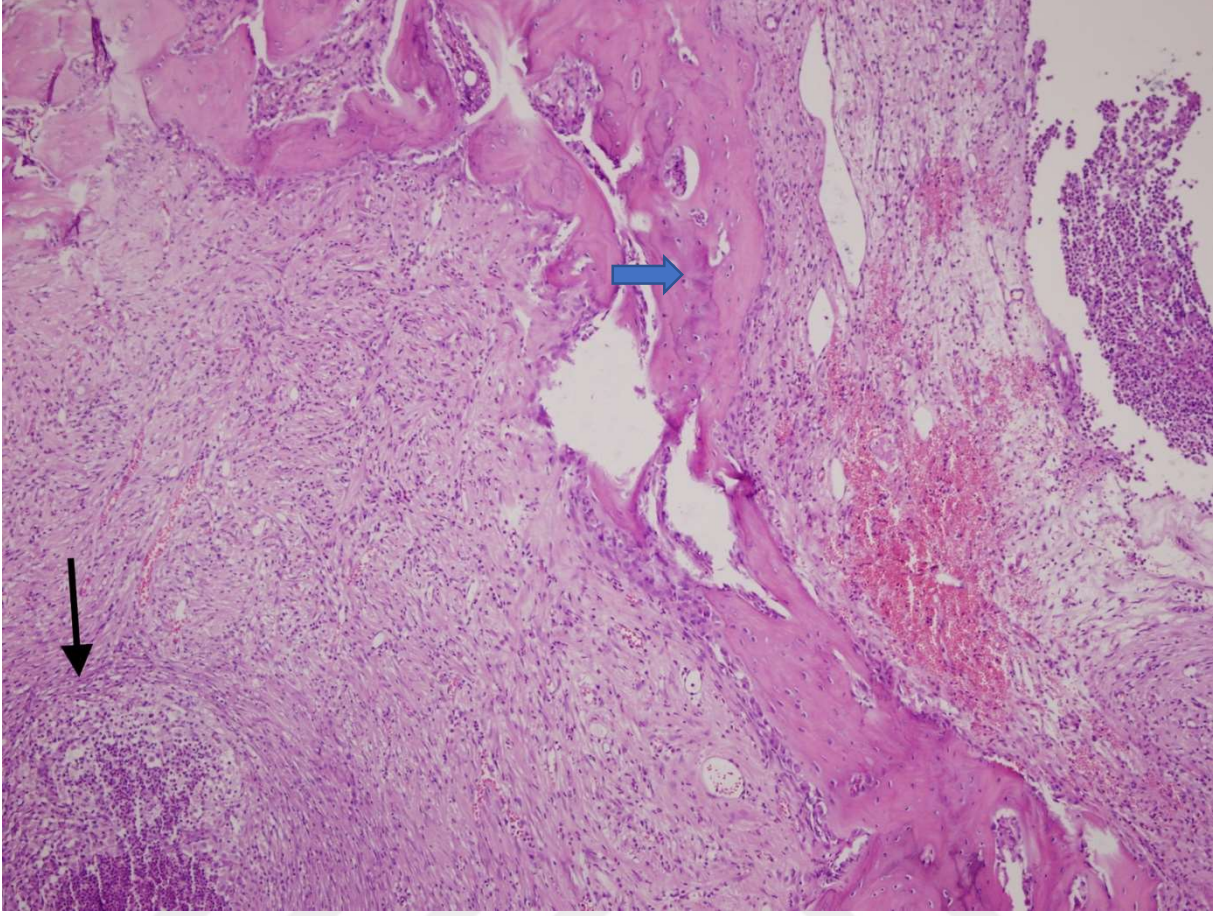


Resim 17. Küçük partiküllü greft grubunda allogreft yapısı çevresinde dev hücre reaksiyonu ve fibrozis (sağ ok: dev hücre reaksiyonu, üçgen: allogreft, sol ok: fibrozis)



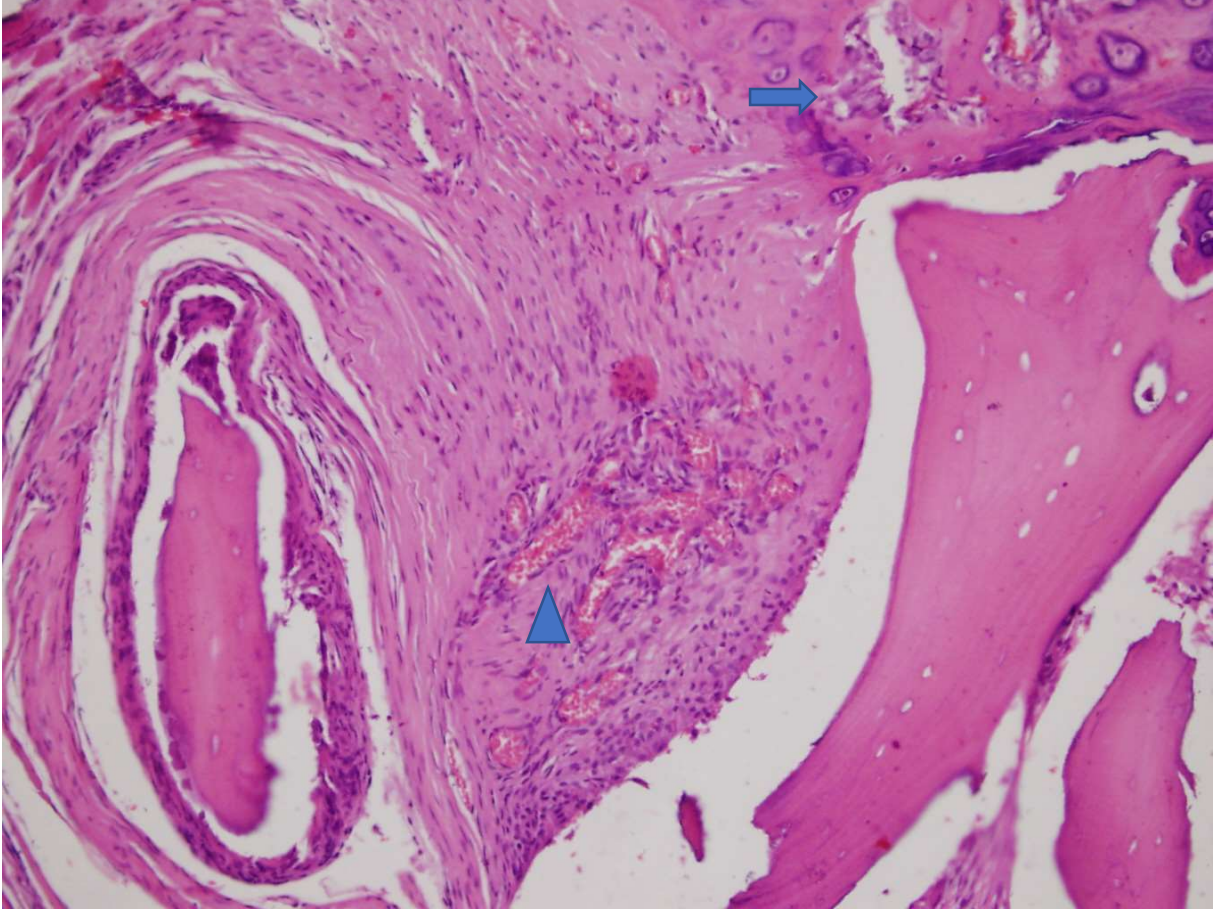
Resim 18. Büyük partiküllü greft grubunda matür kemik oluşumları yanı sıra immatür kemik yapıları (ok: immatür kemik yapıları)

Büyük partiküllü greft grubunda korteks yeniden yapılanması başlamış olup defekt alanında yeni kemik oluşumları mevcuttur (Resim 18). Greft, küçük partiküllü greft grubuna göre daha iyi rezorbe olmuştur.



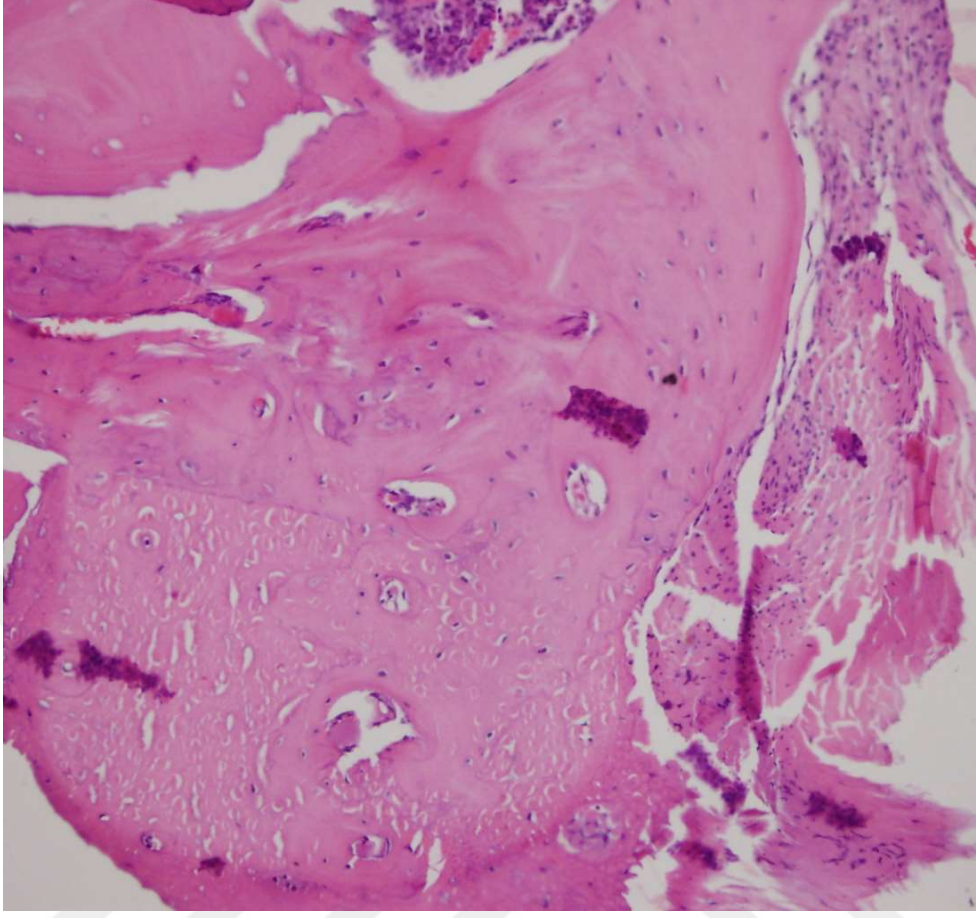
Resim 19. Sadece defekt oluşturulan grupta osteositlerden oluşan matür kemik yapısı ve polimorfonükleer lökositlerden oluşan akut inflamasyon, apse formasyonu (sağ ok: osteositleri içeren matür kemik yapısı, aşağı ok: apse)

Sadece defekt oluşturulan grupta korteks yeniden yapılanması hafif düzeyde mevcut olup yeni kemik oluşumları yer yer gözlenmektedir. Bazı örneklerde defekt alanında yoğun polimorfonükleer lökositlerden oluşan akut inflamasyon ve apse formasyonu eşlik etmektedir (Resim 19).



Resim 20. Blok greft grubuna ait örnekte allogreft etrafında immatür kemik yapıları ve eşlik eden fibrozis ile vaskülarizasyon (sağ ok: immatür kemik yapısı, üçgen: fibrozis ve damar yapıları)

Blok greft grubuna ait vakanın küçük ve büyük partiküllü greft gruplarına göre korteks yeniden yapılanması daha iyi düzeyde gözlenmiştir. Defekt alanında yeni kemik oluşumu da mevcuttur. Bununla birlikte greft rezorbsiyonu diğer gruplara göre daha yüksek düzeydedir (Resim 10-21).



Resim 21. Blok greft grubuna ait örneğin diğer bir alanında matür kemik yapısı

4.2. Gruplara Ait İstatistiksel Bulgular

Tablo 3. Gruplara ait histolojik bulguların toplam ham skorları

Büyük Partiküllü Graft Grubu	Küçük Partiküllü Graft Grubu	Blok Graft Grubu	Defekt Grubu	Kontrol Grubu
8	3	4	3	5
6	5	9	3	5
3	9	9	6	5
7	3	9	9	5
9	5	9	4	5
6	8	8	3	
9	9	9	9	
3	4	9	5	
9	3	8	9	
9	0	6	6	
2	4	7	6	

Büyük partiküllü greft grubunun histolojik skorlarının ortancası 7.00 (ÇAG=6.00, min=2.00, maks=9.00), küçük partiküllü greft grubunun histolojik skorlarının ortancası ise 4.00'tür (ÇAG=5.00, min=0.00, maks=9.00) (Tablo 4). Benzer şekilde, blok greft grubunun histolojik skorlarının ortancasının 9.00 (ÇAG=2.00, min=4.00, maks=9.00), defekt grubunun ortancasının 6.00 (ÇAG=6.00, min=3.00, maks=9.00) ve kontrol grubunun ortancasının 9.00 (ÇAG=0.00, min=9.00, maks=9.00) olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasında, histolojik skorlar açısından anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($\chi^2=13.330$, $p=0.010$).

Tablo 4. Grupların skor değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonucu

	Ortanca (ÇAG)	Min-Maks	χ^2	P
Büyük Partiküllü Graft Grubu	7.00 (6.00)	2.00-9.00	13.330	0.010
Küçük Partiküllü Graft Grubu	4.00 (5.00)	0.00-9.00		
Blok Graft Grubu	9.00 (2.00)	4.00-9.00		
Defekt Grubu	6.00 (6.00)	3.00-9.00		
Kontrol Grubu	9.00 (0.00)	9.00-9.00		

Anlamli farklılığın hangi grupta olduğunun anlaşılması için yapılan çoklu karşılaştırma testine göre, küçük partiküllü greft grubunun histolojik skorlarıyla, kontrol grubunun skorları arasında anlamli farklılık olduğu ($p=0.021$) belirlenmiştir.

Tablo 5. Grupların ikili karşılaştırılması

	P
Büyük-Küçük	1.000
Büyük-Blok	1.000
Büyük-Defekt	1.000
Büyük-Kontrol	0.387
Küçük-Blok	0.102
Küçük-Defekt	1.000
Küçük-Kontrol	0.021
Blok-Defekt	0.594
Blok-Kontrol	1.000
Defekt-Kontrol	0.113

Büyük partiküllü greft grubuna ait osteoblast hücrelerinin ortalaması 51.09 ± 9.99 (min=35.00, maks=69.00), küçük partiküllü greft grubuna ait osteoblast hücrelerinin ortalaması 31.09 ± 10.52 (min=7.00, maks=47.00), blok greft grubuna ait osteoblast hücrelerinin ortalaması 34.54 ± 9.52 (min=19.00, maks=51.00), defekt grubuna ait osteoblast hücrelerinin ortalaması 29.00 ± 8.06 (min=18.00, maks=42.00) ve kontrol grubuna ait osteoblast hücrelerinin ortalaması 75.20 ± 11.71 'dir (min=61.00, maks=93.00). Gruplar arasında, osteoblast hücrelerinin ortalamaları açısından anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($F=26.309$, $p<0.001$) (Tablo 6).

Tablo 6. Osteoblast verisine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonucu

	Ortalama$\pm$SS	Min-Maks	F	P
Büyük Partiküllü Graft Grubu	51.09 ± 9.99	35.00-69.00	26.309	<0.001
Küçük Partiküllü Graft Grubu	31.09 ± 10.52	7.00-47.00		
Blok Graft Grubu	34.54 ± 9.52	19.00-51.00		
Defekt Grubu	29.00 ± 8.06	18.00-42.00		
Kontrol Grubu	75.20 ± 11.71	61.00-93.00		

Çoklu karşılaştırma testine göre, büyük partiküllü greft grubuna ait osteoblast hücrelerinin ortalamalarıyla, küçük partiküllü greft, blok greft, defekt ve kontrol grubunun ortalamaları arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; $p<0.001$, $p=0.003$, $p<0.001$, $p<0.001$). Yine, kontrol grubuyla, küçük partiküllü greft, blok greft ve defekt grubunun osteoblast ortalamaları arasında anlamlı farklılık vardır (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$) (Tablo 7).

Tablo 7. Osteoblast gruplarının ikili karşılaştırılması

	P
Büyük-Küçük	<0.001
Büyük-Blok	0.003
Büyük-Defekt	<0.001
Büyük-Kontrol	<0.001
Küçük-Blok	1.000
Küçük-Defekt	1.000
Küçük-Kontrol	<0.001
Blok-Defekt	1.000
Blok-Kontrol	<0.001
Defekt-Kontrol	<0.001

Büyük partiküllü greft grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalaması 229.00 ± 69.87 (min=98.00, maks=356.00), küçük partiküllü greft grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalaması 178.91 ± 101.45 (min=13.00, maks=372.00), blok greft grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalaması 240.09 ± 67.75 (min=145.00, maks=351.00), defekt grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalaması 208.27 ± 75.18 (min=89.00, maks=314.00) ve kontrol grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalaması 409.40 ± 59.07 'dir (min=355.00, maks=503.00). Gruplar arasında, osteosit hücrelerinin ortalamaları açısından anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($F=8.007$, $p<0.001$) (Tablo 8).

Tablo 8. Osteosit verisine ait tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonucu

	Ortalama$\pm$SS	Min-Maks	F	p
Büyük Partiküllü Graft Grubu	229.00 ± 69.87	98.00-356.00	8.007	<0.001
Küçük Partiküllü Graft Grubu	178.91 ± 101.45	13.00-372.00		
Blok Graft Grubu	240.09 ± 67.75	145.00-351.00		
Defekt Grubu	208.27 ± 75.18	89.00-314.00		
Kontrol Grubu	409.40 ± 59.07	355.00-503.00		

Çoklu karşılaştırma testine göre, kontrol grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalamalarıyla büyük partiküllü greft, küçük partiküllü greft, blok greft ve defekt grubunun osteosit ortalamaları arasında anlamlı farklılık vardır (sırasıyla; $p=0.001$, $p<0.001$, $p=0.002$, $p<0.001$) (Tablo 9).

Tablo 9. Osteosit gruplarının ikili karşılaştırılması

	P
Büyük-Küçük	1.000
Büyük-Blok	1.000
Büyük-Defekt	1.000
Büyük-Kontrol	0.001
Küçük-Blok	0.728
Küçük-Defekt	1.000
Küçük-Kontrol	<0.001
Blok-Defekt	1.000
Blok-Kontrol	0.002
Defekt-Kontrol	<0.001

5. TARTIŞMA

Yaşam boyu remodelasyonu devam eden kemik dokusu metabolik, endokrin ve mekanik değişimlere karşı duyarlı olan aktif bir dokudur (14). Bu dokunun kendini tamir edebilme özelliği vardır. Kemikte bir hasar meydana geldiğinde kemik iyileşme mekanizmalarıyla kendini yeniler. Kemikte önemli miktarda kayıp olduğunda bu mekanizma yeterli olmaz ve kayıp olur. Bu yüzden kemik dokusunun yenilenmesine katkıda bulunmak için ve kemiğin doğal sınırlarının korunabilmesi için kemik greftleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kemik defektlerine uygulanan farklı boyutlardaki kemik allogreftlerinin yeni kemik oluşturma potansiyellerini değerlendirmektir.

Konjenital veya sonradan kazanılmış kemik defektlerinde ve maksillofasiyal operasyonlar sonucu oluşan defektler sonucunda oldukça sık bir şekilde kemik greftlerine ihtiyaç olmaktadır. Eğer bu defektler spontan iyileşmeye bırakılırsa bu tarz defekt bölgelerinde, fibrotik iyileşme sonucu bölgede matür fibröz doku oluşur. Kaynamama gibi komplikasyonlar fibrotik iyileşme sonucu oluşur. Bu tarz komplikasyonları engellemek ve kemik oluşumunu sağlamak amacıyla kemik hücrelerinin bu bölgelerde rejenerasyonunu sağlamak için oluşan defektlerin greft materyalleri ile rekonstrüke edilmesi gerekmektedir (99–101).

Greft kullanılmayan, rekonstrüksiyon yapılmayan defektlerde bağ dokusu hücreleri defektli bölgeyi doldurur ve fibrotik bir iyileşme olmasına neden olur. Kemiğin iyileşmesinin bağ dokusundan daha yavaş olması ve bu şekilde osteoblastların oluşmasından önce defektin bağ dokusu ile dolması osteogenezisi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durumda oluşan fibrotik dokunun en büyük dezavantajı kemik dokusu gibi fonksiyon göstermeyip, kuvvetlere karşı dirençsiz olmasıdır. Kemik dokusunun yapısal sağlamlığına erişemeyen fibrotik doku, defekt alanında fonksiyonu yerine getiremez. Bu durum kaynamama gibi komplikasyonlara yol açmaktadır (102).

Optimal kemik grefti materyalleri osteokondüktif, osteoindüktif, biyo-uyumlu, yapısal olarak kemiğe benzer, kolayca kullanılabilir ve ekonomik olmalıdır (103).

Otojen kansellöz kemik, en iyi greftleme materyalidir ve yıllardır defektlerin tedavisinde klinik başarı ile kullanılmaktadır. Bununla birlikte, grefti elde etmek için morbiditeyi artıran ek bir cerrahi prosedür gereklidir ve büyük veya çok sayıda defektin

greftlenmesi için yetersiz miktarda otojen kemik elde edilebilir. Alternatif olarak, allojenik kemik, ksenojenik kemik veya alloplastik kemik greftleri kullanılmaktadır (104).

Younger ve Chapman; (105) donör bölgelerindeki morbiditeyi belgelemek için 243 otojen kemik grefti olan 239 hastanın tıbbi kayıtları gözden geçirmişlerdir. Majör komplikasyon oranını %8,6 bulmuşlardır. Başlıca komplikasyonları enfeksiyon (%2.5), uzun süreli yara drenajı (%0.8), büyük hematomlar (%3.3), ameliyatın tekrarlanması (%3.8), 6 aydan uzun süren ağrı (%2.5), duyu kaybı (%1.2) ve hoş olmayan yara izleri olarak belirtmişlerdir. Minör komplikasyonları (%20.6) ise yüzeysel enfeksiyon, minör yara problemleri, geçici duyu kaybı ve hafif veya çözülen ağrı olarak saptamışlardır. Ameliyat için kullanılan insizyon aynı zamanda kemik grefti almak için kullanılan insizyon ile aynıysa, çok daha yüksek bir majör komplikasyon oranı (%17.9) olduğunu ayrıca belirtmişlerdir. Bizde çalışmamızda otojen kemiğin donör saha morbiditesi gibi dezavantajlarından kaçınmak için iyi bir alternatifi olan allogreftlerin etkilerini değerlendirmek istedik.

Amorfini ve ark; (106) yaptıkları klinik çalışmada atrofik mandibulalarda kemik rejenerasyonuna etkilerini değerlendirmek için partiküllü otojen greft ve ksenogreft karışımını, kortikokansellöz blok allogreft ile karşılaştırmışlardır. Bir yıllık takip sonucunda gruplar arasında kemik hacmi kazanımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuca göre bir yıllık takip sonunda yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunun ve kortikokansellöz blok allogreft uygulamasının benzer sonuçlar gösterdiğini bildirmişlerdir.

Wallace ve ark; (107) 12 hasta üzerinde yaptıkları vaka serisinde dental implant uygulamasına yer elde edebilmek amacıyla yaptıkları alveol kret ogmentasyonu için kansellöz blok allogreft kullanmışlardır. 5 aylık bekleme sürecinin ardından kret genişliğindeki artışın implant yerleştirilebilmesi için uygun olduğunu düşünmüşlerdir. Bu sonuçlara göre araştırmacılar, maksillada optimal pozisyonda implant yerleştirebilmek için yetersiz maksillaların tedavisi için kansellöz blok allogreftlerinin otojen blok kemik greftlerine ve kortikal blok allogreftlerine alternatif olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Nissan ve ark; (108) konjenital diş eksikliği olan ve 3 mm'den daha fazla vertikal ve 3mm'den daha az horizontal defekti olan 12 hastayı dahil ettikleri çalışmalarında dondurulmuş-kurutulmuş blok kemik allogrefti kullanmışlardır. 6 aylık iyileşme dönemini takiben ve 30 aylık implant yüklemesini takiben uzun dönemde herhangi bir alveolar kemik

kaybına rastlamamışlardır. Bu çalışmayla araştırmacılar, kansellöz blok allogreftlerin konjenital diş eksikliklerinde implant destekli restorasyonlarda başarıyla uygulanabileceğini göstermişlerdir.

Acocella ve ark; (109) 16 hastayı dahil ettikleri çalışmalarında atrofik maksiller kretilere, dondurulmuş tibial allojenik kemik greft materyalini uygulamışlardır. Bu hastalardan 4, 6 ve 9. aylarda uygulama bölgelerinden histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirebilmek için kemik biyopsisi almışlardır. Yapılan histolojik analizlerin sonucuna göre alınan örneklerde kemik iliği ile çevrilmiş olgun, canlı ve kompakt kemik dokularının bulunduğunu ayrıca bu dokuların zamanla arttığı sonucuna varmışlardır. Bu sonuçlara göre araştırmacılar, kemik allogreftlerinin atrofik maksillalarda başarıyla kullanılabileceğini, kemik oluşumunun sağlandığını ve otojen greftler kullanıldığında olduğu gibi implant yerleştirilmesinin güvenle yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Simion ve ark; (110) yaptıkları randomize kontrollü klinik çalışmada, vertikal kemik artırımı amacıyla demineralize, dondurulmuş ve kurutulmuş kemik allogrefti ve otojen kemik greftini kullanarak karşılaştırma yapmışlardır. 7-11 ay sonra greftlenen bölgelerden aldıkları biyopsi örneklerinin histomorfometrik incelemesi sonucunda kemik kaliteleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bulmuşlardır. Bu sonuçlarla insanlarda demineralize, dondurulmuş ve kurutulmuş kemik allogrefinin, otojen kemik grefti ile benzer kazanımlar gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Fontana ve ark; (111) az sayıda hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında otojen kemik grefti ile allojenik kemik matriksinin vertikal kemik ogmentasyonu üzerine olan etkinliklerini değerlendirmişlerdir. Histolojik örneklerin incelenmesi sonucunda gruplar arasında trabeküler kemikte mineralizasyon ve olgunlaşmanın farklı derecelerde olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat gruplar arasında kemik kazancı ve kalitesinde anlamlı bir fark bulmamışlardır. Bu sonuçlara göre allojenik kemik matrikslerinin otojen kemik greftlerine alternatif olarak, otojen kemik greftleriyle benzer histolojik özelliklere sahip olduğunu ve benzer davranışlar gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Ancak bu sonuçların uzun dönem klinik çalışmalarla desteklenmesinin gerektiğini belirtmişlerdir.

Dreyer ve ark; (112) normal ve osteoporotik ratlarda allogreft ve otogreftlerin etkinliğini karşılaştırmışlardır. Ratların bir taraf tibiasına allogreft, karşı taraf tibiasına ise otogreft yerleştirmişleridir. 21 gün sonunda allogreft kullanılan tarafın ve otogreft kullanılan tarafın kemik volümü karşılaştırıldığında normal ve osteoporotik ratlarda istatistiksel olarak

bir fark bulunmamıştır. Allogreftlerin, otogreftlere benzer kemik formasyon kapasitesine sahip olduğu ve iyi bir alternatif olduğu değerlendirilmiştir.

Jaiswal ve ark; (113) DDKKA'nın küçük boyutlu defektlerde etkinliğini değerlendirdiği çalışmalarında, DDKKA uygulanmış grubun greft uygulanmamış gruba göre 3. ve 6. aylarda kemik dentisitesinin anlamlı derecede daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Allogreftler, ayrıntılı sosyal ve tıbbi geçmiş ve serolojik incelemelerin yapıldığı kapsamlı donör taramalarının yapıldığı kemik bankalarında seçilen, işlenen ve korunan aynı türden ancak farklı cinsten bireylerden elde edilir. Canlı vericilerden veya kadavra kemik materyalinden kaynaklanırlar ve bağışıklık yanıtını ve bulaşıcı hastalıkların bulaşmasını nötralize etmek için daha fazla işlenirler (114).

Allogreft uygulanmasının komplikasyonlarından birisi enfeksiyondur. Bir allogreftin enfeksiyonu, yıkıcı bir komplikasyondur. Bildirilen insidans %6 ile %13 arasında değişmektedir (115–117). Birçok faktör suçlanmıştır ve risk kümülatiftir (117). Greftin canlı bir şekilde kapatılması gereklidir. Enfeksiyonu en aza indirmek için, alınması ve tedariki sırasında greft bir antibiyotik solüsyonuna batırılabilir. Kemiğin vankomisin veya rifampisin gibi antibiyotiklerin lokal olarak verilmesi için uygun olabileceği gösterilmiştir (118). Bizim çalışmamızda büyük partiküllü greft grubu, küçük partiküllü greft grubu ve defekt grubunda ikişer adet ratta enfeksiyon görüldü. Blok greft grubunda ise bir ratta enfeksiyon vardı.

Yabancı cisim dev hücre oluşumu, yabancı cisim reaksiyonunun tipik kronik inflamasyondan ayıran ayırt edici özelliği olarak kabul edilir. Yabancı cisim dev hücre oluşumu, birkaç yüz μm 'ye kadar büyük, çok çekirdekli dev hücrelere ve birkaç düzine çekirdeğe sahip makrofaj füzyonu sürecidir (119,120). Bu hücreler, biyomateryal subkutan dokuda tespit edildiği sürece genellikle kalıcı olarak bulunurlar (121). Yabancı cisim dev hücreler genellikle kalıcı ve sindirilemeyen mikroorganizmalar veya yabancı cisimler varsa mevcuttur. Başarısız fagositoz'dan sonra makrofajlar, etkinliklerini artırmak veya apoptozu önlemek amacıyla dev hücrelere dönüşürler (122). Bizim çalışmamızda da histolojik inceleme sonucu büyük partiküllü greft grubundan 4 ratta, küçük partiküllü greft grubundan 6 ratta ve blok greft grubundan 5 ratta yabancı cisim dev hücre tipinde hücrelere rastlandı.

Allogreft yapısı kortikal, kansellöz veya kortikokansellöz olabilir. Her birinin kendi avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Kansellöz blok allogreftlerin içerisine kan damarlarının penetrasyonu yapısal özelliğinden daha kolay gerçekleşmektedir. Ancak,

kansellöz blok greftlerin mekanik streslere olan direnci daha azdır. Graft materyalinin solid yapısı arttıkça mekanik streslere olan direnci artarken, damarlanması, yerleştirilen bölgeye integrasyonu ve canlı bir kemiğe dönüşümü azalmaktadır. Aynı zamanda kortikal greft materyalleri rezorpsiyona karşı daha dirençli bir yapı göstermektedir (123,124). Biz çalışmamızda daha hızlı rezorbe olması nedeniyle çalışma süresini de kısaltacağından kansellöz yapıdaki greftleri kullanmayı tercih ettik.

Ogumentasyon işlemlerinde kullanılan greft materyallerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin dikkate alınması önemlidir. Bu özellikler, malzemenin rezorpsiyon hızında ve klinik uygulamalarında rol oynar. Partikül boyutu ne kadar büyük olursa, malzeme ogumentasyon bölgesinde o kadar uzun kalacaktır (53). Graft partikül boyutu kemik iyileşme yanıtı üzerine etkili bir kriterdir. Bunun en büyük nedenlerinden birisi olarak yüzey-hacim oranının farklı olması düşünülmektedir. Partiküller arasındaki boyut ve densite farkı, scaffoldun üç boyutlu yapısını etkileyerek kemik oluşumunda önemli bir rol oynar. Densiteye bağlı olarak besinler, hücreler ve kan damarları defekte göç edebilir (11). Öte yandan, daha fazla densite ile daha yüksek mekanik stabilite elde edilebilir (125). Partikül boyutunun materyalin dissolüsyonu ve rezorpsiyonu üzerine olan etkileri önemlidir (126). Bizde çalışmamızda farklı partikül boyutları seçerek bu fiziksel farklılığın kemik iyileşmesine ne derecede etki göstereceğini değerlendirmeyi amaçladık.

Doku mühendisliği uygulamalarında çeşitli hayvan modelleri kullanılmaktadır. İdeal hayvan modeli; hayvanda düşük morbiditeye neden olmalı, tekrarlanabilir olmalı, farklı materyal veya stratejilerin değerlendirilmesinde kullanılabilirliği, ilgili klinik durum ile bağlantılı olmalı, çoklu analize izin vermelidir. Kemik defekti hayvan modellerinde rat, fare, tavşan, köpek, koyun, domuz gibi birçok tür kullanılmıştır. Rat modellerinde fizyolojik olaylar kolayca gözlemlenebilir, yeterli veri toplanabilir ve insan organizmasına daha yakın çalışmalar oluşturulabilir. Çalışmamızda kolay temin edilebilmeleri, ucuz olmaları, küçük hayvanlar olduğu için manipüle edilmelerinin kolay olması, fazlaca örnek alınabilme imkânı, fizyolojileri hakkında yeterli bilgiye sahip olunması, enfeksiyona olan dirençleri gibi avantajları nedeniyle ratlar tercih edilmiştir (127). Bizim çalışmamızdaki rat tibia defekt modeli literatürdekine benzerdir (112,128–131). Benzer konularda ratlarda femoral (132), kalvaryal (133–135) defekt modelleri de kullanılmıştır. Bu çalışmaların dışında tavşanlarda defekt modeli kullanan çalışmalar da çoktur (10,126,136,137).

Sıçanlarda ilk trimestere kadar yeni kemik oluşumu hızlı bir şekilde gerçekleştiği için çalışmamızda 12 haftalık ratlar kullanılmıştır (138).

Kemik oluşumunun histolojik olarak değerlendirildiği farklı çalışmalarda örneklerin incelenmesi için sakrifikasyon zamanları farklılık göstermektedir. Genellikle ilk 14 günlük süreyi içeren iyileşmenin erken dönemi veya 30-60 günlük süreyi kapsayan iyileşmenin geç dönemi tercih edilmiştir. Hasar oluşumuyla önce granülasyon dokusu oluşur. Osteoblastlar ve kondroblastların granülasyon dokusuna gelmesiyle fibröz doku oluşur. Daha sonra osteoid sentezi gerçekleşir ve HA tuzları dokuya çöker. Kan damarları yeniden şekillenir. Sonuçta kemiksi yapı oluşur. Bu süreç yaklaşık 6-8 haftada gerçekleşir. Bu nedenle, çalışmamızdaki sakrifikasyon zamanı kemikleşmenin yaklaşık olarak tamamlandığı 8. hafta olarak belirlenmiştir (139). Literatürde de benzer şekilde hayvanların 8 hafta sonra sakrifiye edildiği çalışmalar vardır (132,133).

Kemik defektlerinin partiküler kemik ile onarılması ile ilgili artan sayıda yayına rağmen, kemik onarımını geliştirmek için optimal boyutta partiküller konusunda hala bazı tartışmalar mevcuttur. Zander ve Yukna'nın (140) bildirdiği gibi, dens bir şekilde paketlenen boyut olarak çok küçük olan partiküller hücrelerin, kan damarlarının ve kemiğin göçüne ve büyümesine izin vermek için yeterli alan bırakmayabilir. Yaklaşık 380 µm'lik partikül boyutu, minimum partiküller arası boşluk veya uygun vaskülarizasyon ve kemik oluşumu için yeterince büyük gözenekler sağlayacaktır. Rivault ve ark; (141) 100µm partiküllerin, osteoblastları aktive etmeye yardımcı olduğunu bildirmiştir. Fucini ve ark; (142) insanlarda periodontal defektlerde DDKKA'nın farklı partikül boyutlarını karşılaştırmışlar ve küçük (250-500 µm) ve büyük (850-1000 µm) DDKKA partikülleri ile greftlenmiş defektler arasında kemik dolumu açısından önemli bir fark bulamamışlardır. Robinson ve ark; (143) küçük partikül boyutuna sahip materyallerin kemik oluşumunu arttırdığını ve kemik rezorpsiyonunu ve remodelizasyonunu hızlandırdığını belirtmiştir. Maymunlarda yapılan bir çalışmada, Shapoff ve ark; (144) ayrıca partikül boyutunun kemik onarımı üzerindeki etkisini incelemiş ve otojen kemik iliği ile kombine edilmiş küçük partiküllü DDKA (100-300 µm) ile büyük partiküllü DDKA'yı (1000-2000µm) ile karşılaştırmışlardır. Ayrıca küçük partiküllerin, büyük partiküllerden daha fazla rezorpsiyon gösterme eğiliminde olduğunu söylemişler ve 100-300 µm partikül boyutunu optimum boyut olarak belirlemişlerdir. Diğer yazarlar da bioglass, partiküler homojen kemik ve otojen kemikte gözlemlendiği gibi daha küçük partiküllerin yeni oluşan kemiğin kalitesini arttırdığını kanıtlamışlardır

(137,145,146). Hall ve ark; (147) partikül boyutunun önemli olmadığını bildirmiştir. Mevcut literatürde kemik onarımı için hangi boyuttaki greft partikülünün en uygun olduğu ve partikül boyutunun yeni kemik formasyonunu ne derecede etkilediği konusunda halen bilgi eksikliği vardır.

Pallesen ve ark; (137) partikül boyutunun kemik rejenerasyonu üzerine olan etkilerini erken aşamada değerlendikleri çalışmalarında tavşan kalvaryal defekt modelini kullanmışlardır. Beyin dokusunun herniasyonu ve bağ dokusunun kavite içine büyümesini engellemek için membran kullanmışlardır. Kemik rejenerasyonunu erken evrede değerlendirebilmek için 1, 2 ve 4. Haftalarda hayvanları kurban etmişlerdir. 1. ve 2. haftalar arasında daha önceki çalışmalarla uyumlu olacak şekilde damarlanmanın arttığını bulmuşlardır. Gruplar arasında fark bulmamışlardır. Bu zamanlarda oluşan pıhtıyla beraber woven kemik defekti doldurmaya başlamaktadır. 2. ve 4. Haftalar arasında da woven kemik yerini lamellar kemiğe bırakırken remodeling gerçekleşir. Bu haftalar arasında çeşitli büyüme faktörlerinin olası kolaylaştırılmış salınımı ve damarlanma için daha iyi olasılıklar nedeniyle, küçük partiküllü greft kullanılan defektlerde damarların daha geniş bir toplam yüzey alanına yayılmasını beklemişler ancak herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Bu çalışmada yeni oluşan kemik miktarı, büyük partiküllü defektlere kıyasla küçük partiküllü defektlerde 2 ve 4 hafta sonra daha fazla bulunmuştur. Ek olarak, 4 hafta sonra küçük partiküllerin rezorpsiyonunun, büyük partiküllere kıyasla daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Bu gözlemlerin, küçük parçacıkların daha geniş yüzeyinden büyüme faktörlerinin artan salınımı ile ilgili olabileceğini düşünmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise blok greft grubu, büyük partiküllü greft grubu ve greftsiz gruplarda küçük partiküllü greft grubundan daha iyi kemikleşme gözlenmiştir. Osteosit sayıları da bu durumla koreledir. Fakat anlamlı bir farklılık yoktur. Çalışmalar arasındaki bu farklılık diğer çalışmanın erken dönem kemikleşmeyi incelerken bizim 8 hafta sonunda geç dönem iyileşmeyi incelememizden kaynaklanabilir. Ayrıca bizim çalışmamızda membran kullanılmamıştır. Bu yüzden daha geniş greftler defekt içinde daha küçük olanlarına göre daha stabil kalmış olabilirler.

Nam ve ark; (10) demineralize dentin matriksinin boyut ve densitesinin kemik rejenerasyonu kapasitesini tavşan kranial defekt modelinde değerlendirdikleri çalışmalarında 8 mm çapında oluşturdukları defektleri 4 farklı boyut ve densitede demineralize kemik matriksi uygulamışlardır. 1. gruba 0,1 mL 0,25 mm-1 mm; 2. gruba 0,2

mL 0,25 mm-1 mm; 3. gruba 0,1 mL 1,0 mm-2,0 mm; 4. gruba 0,2 mL 1,0 mm-2,0 mm partiküllü greft uygulanmışlardır. 2,4 ve 8. haftalarda hayvanlar sakrifiye edilmiş ve histolojik değerlendirmeye göre 1. grupta diğer gruplara göre daha fazla osteoblast aktivitesi olduğunu ve osteogenezisi desteklemede daha etkili olduğunu görmüşlerdir. 8 hafta sonra 2,3 ve 4. gruplarda orjinal kemik etrafında dens bağ dokusu gözlemlemişlerdir. Hitomorfometrik analiz sonucu grup 1'in daha yüksek oranda yeni kemik oluşturduğunu, fakat anlamlı bir farklılık olmadığını bulmuşlardır. Yine bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızdan farklıdır ve daha büyük partiküllerin daha stabil olması yorumu yapılabilir. Bu çalışmanın sonucunu en çok etkileyen 8. hafta sakrifikasyon zamanı bizim çalışmamızla uyumlu olduğu için zamana bağlı kemikleşmenin farklı olması yorumunu yapamamaktayız. Yine de bu çalışmada anlamlı farklılık bulunmaması sonuçları 8 haftalık zaman için benzer yapmaktadır.

Kon ve ark; (136) tavşanlarda kranial kemikte küçük partiküllü grefti, büyük partiküllü grefti ve ikisinin karışımını vertikal kemik artışı yönünden değerlendirmişlerdir. Hayvanları 4. ve 8. haftalarda sakrifiye etmişlerdir. Örneklerin analizi için micro-CT kullanmışlar ve total kemik hacmi, kemik yüksekliği ve kemik dağılımını değerlendirmişlerdir. Çıkan sonuçlara göre kemik hacmi ve kemik yüksekliğini korumada en iyi sonuçları 8 hafta sonunda büyük partiküllü greft kullandıkları grupta görmüşlerdir. Kheur ve ark; (148) alveolar ridge split tedavisine greft tipi ve boyutunun etkisini değerlendirdikleri 23 kişinin bulunduğu insan çalışmalarında alloplastlarla allogreftleri ve küçük partiküllü greftlerle(0,25 mm-1 mm) büyük partiküllü greftleri(1-2 mm) karşılaştırmışlardır. Altışar kişiye küçük partiküllü allogreft, büyük partiküllü allogreft ve büyük partiküllü alloplast; beş kişiye ise küçük partiküllü alloplast uygulamışlardır. Sonuçlara göre ortalama sırt genişliği kazanımını alloplast grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır. Her iki greft tipinde de büyük partikül greft grubu küçük partikül greft grubuna göre daha iyi sırt genişlik kazanımı göstermişlerdir. Bu iki çalışmanın sonuçlarını değerlendirdiğimizde bizim çalışmamızla uyumlu olduğunu görmekteyiz. Bizim çalışmamızda greft kullandığımız grupları skorlamayla ve osteosit sayılarıyla karşılaştırdığımızda en büyük boyutlu olarak nitelendirebileceğimiz blok greftler en iyi sonuçları verirken, küçük partiküllü greftler en kötü sonuçları vermiştir. Defekt grubunun değerleri de küçük partiküllü greft grubundan iyi çıkmıştır. Fakat bu sonuçlar arasında anlamlı bir fark yoktur.

Dasmah ve ark; (149) atrofik maksillaları partiküllü greft ve blok greftle rekonstrükte etmişler ve üç boyutlu olarak değişiklikleri değerlendirmişlerdir. 2 yıllık takip sonucunda partiküllü greft kullandıkları kemikte kazanım blok greft kullandıkları kemiğe göre daha fazla bulmuşlardır. Ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla uyumlu olmasa da bu çalışmada bizim 8 haftalık bekleme sürecimizden oldukça fazla olacak şekilde 2 yıllık takip kullanılmıştır.

Jensen ve ark; (150) çalışmalarında domuzlarda sinüs elevasyonunda farklı partikül boyutlarındaki sığır kaynaklı kemik greftlerinin iyileşme kapasitesini değerlendirmişlerdir. Küçük partikül boyutu olarak 0.25-1 mm, büyük partikül olarak 1-2 mm partikül boyutundaki greftleri kullanmışlardır. Kemik oluşumlarını 6 ve 12 hafta sonra histomorfometrik olarak değerlendirmişlerdir. Küçük partiküllü greftler ile tedavi edilen defektlerin iyileşmesini 6 haftalık iyileşme periyodu sonunda daha iyi bulmuşlardır. 12. haftanın sonunda ise her iki boyutta greft kullanılan kemiklerde iyileşmenin benzer seviyelerde olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda daha küçük partiküller daha kötü sonuçlar verse de diğer greftlerle ve greft uygulanmayan defektli grupla aralarında anlamlı fark yoktur. Çalışmamızda tüm hayvanlar aynı gün sakrifiye edildiği için gruplar arasında farklılık olmamasını zamana bağlayamayız. Yine de sakrifikasyon zamanının 4-6 haftadan uzun olması gruplar arasındaki farklılığı ortadan kaldırmış olabilir.

Malinin ve ark; (151) deneysel maymun femur ve tibia modelini kullandıkları çalışmalarında farklı partikül boyutlarında allogreft uyguladıkları kemik defektlerinin iyileşmesini incelemişler ve sonuçları histomorfometrik olarak karşılaştırılmıştır. Oluşan defektlerde 1-2 mm, 500–800 µm, 300–500 µm, 90–300 µm, 125–250 µm, 106–125 µm, 75–106 µm ve 25-75 µm partikül boyutlarından oluşan greftler kullanılmıştır. En hızlı kemikleşmenin 90-300 µm partikül boyutundaki allogreftlerle elde edildiği gözlemlenmiştir. 100 µm'nin altındaki boyutlarda iyileşmenin belirgin bir şekilde daha az olduğu ve 25–75 µm boyutunda greft kullanılan defektlerde iyileşme olmadığı belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda skorlamaya baktığımızda benzer şekilde en kötü iyileşme küçük partiküllü greft grubunda olmuştur. Kontrol grubu ile küçük partiküllü greft grubu arasında anlamlı bir fark vardır. Fakat biz kontrol grubunu ratların anatomisini değerlendirmek için kullandık. Defekt oluşturulan grupla karşılaştırarak greftin etkinliğini daha iyi değerlendirebiliriz.

Sun ve ark; (152) değişen boyutlardaki HA partiküllerinin osteoblast kültürüne etkisini araştırmışlardır. alışmalarında 0.5–3.0, 37– 63, 177–250 ve 420–841 µm boyutlarında greftler kullanmışlardır ve 0,5 ila 3 µm arasında değişen boyutlar için osteoblastlar üzerinde inhibitör etkiler bildirmişlerdir. İnhibisyon arttıkça PGE₂ seviyelerinde artış tespit etmişlerdir. Buna göre de partikül boyutu azaldıkça PGE₂ seviyesinin de arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlarla kolayca ince partiküllere ayrılabilen bir hidroksiapatit ürünü kullanmadan önce dikkatli olunması gerektiğini önermişlerdir. Bizim alışmamızda osteoblast sayılarını değerlendirdiğimizde defekt grubunda en az, küçük partiküllü greft grubunda defekt grubuna göre daha fazla osteoblast görölmüştür. Kontrol grubunda en çok osteoblast görölmüş ve diğer tüm gruplarla istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Daha sonra büyük partiküllü greft grubunda osteoblast görölmüştür ve yine diğer tüm gruplarla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Blok greft grubunun osteoblast sayısı büyük partiküllü greft grubundan az, küçük partiküllü greft grubundan fazladır fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Bizim alışmamızda kullandığımız greft partikülleri kolayca ufalanabilen yapıdaydı ve küçük partiküller arasında daha fazla ufalanmış partikül vardı. Bu durum yapılan diğer çalışmanın yazarlarının önerisini desteklemektedir.

Deveci ve ark; (153) rat kalvaryal defekt modelinde allogreft uygulamasının etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında 14 ratın 7'sine frontal kemik orta hattında 5 mm defekt oluşturmuşlar, 7'sine ise yine aynı şekilde defekt oluşturup greftlemişlerdir. Tüm hayvanları 28 gün sonra sakrifiye etmişlerdir. Histolojik inceleme ile inflamasyon, fibrozis, osteoklast sayısı, osteoblast sayısı, osteosit sayısı, matriks oluşumu ve yeni kemik trabeküler çapını değerlendirmişlerdir. Defekt + greft grubunda defekt grubuna göre inflamasyon, fibrozis ve osteoklast sayısını azalmış gibi gözlemlemişlerdir ve istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (p = 0.01). Osteosit ve osteoblast sayımı, matriks oluşumu ve yeni kemik trabeküler oluşumu açısından defekt+greft grubu değerlerinin defekt grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulmuşlardır. Defekt grubunda skar dokusu, mononükleer hücre infiltrasyonunda artış ve nekroz; defekt+greft grubunda ise kollajen liflerde artış, inflamatuvar hücrelerde azalma, osteoblast hücrelerinde ve kemik matriksinde artış gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak allogreft uygulamasının osteoindüktif ve osteokondüktif etki oluşturarak kalvaryal defekt modelinde yeni kemik oluşumunu desteklediğini bulmuşlardır. Bizim alışmamızda ise defekt grubuyla greft yerleştirdiğimiz grupları karşılaştırdığımızda sadece küçük partiküllü greft yerleştirdiğimiz grupta yeni kemik

oluşumu defekt grubundan daha düşük skor alırken diğer gruplar bu çalışmayla uyumlu olacak şekilde daha yüksek skorlar aldı. Ancak bizim çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Osteosit sayılarını değerlendirdiğimizde bizim çalışmamızda yine aynı şekilde küçük partiküllü greft grubunda defekt grubuna göre daha az sayıda osteosit varken diğer gruplarda daha fazla osteosit vardı. Osteosit sayısı, yeni kemik oluşumuyla korele olacak şekilde miktar olarak sırasıyla kontrol, blok greft, büyük partiküllü greft, defekt ve küçük partiküllü greft grubundaydı. Graft uygulanıp uygulanmadığına bakılmaksızın defekt oluşturulan gruplar arasında osteosit sayısı bakımından anlamlı bir farklılık yoktu. İşlem yapmadığımız grupta osteosit sayısı diğer tüm gruplardan anlamlı derecede daha fazlaydı.

Kluppel ve ark; (126) çalışmalarında farklı partikül boyutlarındaki anorganik sığır kaynaklı kemik greftlerinin kritik boyutlu kemik defektlerine uygulandığında oluşturdukları kemik iyileşmesini histomorfometri ve radyolojik analizle değerlendirmişlerdir. 18 yetişkin yeni zellanda tavşanının her birine 8 mm büyüklüğünde 4 kalvaryal defekt oluşturmuşlardır. Bu defektleri otojen partiküllü greft(kontrol grubu), küçük granüllü ksenojenik greft, orta partiküllü ksenojenik greft, büyük partiküllü ksenojenik greftle doldürmüşlardır. Hayvanları cerrahiden 15, 30 ve 60 gün sonra sakrifiye etmişlerdir. Histolojik inceleme yapılmadan önce radyolojik olarak örnekleri incelemişlerdir. Elde edilen histomorfometrik sonuçlarda, 15 ve 30. günlerde bütün sığır kaynaklı kemik grefti kullanılan defektlerde hala greftlerin rezorbe olmadığı ve enflamasyonun devam ettiği gözlemlenmiştir. 60. günde sadece küçük partiküllü sığır kaynaklı kemik greftinin tamamen rezorbe olduğu ve bu grupta diğer deney gruplarına göre daha fazla osteoid dokunun geliştiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak 60 gün sonunda en iyi kemik iyileşmesini otojen kemik grefti kullanılan kontrol grubunun gösterdiği belirtilmiştir. Deney gruplarında ise küçük partiküllü ksenogreft kullanılan grupta, greftin tamamen rezorbe olduğu ve kemik formasyonunun diğer deney gruplarına göre daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre küçük partiküllü ksenogreftin kritik kemik defektlerinde uygulandığında yeni kemik oluşumunu oldukça iyi sağladığı belirtilmiştir. Yazarlara göre bu çalışmanın ilginç bir noktası, histolojik ve radyografik bulguları ilişkilendirmektir bu son derece önemlidir çünkü radyografi görüntüsü genellikle klinik uygulamada kemik onarım sürecini izlemenin tek yoludur. Elde edilen görüntülerin tek başına analiz edilmesi, kemik onarımının büyük boyutlu partiküllerde (kavite daha radyopak) daha küçük partiküllere (kavite daha radyolüsent) göre daha iyi olduğunu düşündürülebilir. Bu durum büyük partikül grubu için gözlenen radyoopasitenin aslında

rezorbe edilmemiş anorganik sıgır kemiği partiküllerinin radyoopasitesi olması ile açıklamışlardır. Öte yandan, küçük partikül grubu için gözlenen radyol sensinin biyomateryalin rezorpsiyonu ve henüz olgunlaşmamış, radyoopak olmayan yeni oluşan kemiğin birikmesinden kaynaklandığı düşünmüşlerdir. Bu çalışmadaki 60. günde sakrifikasyon bizim çalışmamızdaki zamanlamayla uyumludur. Bu  alışma özellikle küçük partiküllerin daha hızlı rezorbe olduğu üzerinde durmuştur ve 60. günde küçük partiküllerin tamamen rezorbe olduğunu belirtmişlerdir. Bizim yaptđımız çalışmanın histolojik incelemesinde ise daha b   k partiküllerin daha hızlı rezorbe olduğunu gözlemledik.

Farklı partikül boyutlarındaki greft materyallerinin yeni kemik oluşumuna etkisi açısından mevcut literatürde fikir birliği yoktur. Bazı çalışmalarda (136,148) b   k partikül boyutuna sahip greft materyallerinin yeni kemik oluşumuna etkisinin daha fazla olduğu, bazı çalışmalarda (10,126,137,149) ise tam tersine küçük partikül boyutuna sahip greftler materyallerinin daha etkili olduğu bulunmuştur. Diğer bir grup çalışma da ise özellikle uzun iyileşme periyotlarından sonra farklı partikül boyutlarına sahip greftlerin benzer şekilde iyileşmeyi etkilediğini belirtmiştir (150,151).

6. SONUÇLAR

1. Küçük partiküllü greft grubunun skoru kontrol grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu durum normal yapıdaki kemikle karşılaştırdığımızda küçük partiküllü greft grubunda kemikleşmenin kötü olduğunu göstermektedir.
2. Kontrol grubuna ait osteosit hücrelerinin ortalamalarıyla büyük partiküllü greft, küçük partiküllü greft, blok greft ve defekt grubunun osteosit ortalamaları arasında anlamlı farklılık vardır. Bu farklılık, kontrol grubundaki normal yapıdaki kemiğin diğer gruplardakine göre daha olgun yapıda olduğunu göstermektedir.
3. Gruplar değerlerine göre sıralandığında skorlama ve osteosit sayıları koreleydi.
4. Büyük partiküllü greft grubuna ait osteoblast hücrelerinin sayısı, küçük partiküllü greft, blok greft ve defekt grubunun sayısından anlamlı derecede fazla bulunmuştur. Yine, kontrol grubunun osteoblast sayısı büyük partiküllü greft, küçük partiküllü greft, blok greft ve defekt grubunun osteoblast sayısından anlamlı derecede fazladır. Bu sonuç büyük partiküllü greft grubunda kemikleşmenin devam edebileceğinin daha olası olduğunu göstermektedir.

Kullandığımız skorlamaya göre greft yerleştirilen grupların birbirleri arasında ve defekt grubu arasında anlamlı farklılık yoktu. Partikül boyutunun yeni kemik oluşumuna etkisini değerlendirebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Carlson, E R; Marx RE. Mandibular reconstruction using cancellous cellular bone grafts. J Oral Maxillofac Surg. 1996;54:889–97.
2. Enemark, H; Jensen, J; Bosch C. Mandibular bone graft material for reconstruction of alveolar cleft defects: Long term results. Cleft Palate Craniofac J. 2001;38:155–63.
3. Rosenberg E, Rose LF. Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. Dent Clin North Am. 1998;42(3):467–90.
4. Masters DH. Implants, bone and bone substitutes. Calif Dent Asso J. 1988;16:56–65.
5. Jarcho M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. Clin Orthop. 1981;157:259–78.
6. Goulet, J A; Senunas, L E; DeSilva, G L; Greenfield ML. Autogenous iliac crest bone graft: complications and functional assessment. Clin Orthop Relat Res. 1997;339:76–81.
7. Buring, K; Urist M. Effects of ionizing radiation on the bone induction principle in the matrix of bone implants. Clin Orthop. 1967;44:225–34.
8. Jarcho M. Biomaterial aspects of calcium phosphate. Dent Clin N Am. 1986;30:25–47.
9. Lane JM. Bone graft substitutes. West J Med. 1995;163:565–6.
10. Nam J-W, Kim M-Y, Han S-J. Cranial bone regeneration according to different particle sizes and densities of demineralized dentin matrix in the rabbit model. Maxillofac Plast Reconstr Surg. 2016 Dec;38(1).
11. Coathup MJ, Cai Q, Campion C, Buckland T, Blunn GW. The effect of particle size on the osteointegration of injectable silicate-substituted calcium phosphate bone substitute materials. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013;101(6):902–10.
12. Morgan EF, Barnes GL, Einhorn TA. Chapter 1 – The Bone Organ System: Form and Function. Osteoporosis. 2013;3–20.
13. Fatih H, Md Ç, Sezer N. Kemik Yapısı Ve Kemik Döngüsü Üzerine Bir Derleme A Review Over Bone Structure And Turnover. Fiz Tıp. 2002;5(3).
14. Hamdy, Neveen Agnes Therese; Papapoulos SE. Management of malignancy-associated hypercalcaemia. Clin Rev Bone Miner Metab. 2002;(1):65–76.
15. Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. Eur Cells Mater. 2008;Apr 1(15):53–76.
16. Diaz-Flores L, Gutierrez R, Madrid JF, Varela H, Valladares F, Diaz-Flores L. Adult stem cells and repair through granulation tissue. Front Biosci. 2009;14(4).
17. Lerner UH. Osteoblasts, Osteoclasts, and Osteocytes: Unveiling Their Intimate-Associated Responses to Applied Orthodontic Forces. Semin Orthod. 2012 Dec 1;18(4):237–48.

18. Gökçimen A. Genel Tıbbi Histoloji. 2006. 89–101 p.
19. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010 Dec;11(4):219–27.
20. Junqueira LC, Carneiro J. Basic histology. *Temel Hist*. 2006. 141–159 p.
21. Zhou X, Zhang Z, Feng JQ, Dusevich VM, Sinha K, Zhang H, et al. Multiple functions of Osterix are required for bone growth and homeostasis in postnatal mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(29).
22. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. 2011;42(6):551–5.
23. Rose FRAJ, Oreffo ROC. Bone tissue engineering: Hope vs hype. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;292(1):1–7.
24. Desai B, Rogers MJ, Chellaiah MA. Mechanisms of osteopontin and CD44 as metastatic principles in prostate cancer cells. *Mol Cancer*. 2007;6.
25. Gordjestani M, Dermaut L, De Ridder L, Thierens H, De Waele P, De Leersnijder Willy W, et al. Osteopontin and bone metabolism: A histology and scintigraphy study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34(7).
26. Marsell, R; Einhorn TA. The Biology Of Fracture Healing. *Injury*. 2011;42(6):551–5.
27. Becker, K L; Bilezikian JP. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. Lippincott Williams & Wilkins; 1990.
28. Parfitt AM, Mathews CHE, Villanueva AB, Kleerekoper M, Frame B, Rao DS. Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J Clin Invest*. 1983;72(4):1396–409.
29. Glimcher MJ. Handbook of Physiology: Endocrinology. 7th ed. Baltimore: The Williams and Wilkins Company; 1976. 25–116 p.
30. Prockop, D J; Kivirikko, K I; Tuderman L. The biosynthesis of collagen and its disorders. *N Engl J Med*. 1979;301:13.
31. Sikavitsas, V I; Temenoff, J S; Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*. 2001;22(19):2581–93.
32. Gorski JP. Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of non-collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms Title. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9:201–23.
33. Allen MR, Hock JM, Burr DB. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. *Bone*. 2004 Nov;35(5):1003–12.
34. Asaumi K, Nakanishi T, Asahara H, Inoue H, Takigawa M. Expression of neurotrophins and

- their receptors (TRK) during fracture healing. *Bone*. 2000 Jun;26(6):625–33.
35. Akay T. Genel Histoloji. 5.baskı. Ankara: Palme Yayınevi; 2001. 126–82 p.
 36. Gartner, L P; Hiatt JL. Color textbook of Histology. 2nd ed. W.B. Saunders; 2001. 129–55 p.
 37. Pawlina W, Ross MH. Histology, A text and atlas, with correlated cell and molecular biology. Lippincott Williams & Wilkins; 2017.
 38. Ahmed YAG. Analysis of physiological death of equine hypertrophic chondrocytes. LAP Lambert Academic Publishing; 2012.
 39. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology Text & Atlas. 14th ed. McGraw-Hill Medical; 2016. 143–148 p.
 40. Safadi, F F; Barbe, M F; Abdelmagid, S M; Rico, M C; Aswad, R A; Litvin, J; Popoff SN. Bone Structure, Development and Bone Biology. In: Bone Pathology. 2009.
 41. Bloom W, Fawcett DW. Bloom and Fawcett, a textbook of histology. Chapman & Hall; 1994.
 42. Pazzaglia UE, Congiu T, Raspanti M, Ranchetti F, Quacci D. Anatomy of the Intracortical Canal System Scanning Electron Microscopy Study in Rabbit Femur. *Clin Orthop Relat Res*. 2009;467:2446–56.
 43. Thibodeau, G A; Patton KT. Anatomy and Physiology. 5 ed. China: Mosby Inc; 2003. 190–202 p.
 44. Naran, S; Menard RM. Bone grafting: physiology and techniques, Ferraro's Fundamentals of Maxillofacial Surgery. Springer; 2015. 115–133 p.
 45. Buckwalter, J; Glimcher, M; Cooper, R; Recker R. Bone biology. *J Bone Jt Surg Am*. 1995;77(8):1256–75.
 46. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. 5th ed. 2019. 197–209 p.
 47. Papageorgiou P. Accelerated bone healing by tissue progenitor recruitment inducing hydrogels. University of Zurich; 2017.
 48. Bronner, Felix; Farach-Carson Mary C; Roach HI. Bone and development. Springer Science & Business Media; 2010.
 49. Başoğlu, M; Paker, M; Özmen, E; Taşdemir, O; Şahin D. Factors Related to Long-Term Traumatic Stress Responses in Survivors of Torture in Turkey. *JAMA*. 1994;272(5):357–63.
 50. Hadjidakis DJAİİ. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092(1):385–96.
 51. Erol, M; Atalan, G; Erol, H; Doğan, Z; Yönez M. Kırık İyileşmesinde Non-Steroidall Antiinflatuar İlaçların Etkileri. *Klin J Vet Sci*. 2014;5(2):85–90.
 52. Grivas KN. Numerical Modelling of The Ultrasound Effect on Bone Fracture Healing.

University of Patras; 2016.

53. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993;2(3):158–67.
54. Van Heest A, Swiontkowski M. Bone-graft substitutes. *Lancet (London, England).* 1999;353 Suppl(SUPPL.1):28–9.
55. Bowers, G M; Chadroff, B; Carnevale R. Histologic Evaluation of New Attachment Apparatus Formation in Humans. *J Periodontol.* 1989;60(12):683–93.
56. Glowacki, J; Altobelli, D; Mulliken JB. Fate of Mineralized and Demineralized Osseous Implants in Cranial Defects. *Calcif Tissue Int.* 1981;33(1):71–6.
57. Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. *Cumhur Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Derg.* 1999;2(2).
58. Ezirganlı, Ş; Polat, S; Barış, E; Tatar, İ; Çelik HH. Comparative investigation of the effects of different materials used with a titanium barrier on new bone formation. *Clin Oral Implant Res.* 2013;24(3):312–9.
59. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Jt Surg Am.* 2002;84(3):454–64.
60. Kruger GO. *Text Book of Oral and Maxillofacial Surgery.* St Louis: The C. V. Mosby Company; 1994. 105–123 p.
61. Covani U, Marconcini S, Crespi R, Barone A. Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. *Implant Dent.* 2006;15(3):298–304.
62. McCain, J.P; Marx R. A retrospective study of the donor site in bone grafts from the ilium. 1978.
63. Burwell RG. Studies in the transplantation of bone. 8. Treated composite homograft-autografts of cancellous bone: an analysis of inductive mechanisms in bone transplantation. *Bone Jt Surg Br.* 1966;48(3):532–66.
64. Lindholm, T S; Nilsson, O S; Lindholm TC. Extraskelatal and intraskelatal new bone formation induced by demineralized bone matrix combined with bone marrow cells. *Clin Orthop Relat Res.* 1982;(171):251–5.
65. Lindhe, J; Branemark PI. Observations on vascular proliferation in a granulation tissue. *J Periodontal Res.* 1970;5:276–92.
66. Kawamura, M; Urist MR. Induction of callus formation by implants of bone morphogenetic protein and associated bone matrix noncollagenous proteins. *Clin Orthop Relat Res.* 1988;(236):240–8.
67. Reddi AH, Wientroub S, Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthop*

- Clin North Am. 1987;18(2):207–12.
68. Marx, R E; Smyder, R M; Kline SN. Cellular survival of human marrow during placement of marrow-cancellous bone grafts. J Oral Surg. 1979;37:712–8.
 69. Bruce, R; Dziewitkowski D. Differentiation of the organic matrix in bone repair. J Oral Maxillofac Surg. 1987;45:939–44.
 70. Gottrup, F; Fogdestam, I; Hunbt TK. Delayed primary closure: An experimental and clinical review. J Clin Surg. 1982;1:113–24.
 71. Bauer, T W; Muschler GF. Bone graft materials. Clin Orthop Relat Res. 2000;371:10–27.
 72. Constantino, P D; Freidman CD. Synthetic bone graft substitutes. Otolaryngol Clin North Am. 1994;27(5):1037–74.
 73. Boyne PJ. Tissue Transplantations. In: Kruger GO, editor. Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery. 6th ed. St Louis: Mosby Inc; 1984. p. 296–332.
 74. Archer WH. Oral and Maxillofacial Surgery Vol II. W.B. Saunders; 1975.
 75. Misch CM. Autogenous bone: is it still the gold standard? Implant Dent. 2010 Oct;19(5):361.
 76. Keating JF, McQueen MM. Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma. Vol. 83, Journal of Bone and Joint Surgery - Series B. 2001.
 77. Sanz M, Dahlin C, Apatzidou D, Artzi Z, Bozic D, Calciolari E, et al. Biomaterials and regenerative technologies used in bone regeneration in the craniomaxillofacial region: Consensus report of group 2 of the 15th European Workshop on Periodontology on Bone Regeneration. J Clin Periodontol. 2019;46(S21).
 78. Emeka N, Neukam FW. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: Morbidity, resorption and implant survival. Eur J Oral Implantol. 2014;7.
 79. Saulacic N, Bosshardt DD, Jensen SS, Miron RJ, Gruber R, Buser D. Impact of bone graft harvesting techniques on bone formation and graft resorption: A histomorphometric study in the mandibles of minipigs. Clin Oral Implants Res. 2015;26(4).
 80. Pradel W, Tenbrieg P, Lauer G. Influence of harvesting technique and donor site location on in vitro growth of osteoblastlike cells from facial bone. Int J Oral Maxillofac Implant. 2005;20(6):860–6.
 81. Shegarfi, H; Reikeras O. Bone transplantation and immune response. J Orthop Surg. 2009;17(2):206–11.
 82. Amler MH. Osteogenic Potential of Nonvital Tissues and Synthetic Implant Materials. J Periodontol. 1987;58(11).
 83. Bowers G, Feiton F, Middleton C, Glynn D, Sharp S, Mellonig J, et al. Histologic Comparison

- of Regeneration in Human Intrabony Defects When Osteogenin Is Combined With Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft and With Purified Bovine Collagen. *J Periodontol*. 1991;62(11).
84. Zimmermann G, Moghaddam A. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. *Injury*. 2011;42(SUPPL. 2).
 85. Stevenson, S; Li, X Q; Martin B. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J bone Jt Surg Am Vol*. 1991;73(8):1143–56.
 86. Burwell, R G; Gowland, G; Dexter F. Studies in the transplantation of bone VI. Further observations concerning the antigenicity of homologous cortical and cancellous bone. *J bone Jt Surg Br Vol*. 1963;45(3):597–608.
 87. Schwartz Z, Mellonig JT, Carnes DL, Fontaine JD La, Cochran DL, Dean DD, et al. Ability of Commercial Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft to Induce New Bone Formation. *J Periodontol*. 1996;67(9).
 88. Voggenreiter G, Ascherl R, Blümel G, Schmit-Neuerburg KP. Effects of preservation and sterilization on cortical bone grafts - A scanning electron microscopic study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1994;113(5).
 89. Wang, J C; Kanim, L E; Nagakawa, I S; Yamane, B H; Vinters, H V; Dawson EG. Dose-dependent toxicity of a commercially available demineralized bone matrix material. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2001;26(13):1429–35.
 90. Bostrom, M P; Yang, X; Kennan, M; Sandhu, H; Dicarlo, E; Lane JM. An unexpected outcome during testing of commercially available demineralized bone graft materials: how safe are the nonallograft components? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2001;26(13):1425–8.
 91. Sheikh Z, Hamdan N, Ikeda Y, Grynpas M, Ganss B, Glogauer M. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: A review. Vol. 21, *Biomaterials Research*. 2017.
 92. Mellonig JT. Human histologic evaluation of a bovine-derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000;20(1):19–29.
 93. 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).
 94. Nannmark U, Sennerby L. The bone tissue responses to prehydrated and collagenated cortico-cancellous porcine bone grafts: A study in rabbit maxillary defects. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2008;10(4).

95. Zitzmann NU, Naef R, Scharer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration Int J Oral Maxillofac Implants 1998 Jul-Aug;13(4):576. Int J Oral Maxillofac Implants. 1997;12(6).
96. Felice P, Marchetti C, Iezzi G, Piattelli A, Worthington H, Pellegrino G, et al. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with interpositional bloc grafts: Bone from the iliac crest vs. bovine anorganic bone. Clinical and histological results up to one year after loading from a randomized-controlled clinical trial. Clin Oral Implants Res. 2009;20(12).
97. Tarnow, Dennis P; Chu SJ. The Single-Tooth Implant: A Minimally Invasive Approach for Anterior and Posterior Extraction Sockets. 2020. 44 p.
98. C T. Greft Materyalleri. Dişhekimliği Derg. 2008;84:28–33.
99. Heiple, K G; Goldberg, V M; Powell, A E; Bos, G D; Zika JM. Biology of cancellous bone grafts. Orthop Clin North Am. 1987;18(2):179–85.
100. Sandberg, E; Dahlin, C; Linde A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. J Oral Maxillofac Surg. 1993;51(10):1106–14.
101. Mundell, R D; Mooney, M P; Siegel, M I; Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. J Oral Maxillofac Surg. 1993;51(9):1004–12.
102. Kaya, B; Ünlü G. Kistektomi ve apikal rezeksiyon operasyonlarındaki kemik defektlerinde sentetik alloplastlar ile ksenojenik greftlerin uygulanması. Dicle Tıp Derg. 1999;26(4):103–16.
103. Tomford, W W; Thongphasuk, J; Mankin, H J; Ferraro MJ. Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. J Bone Jt Surg Am. 1990;72(8):1137–43.
104. Koźlik, Maciej; Wójcicki, Piotr; Rychlik D. Bone graft substitutes (Preparaty kośćciozastępcze). Dent Med Probl. 2011;48(4):547–53.
105. Younger, E M; Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. J Orthop Trauma. 1989;3(3):192–5.
106. Amorfini L, Migliorati M, Signori A, Silvestrini-Biavati A, Benedicenti S. Block Allograft Technique versus Standard Guided Bone Regeneration: A Randomized Clinical Trial. Clin Implant Dent Relat Res. 2014;16(5).
107. Wallace S, Gellin R. Clinical evaluation of freeze-dried cancellous block allografts for ridge augmentation and implant placement in the Maxilla. Implant Dent. 2010;19(4).
108. Nissan J, Gross O, Mardinger O, Ghelfan O, Sacco R, Chaushu G. Post-traumatic implant-

- supported restoration of the anterior maxillary teeth using cancellous bone block allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(12).
109. Acocella A, Bertolai R, Ellis E 3rd, Nissan J, Sacco R. Maxillary alveolar ridge reconstruction with monocortical fresh-frozen bone blocks: A clinical, histological and histomorphometric study. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2012;40(6).
 110. Simion M, Jovanovic SA, Trisi P, Scarano A, Piattelli A. Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1998;18(1).
 111. Fontana, Flippo; Santoro, Franco; Maiorana, Carlo; Lezzi, Giovanna; Piattelli, Adriano; Simion M. Clinical and histologic evaluation of allogeneic bone matrix versus autogenous bone chips associated with titanium-reinforced e-PTFE membrane for vertical ridge augmentation: a prospective pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implant.* 2008;23(6):1003–12.
 112. Dreyer CH, Rasmussen M, Hestehave Pedersen R, Overgaard S, Ding M. Comparisons of Efficacy between Autograft and Allograft on Defect Repair In Vivo in Normal and Osteoporotic Rats. 2020;
 113. Jaiswal, Y; Kumar, S; Vijay, M; Puneet, B; Anand KRSS. Efficacy of decalcified freeze-dried bone allograft in the regeneration of small osseous defect: A comparative study. *Natl J Maxillofac Surg.* 2017;8(2):143–8.
 114. Delloye, C; Cornu, O; Druetz, V; Barbier O. Bone allografts: What they can offer and what they cannot. *J Bone Jt Surg Br.* 2007;89(5):574–9.
 115. Delloye, C; De Halleux J; Cornu O. Organizational and investigational aspects of bone banking in Belgium. *Acta Orthop Belg.* 1991;57:27–34.
 116. Donati, D; Di Bella, C; Col Angeli, M; Bianchi, G; Mercuri M. The use of massive bone allografts in bone tumour surgery of the limb. *Curr Orthop.* 2005;19(5):393–9.
 117. Mankin, H; Gebhardt, M; Jennings, L; Springfield, D; Tomford W. Long term results of allograft replacement in the management of bone tumors. *Clin Orthop.* 1996;324:86–97.
 118. Witso, E; Persen, L; Loseth, K; Bergh K. Adsorption and release of antibiotics from morselized cancellous bone: in vitro studies of 8 antibiotics. *Acta Orthop Scand.* 1999;70:298–304.
 119. Anderson, J M; Rodriguez, A; Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008;20(2):86–100.
 120. Zhang, L; Cao, Z; Bai, T; Carr, L; Ella-Menye, J R; Irvin, C; Ratner, B D; Jiang S. Zwitterionic hydrogels implanted in mice resist the foreign-body reaction. *Nat Biotechnol.*

- 2013;31(6):553–6.
121. Haynes, C A; Sliwinski, E; Norde W. Structural and electrostatic properties of globular proteins at a polystyrene-water interface. *JournalJournal Colloid Interface Sci.* 1994;164:394–409.
 122. Brodbeck, W G; Shive, M S; Colton, E; Nakayama, Y; Matsuda, T; Anderson JM. Influence of biomaterial surface chemistry on the apoptosis of adherent cells. *J Biomed Mater Res.* 2001;55:661–8.
 123. Köndell, P A; Mattsson, T; Astrand P. Immunological responses to maxillary on-lay allogeneic bone grafts. *Clin Oral Implant Res.* 1996;7(4):373–7.
 124. Perrott, D H; Smith RAKLB. The use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1992;21(5):260–5.
 125. Putzer, D; Coraça-Huber, D; Wurm, A; Schmoelz, W; Nogler M. Optimizing the Grain Size Distribution of Allografts in Bone Impaction Grafting. *J Orthop Res.* 2014;32(8):1024–9.
 126. Klüppel, L E; Antonini, F; Olate, S; Nascimento, F F; Albergaria-Barbosa, J R; Mazzonetto R. Bone repair is influenced by different particle sizes of anorganic bovine bone matrix: a histologic and radiographic study in vivo. *J Craniofac Surg.* 2013;24(4):1074–7.
 127. Medrado, Alena R A P; Pugliese, L S; Reis, S R A; Andrade ZA. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2003;32(3):239–44.
 128. Srouji S, Blumenfeld I, Rachmiel A, Livne E. Bone defect repair in rat tibia by TGF-beta1 and IGF-1 released from hydrogel scaffold. *Cell Tissue Bank.* 2004;5(4).
 129. Song SH, Yun YP, Kim HJ, Park K, Kim SE, Song HR. Bone formation in a rat tibial defect model using carboxymethyl cellulose/BioC/bone morphogenic protein-2 hybrid materials. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
 130. Horstmann PF, Raina DB, Isaksson H, Hettwer W, Lidgren L, Petersen MM, et al. Composite biomaterial as a carrier for bone-Active substances for metaphyseal tibial bone defect reconstruction in rats. *Tissue Eng - Part A.* 2017;23(23–24).
 131. Atasoy KT, Korkmaz YT, Odaci E, Hanci H. The efficacy of low-level 940 nm laser therapy with different energy intensities on bone healing. *Braz Oral Res [Internet].* 2017 [cited 2022 Jun 15];31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28076498/>
 132. Poser L, Matthys R, Schawalder P, Pearce S, Alini M, Zeiter S. A standardized critical size defect model in normal and osteoporotic rats to evaluate bone tissue engineered constructs. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
 133. Suenaga H, Katsuko, Furukawa S, Suzuki Y, Takato T, Ushida T. Bone regeneration in

- calvarial defects in a rat model by implantation of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cell spheroids. *J Mater Sci Mater Med*. 26.
134. Zong C, Xue D, Yuan W, Wang W, Shen D, Tong X, et al. Reconstruction Of Rat Calvarial Defects With Human Mesenchymal Stem Cells and Osteoblast-Like Cells in Poly-Lactic-Co-Glycolic Acid Scaffolds. *Eur Cells Mater*. 2010;20.
 135. Umoh JU, Sampaio A V., Welch I, Pitelka V, Goldberg HA, Underhill TM, et al. In vivo micro-CT analysis of bone remodeling in a rat calvarial defect model. *Phys Med Biol*. 2009;54(7).
 136. Kon K, Shiota M, Ozeki M, Kasugai S. The Effect of Graft Bone Particle Size on Bone Augmentation in a Rabbit Cranial Vertical Augmentation Model: A Microcomputed Tomography Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29(2):402–6.
 137. Pallesen, Lars; Schou, S; Aaboe, Merete; Hjørting-Hansen ENAMF. Influence of Particle Size of Autogenous Bone Grafts on the Early Stages of Bone Regeneration: A Histologic and Stereologic Study in Rabbit Calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implant*. 2002;17(4):498–506.
 138. Irving, J T; Le Bolt, S A; Scheiner EL. Ectopic bone formation and aging. *Clin Orthop Relat Res*. 1985;154:249–53.
 139. Hulse, D; Hyman B. Fracture biology and biomechanics. In: *Textbook of small animal surgery*. 1993. p. 1785–92.
 140. Zaner DJ, Yukna RA. Particle Size of Periodontal Bone Grafting Materials. *J Periodontol*. 1984;55(7).
 141. Rivault AF, Toto PD, Levy S, Gargiulo AW. Autogenous Bone Grafts: Osseous Coagulum and Osseous Retrograde Procedures in Primates. *J Periodontol*. 1971;42(12).
 142. Fucini SE, Quintero G, Gher ME, Black BS, Richardson AC. Small Versus Large Particles of Demineralized Freeze-Dried Bone Allografts in Human Intrabony Periodontal Defects. *J Periodontol*. 1993;64(9).
 143. Robinson RE. Osseous Coagulum for Bone Induction. *J Periodontol*. 1969;40(9).
 144. Shapoff, C A; Bowers, G M; Levy B. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. *J Periodontol*. 1980;51:625–30.
 145. Schepers EIJ, Ducheyne+ P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1997.
 146. Xu H, Shimizu Y, Asai S, Ooya K. Experimental sinus grafting with the use of deproteinized bone particles of different sizes. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(5).
 147. Hall, E E; Meffert, R M; Hermann, J S; Mellonig, J T; Cochran DL. Comparison of Bioactive

- Glass toDemineralized Freeze-Dried Bone Allograftin the Treatment of Intrabony DefectsAround Implants in the Canine Mandible. *J Periodontol.* 1999;70(5):526–35.
148. Kheur MG, Kheur S, Lakha T, Jambhekar S, Le B, Jain V. Does Graft Particle Type and Size Affect Ridge Dimensional Changes After Alveolar Ridge Split Procedure? *J Oral Maxillofac Surg.* 2018 Apr 1;76(4):761–9.
 149. Dasmah A, Thor A, Ekestubbe A, Sennerby L, Rasmusson L. Particulate vs. block bone grafts: Three-dimensional changes in graft volume after reconstruction of the atrophic maxilla, a 2-year radiographic follow-up. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2012;40(8).
 150. Jensen, S S; Aaboe, M; Janner SFM. Influence of Particle Size of Deproteinized Bovine Bone Mineral on New Bone Formation and Implant Stability After Simultaneous Sinus Floor Elevation: A Histomorphometric Study in Minipigs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2015;17(2):274–85.
 151. Malinin, T I; Carpenter, E M; Temple HT. Particulate Bone Allograft Incorporation in Regeneration of Osseous Defects; Importance of Particle Sizes. *Open Orthop J.* 2007;1(1):19–24.
 152. Sun, J S; Liu H C; Chang, W H; Li, J; Lin, F H; Tai HC. Influence of hydroxyapatite particle size on bone cell activities: An in vitro study. *J Biomed Mater Res.* 1998;39(3):390–7.
 153. Deveci B, Dağ A, Asir F, Özkorkmaz EG, Deveci E. Allograft Bone Application in the Rat Calvarial Bone Defect Model: a Histopathological Study. *Int J Sci Res.* 2021;22–4.