

157656

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI ve CERRAHİSİ
ANA BİLİM DALI

**OTOJEN SPONGİOZ KEMİK GREFTİ VE KEMİK İLİĞİ İLE
KOMBİNE HETEROGREFTİN DENEYSEL KEMİK
KAVİTELERİNDE HİSTOPATOLOJİK OLARAK
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Muhammed Selim Yavuz

**Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ömer KAYA**

**Doktora Tezi
Erzurum-2002**

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

**AĞIZ DİŞ ÇENE HASTALIKLARI ve CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

**OTOJEN SPONGİOZ KEMİK GREFTİ VE KEMİK İLİĞİ İLE KOMBİNE
HETEROGREFTİN DENEYSEL KEMİK KAVİTELERİNDE HİSTOPATOLOJİK
OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Muhammed Selim YAVUZ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 02.12.2002

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 10.12.2002

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ömer KAYA

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ertunç DAYI

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Cemal GÜNDOĞDU

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hakan ÖZYUVACI

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ümit ERTAŞ

Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Adnan TEZEL

Aralık 2002

ERZURUM

İÇİNDEKİLER

I.	ÖZET.....	II
II.	SUMMARY.....	III
III.	GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
IV.	GENEL BİLGİLER.....	3
V.	MATERYAL VE METOD.....	14
VI.	BULGULAR.....	22
VII.	TARTIŞMA.....	33
VIII.	SONUÇLAR.....	40
IX.	KAYNAKLAR.....	41

ÖZET

Bu tez çalışmasında otojen spongioz kemik grefti ve kemik iliği ile kombine heterogreftin histopatolojik açıdan karşılaştırılması yapılmıştır.

Çalışmada 27 adet erişkin tavşan üç gruba ayrıldı. Tavşanların intramuskuler ketamin enjeksiyonu ile genel anestezilerini takiben, ameliyatla sağ tibiaları açığa çıkarıldı ve burada 3 mm. çaplı üç defekt oluşturuldu. Defektlerden biri kontrol grubu olarak bırakıldı, diğerine femur epifizinden elde edilen otojen spongioz kemik grefti, son defekte de femur diafizinden aspire edilen kemik iliği ile karıştırılan heterogreft (Tutoplast spongioza bovine microchips) yerleştirildi. Postoperatif 1., 3. ve 6. haftalarda tavşanların tibiaları çıkarıldı. Histopatolojik tetkikleri yapılarak elde edilen değerler Kruskal-Wallis testi ile istatistiki olarak değerlendirildi ve sonuçlar literatür ışığında tartışıldı.

SUMMARY

In this thesis, otogen cancellous bone graft and heterograft combined red bone marrow compared histopathologically.

In the present study, 27 adult rabbits were distinguished three groups. Following the induction of general anesthesia with intramuscular ketamine, the anterior surface of right tibia of the rabbits were surgically exposed, and three holes with 3 mm. in diameter were prepared on them for investigation. One hole was filled with otogen cancellous bone, the other hole was filled heterograft combined red bone marrow and the other unfilled hole was used as control. At the postoperative 1., 3. and 6. weeks, rabbits from each group were sacrificed in equal numbers, and defective regions were extracted. Kruskal-Wallis statistic test was applied to the data obtained in the result of histopathologic survey of specimens and results were discussed according to literatures.

GİRİŞ ve AMAÇ

Yüz kemikleri özellikle de çene kemiklerinde travma, enfeksiyonlar veya kongenital olarak meydana gelmiş defektlere sıklıkla rastlanmaktadır. Oral ve maksillofasyal bölgedeki defektlerin boyutları küçük alveol yarıklarından, mandibulektomi defektlerine kadar değişir. Her bir defektin, rekonstrüktif tedavisi kendine hastır ve özel bir planlama gerektirir. Kemik yapının şekil, boyut, pozisyon veya miktarında bir defekt mevcutsa rekonstrüktif cerrahi gerekecektir. Kayıp kemik dokularının replasmanı için en sık kullanılan doku yine kemiktir.¹

Oral cerrahi uygulamalarında genel görüş, 2 cm.den küçük kemik defektlerinin primer olarak kapatılması; daha büyük defektlerin ise ölü boşluğu ortadan kaldırmak, enfeksiyon ve yara iyileşmesinin bozulmasını önlemek için greftlenmesi gerektiğidir. Bu da uzun sürecek marsupyalizasyon tedavisi yerine enükleasyona ve böylece bütün kist duvarının histopatolojik tetkikine imkan sağlar.²

Maksillofasyal deformitelerin tedavisinde iskeletsel kontürün sağlanması için, augmentasyon amacıyla ve yeni bir iskeletsel mimari oluşturmak için kemik greftinin transferi gerekir. Kaburgadan, iliak veya tibial kemikten alınan kemik greftlerinin komplikasyon riskleri vardır. Ayrıca elde edilebilecek otojen kemik miktarı özellikle de bebek ve çocuklarda çok sınırlıdır.³ Oronazal kemik fistülünün kapatılmasında olduğu gibi bazı durumlarda da, kemik grefti elde etmek için yapılan müdahale, esas müdahaleden daha büyük olabilir. Bu sebeplerle otojen kemik grefti yerine çeşitli allojen ve heterojen kemik greftleri kullanılmaktadır. Ancak tüm bu greft materyalleri, taze otojen kemik greftinin başarısına ulaşabilmiş değildir. Bununla birlikte kemik greftleme işlemi uzun zamandır değişen ve gelişen başarı oranlarında kullanılmaktadır.

Günümüzde kemiğin fizyolojisi ve immünolojisinin daha iyi anlaşılması; doku bankalama işlemleri ve cerrahi prensiplerdeki son gelişmelerle, maksillofasyal defektlerin çoğunun başarılı rekonstrüksiyonu mümkün hale gelmiştir.

Bu tez çalışmasındaki amacımız en ideal özelliklere sahip kemik grefti olmakla birlikte, beraberinde bazı dezavantajları da getiren otojen kemik greftine, kemik iliği ile kombine heterojen kemik greftinin alternatif olup olamayacağını araştırmaktır.



GENEL BİLGİLER

KEMİK GREFTLERİNİN TARİHÇESİ

Kemik yapısı ve büyümesindeki gerçeklere dayanarak, kemik transplantasyonu bir çok deneysel ve klinik çalışmanın ana fikri olmuştur.

İlk kemik grefti uygulaması 1668'de Hollanda'lı cerrah Jop van Meekeren tarafından yapılmıştır. Bir askerin kafatasındaki travmatik defekti bir köpeğin kafatasından aldığı kemik greftiyle başarılı bir şekilde kapatabilmiştir.^{4,5}

Hollanda'lı araştırmacı Antoni van Leeuwenhoek 1674'de kemiğin yapısını ayrıntılı bir şekilde tanımlamıştır. Osteogenezis üzerine ilk bilimsel çalışma yapanın Duhamel olduğu bilinmesine rağmen, Hollanda'lı bilgin Antonius de Heyde 60 yıl önce kurbağalar üzerinde çalışarak konuyla ilgili deneysel gözlemlerini yayınlamıştır. De Heyde kallusun, kırılmış kemik uçlarının etrafındaki kan pıhtısının kalsifikasyonu sonucu oluştuğunu ifade etmiştir.

Duhamel'in çalışmasından bir yüzyıl sonra Frenchman Ollier köpek yavruları ve tavşanlar üzerine yaptığı deneysel çalışmasından çıkardığı sonuçlara dayanarak, otogreftlerin kendi kendilerine yaşayabileceklerini ve periostu olmayan ayrı ayrı canlı kemik fragmanlarının uygun ortamda yaşayıp büyüyebileceğini söylemiştir.

Yüzyılımızın başından bu yana transplante kemiğin üzerine deneysel ve klinik gözlemler yapılmaktadır. Almanya'da Barth ve A.B.D. de Curtis, kemik transplantasyonu üzerine ayrı ayrı çalışmalar yaparak sonuçları yayınlamışlardır. Barth "yeni kemik oluşumu, kemik greftinin ölü kısmının absorpsiyonu ve çevredeki canlı kemiğin greftin içine doğru büyümesi" konularını çalışırken; Curtis "haversian

kanalların, granülasyon dokusunun gelişmesi için düzgün yollar sağladığı” görüşünü ortaya koymuştur. Phemister bu olayı “creeping substitution” (başka bir şeyin yerini alma) olarak adlandırmıştır.

İlk klinik otogreft uygulaması 1820 yılında Almanya’da Philips von Walter tarafından yapılmıştır. Walter, trepanotomiden sonra kafatasındaki defekt alanına otogreft uygulamıştır. İlk allogreft uygulaması, 1880’de İskoçya’lı William Macewen tarafından yapılmıştır. Macewan, 4 yaşındaki bir erkek çocuğun enfekte humerusunu, riketsli bir çocuğun tibiasından alınan greftle başarıyla tedavi etmiştir. Ancak 1915 yılında F.H. Albee’nin A.B.D. de yayınlanan kemik grefti çalışmasından sonra, kemik transplantasyonu gittikçe artan oranda uygulanmaya başlanmıştır.⁵

O zamandan bu güne kadar, transplante kemiğin kaderi ve onun değişik unsurlarının rejenerasyon gücü hakkında tartışmalarla birlikte sayısız yayın yapıldı ve kemik yapan hücrelerin greft tarafından mı konakçı tarafından mı sağlandığı tartışmanın ana konusunu oluşturdu.

Bugün kemik greftlerinin üç fizyolojik fonksiyonunun olduğunu biliyoruz. Birincisi osteoindüksiyon, (hücrelere kemik oluşumu için potansiyel kazandırmak yolu ile lokal olarak kemik oluşumunu indükleme süreci) ikincisi kemik greftlerinin kemik depozisyonu için iskelet çatı oluşturarak osteoindüksiyona yardım edebilmeleri, sonuncusu ise kemik greftlerinin kemik yapan hücrelere kaynak sağlayabilmeleridir. Her greftleme tekniği, bu rollerden bir veya birkaçını değişen derecede kullanmaktadır.⁶

KEMİK GREFTLERİ

Rekonstrüktif cerrahide kullanılan çok çeşitli kemik greftleri vardır. Ancak orijinlerine ve immün cevabı uyarmalarına göre üç ana gruba ayrılırlar.

1. Otojen greftler: Otogreft olarak da bilinen bu greft, bir kişinin bir bölgesinden başka bir bölgesine nakledilen kemik grefti çeşididir. Taze otojen kemik, çoğu klinik durumda en etkili ve en ideal greft materyali olması nedeniyle oral ve maksillofasyal cerrahi uygulamalarında en sık tercih edilen greft tipidir.^{1, 7-19} Otojen kemik grefti, Faz I osteogenez için esas olan canlı ve immün uyumlu kemik hücreleri içeren tek kemik greftidir. Ne kadar fazla canlı kemik hücresi nakledilirse o kadar fazla kemik dokusu yapılacaktır.

İliumdan elde edilen otojen spongioz kemik ve kemik iliği kombinasyonunun osteojenik özelliği en yüksek kemik grefti olduğu kabul edilmektedir. Bu tip kemik greftleri çene rekonstrüksiyonunda, alveol kreti augmentasyonunda, alveol yarığının kapatılmasında, ortognatik cerrahide ve iyileşmeyen kırıklarda kullanılmaktadır.^{11,20,21}

Otojen kemik grefti vücudun bir çok yerinden elde edilebilir. Bu bölgeler iliak krest, skapula, maksilla, mandibula, temporal kemik, kalvarium ve uzun kemikler olabilir. Büyük miktarda kemik grefti gerektiğinde en sık tercih edilen kaynak ilak krest ve kaburgalardır.²² İliak krestten 1.7 cm. kalınlığa kadar kemik segmentleri elde edilebilmesine rağmen donör alanlarda lokalize ağrı, kanama, inguinal ligament bağlantısında yırtılma gibi önemli morbidite problemleri olabilmektedir.²² Otojen kemik grefti kaynağı için ikinci tercih olan kaburgalardan blok halinde kemik grefti elde edilebilir. Endosteum ve kemik iliği içeren medullar kemiğin kürete edilmesiyle elde edilen spongioz kemik-ilik karışımı olan greft materyali, en yüksek konsantrasyonda osteojenik hücre içeren greft materyalidir. Bu greft karışımını elde etmek için en sık

kullanılan kemik de yine ilium'dur ve geniş küretlerle iliak sırttan girilerek büyük miktarlarda greft materyali elde edilebilir.^{1,8}

Otojen kemik greftlerinin en önemli avantajları faz 1 kemik formasyonu için osteojenik hücreler içermesi ve immün cevap gelişmemesidir. Dezavantajları ise işlemin ikinci bir operasyon alanı gerektirmesi, ameliyat ve genel anestezi süresinin uzaması ve postoperatif morbiditede artış olmasıdır.^{1,8,23,24}

Kırmızı ilik içeren spongios kemik grefti, çok sayıda osteojenik hücre içerir ve potansiyel olarak da osteojenik etkisi daha fazladır. Klinik ve deneysel çalışmalar, normal şartlarda spongios kemik greftlerinin osteogenezise aktif olarak katkıda bulunduğunu göstermiştir.²⁵

Oral cerrahi müdahalelerde, intraoral kemik iliği ile kombine otojen kansellöz kemiği, osteogenezi uyarma potansiyelinin yüksek olması ve nisbeten daha kolay elde edilebilmesi popüler otojen kemik grefti yapar.¹⁸ Bu tip greft intraoral olarak çekim soketlerinden, dişsiz alveol kretlerinden ve tuber maksilla bölgesinden elde edilir. Ancak intraoral donör alanlar iliak bölgedeki kadar hematopoetik ilik içermez. Ayrıca intraoral olarak yeterli miktarda greft elde etmek için sıklıkla ikinci donör alana ihtiyaç duyulmaktadır.¹⁸

Bir çok araştırma sonucunda, tüm kemik greftlerinde, transplantasyon sonrası hücrelerin büyük çoğunluğunun öldüğü tespit edilmiştir. Ancak taze otojen kemik greftlerinin revaskularize oluncaya kadar greft yüzeyinde ve trabeküler yüzeylere yakın olan çok sayıda hücrenin canlılığını koruyabildiği tesbit edilmiştir. Bu hücreler periost, ilik ve yüzey hücreleridir.^{2,13,14,16,26} Bu hücrelerin optimal greft-konakçı ilişkisinde önemli rol oynadıkları düşünülmektedir. Taze otojen kemik greftinden gelişen yeni kemiğin çoğu şu iki kaynaktan menşe alır:

- a. Grefte edilen kemikte nisbeten az sayıda bulunan osteoblastlar
- b. Osteogenezin ana kaynağı olan kemik iliğindeki hücreler

2. Allojenik greftler: Allogreft veya homogreft olarak da bilinen allojenik greftler aynı türdeki farklı bireyler arasında nakledilen greft çeşididir. Bireyler genetik olarak farklı olduklarından allojenik kemik grefti, antijenitesinin azaltılması amacıyla çeşitli işlemlerden geçirilir. Allojenik kemik greftlerinin, transplantasyonda immün cevaba neden olduğu deneysel olarak gösterilmesine rağmen bu reaksiyondan sorumlu immünojenlerin transplante edilen kemikten kaynaklanıp kaynaklanmadığı tam olarak bilinmemektedir. Allojenik kemik greftlerindeki major immünojenik faktörün kemik iliği olduğu düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar immün reaksiyonun direk olarak kemiğin içerdiği iliğe karşı olduğunu düşünmektedir.^{27,28}

Günümüzde en sık kullanılan allojenik greft çeşidi dondurulmuş-kurutulmuş kemiktir. Allojenik kemik greftlerinin antijenitesini azaltmak için yapılan işlemler greftteki osteojenik hücreleri tahrip ederler ve bu nedenle de allojenik kemik greftlerinin faz I osteogeneze katkıları olmaz. Bu greftlerin osteogeneze katkıları oldukça pasiftir ve sadece faz II osteogenez için sert doku matriksi görevi görürler. Bu nedenle de greft yatağının durumu, allojenik greftlerde başarı için esas belirleyici faktördür. Allojenik greftler, ikinci bir operasyon alanı gerektirmemesi, istenen şekilde elde edilebilmesi gibi önemli avantajlara sahipken; faz I osteogenez için canlı osteojenik hücre içermemesi, dolayısıyla da osteogeneze aktif katkısının olmaması greftin eksik yönüdür.¹

3. Heterojenik greftler: Xenogreft veya heterogreft olarak da bilinen bu greftler

bir türden diğer türe nakledilen greft çeşididir. Bu greftlerin antijeniteleri allogreftlerden daha fazladır. Heterogreftler tek başlarına osteogenezise katılmazlar ve kemik formasyonunun uyarılmasında zayıf etkiye sahiptirler.²²

Maksillofasyal cerrahide greftleme işlemi ile ilgili iki büyük problem, otojen kemik greftinin sınırlı miktarda elde edilmesi ve greft olarak kullanılan kemiğin rezorbsiyonudur.⁸ Mulliken ve arkadaşlarına⁸ göre allojenik ve heterojenik kemik greftlerinin üstünlüğü, normal şartlarda rezorbsiyon göstermemeleridir. Allojen ve özellikle de heterojenik kemik, immün reaksiyona neden olur ve aylar veya yıllar süren zaman diliminde çok yavaş rezorbe olur.⁹ Bu özellik, bilhassa kemik augmentasyonu yapılan müdahalelerde önem taşır.

Narang ve arkadaşları²⁸ ratlarda yaptıkları çalışmada, tam demineralize allojen kemiğin greft reddine maruz kalmadığı, ancak kısmen demineralize allojen kemiklerde başarısızlıkla sonuçlanan vakalar olduğunu belirtmişler ve bu başarısızlığın nedenini demineralizasyonun tam olmamasına bağlamışlardır.

Heterojen kemik greftinin organik matriksi, insaninkinden antijenik olarak daha farklıdır. Bu nedenle hızlı greft reddini önlemek için daha şiddetli bir kimyasal muameleden geçirilirler. Herhangi bir muamele görmemiş heterogreftler şiddetli iltahabi reaksiyona yol açarlar ve 2 haftaya kadar neredeyse tamamen rezorbe olurlar.^{29,30} Allogreftlerde olduğu gibi ikinci bir operasyon alanı gerektirmemesi ve istenildiği miktarda elde edilebilmesi avantajları iken; faz I osteogenez için canlı hücre içermemesi ve antijenitesini azaltmak için yoğun muamelelere tabi tutulmak zorunda olması dezavantajlarıdır.

4. Kombine greftler: İdeal greft materyali, ilik içeren spongios kemik greftinin özelliklerine sahip olmalıdır. Bununla birlikte, büyük greft blokları hastanın anatomisini

bozabileceği gibi ilik- spongios kemik karışımındaki kadar yüksek konsantrasyonda osteojenik hücre de içermeyecektir. Bu dezavantajları aşmak için greftlerin kombine kullanımı yoluna gidilmiştir. Çok değişik kombinasyonlar denenmiş olmasına rağmen en sık tercih edilen form, allogreftlerle ilik içeren spongios kemiğin kombine kullanımıdır. Çeşitli heterojen kemik greftleri, otojen kemik iliği ile kombine kullanılmıştır.¹⁴ Heterogreft veya allogreft, faz II osteogenezde rol alırken, ilikteki yoğun osteojenik hücreler de faz I osteogenezi indükleyeceklerdir. Ancak bu greft kombinasyonu için de ikinci operasyon gerekecektir.

İlik içeren kemik greftlerinin osteojenik etkisini açıklayan teoriler temel olarak 2 gruba ayrılır: Birinci grup, transplantasyon sonrası ilik hücrelerinin öldüğü ve bunun sonucu olarak da greftin nakledildiği alanda kemik formasyonunun uyarıldığını iddia eden teoriler. İkinci grup ise, ilikte bulunan bazı farklılaşmamış kök hücrelerinin greftleme işleminde canlı kaldığı, nakledildiği ortamda temas ettiği kemiğin etkisi ile osteojenik hücrelere dönüştüğü ve bu hücrelerin de kemik proliferasyonuna öncülük ettiğini iddia eden teoriler.¹⁶

Yeterince kemik iliği elde etmek, yeterli miktarda ilik ve spongios kemik karışımı veya otojen kemik grefti elde etmekten daha kolaydır.¹⁴ Bu durum kombine greftleri avantajlı kılar.

Boyne ve diğer araştırmacıların,^{16,31,32} çalışmaları sonucu otojen spongios kemik ve kemik iliğinin birlikte kullanıldığı kombine greftler, çene rekonstrüksiyonunda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Salama ve Weissman,¹⁰ 28 hastanın kemik defektinde, kemik iliği ile kombine heterogreft uygulamış ve çok iyi sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Kemik iliği ile kombine otojen spongioz kemik yüksek osteojenik potansiyeli, düşük postoperatif morbidite gibi avantajlara sahiptir ve blok halindeki ilik veya kaburga greftleri, mandibulektomi sonrası defektlerin rekonstrüksiyonunda başarıyla kullanılmaktadır.²⁴

Boyne ve James³¹ otojen kemik iliğiyle kombine otogrefti, maksiller sinus tabanının yükseltilmesinde başarıyla kullanmışlardır.

Salama,¹² kemik iliği ile kombine heterogreft (Kiel kemiği) kullanarak 98 hasta üzerinde yaptığı klinik çalışmasında, özellikle iyileşmeyen kırıkların tedavisinde mükemmel sonuçlar elde ettiğini açıklamıştır.

Yeager ve Boyne³³ köpeklerde yaptıkları çalışmada, hayvanların alveol kreterini kemik iliği ile kombine allogreft ile restore etmişler ve konakçının grefti kabulünde büyük bir başarı sağladıklarını belirtmişlerdir.

Kombine greftler, çeşitli materyallerin özelliklerini birleştirmişlerdir ve klinikte kranio-fasiyal rekonstrüksiyonda ve travmatik kemik defektlerinin tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır.³

Kemik iliği ile kombine heterogreftler, çenelerde orta ve büyük boyutlu kistlerin tedavisinde kullanılabilir. Çünkü materyal biyouyumlu, ekonomik, ticari olarak kolayca elde edilebilir ve oda sıcaklığında muhafaza edilebilir.²

Hangi greft materyali kullanılacak olursa olsun, bir kemik greftinin başarısında iyi kanlanma, enfeksiyondan uzak ortam, hareketsizlik ve greftin boyutu gibi faktörlerin de çok önemli rolü vardır. Kistik defektlerde kemik greftlerinin başarısı için kanlanma ve enfeksiyondan uzak ortam daha önemli etken iken; hareketsizlik ve greftin boyutu nisbeten daha az önemli etkendir.²

KEMİK İLİĞİ

Kemik iliği organizmanın önemli bir parçası olup, hematopoezin gerçekleştiği yerdir. Normal şartlarda kemik iliği tarafından kan hücrelerinin üretilmesi organizmanın fonksiyonlarına uygun olarak düzenlenir. Bu organ vücudun gerek duyduğu miktarda hücreyi kısa sürede üretebilir. Gerektiğinde kapasitesini birkaç kat artırarak aktivitesini hızlandırabilir. Kemik iliği uzun kemiklerin medullar kanallarında ve süngerimsi kemiklerin boşluklarında yerleşmiştir. Çıplak gözle incelendiğinde iki tür kemik iliği vardır. Kan hücrelerinden zengin olan kemik iliğine **kırmızı** ya da **hematojen kemik iliği**; yağ hücrelerinin sarı renkte görünmesi nedeniyle, yağ hücrelerinden zengin olan kemik iliğine de **sarı kemik iliği** adı verilir. Yeni doğanda bütün kemik iliği kırmızıdır ve kan hücrelerini üretmede aktiftir. Çocuk büyüdükçe genellikle kırmızı kemik iliği sarı kemik iliğine dönüşür. Ağır kanama ya da hipoksi gibi bazı durumlarda sarı kemik iliği tekrar aktif kırmızı kemik iliğine dönüşür.¹⁷

Kırmızı ilik hematopoetik hücreler ve stromadan oluşur. Hematopoetik kök hücreleri farklılaşarak lenfosit, eritrosit, megakaryosit, granulosit ve monositler'e dönüşürken; stromal kök hücreler ise farklılaşarak osteojenik hücreler, fibroblastlar, endotel hücreleri ve retiküler hücrelere dönüşürler. İlik stroması retiküler hücreler ve endotelial hücrelerin dizildiği medullar sinüsoidlerle birlikte fibrillerden meydana gelmiştir. Kırmızı iliğin genelde hematopoetik ve retikulo-endotelial olmak üzere iki fonksiyonu bilinmektedir. Ayrıca osteoklastların kaynağıdır. İlik, kortikal kemik çevresini besleyen kan damarları için bir yatak oluşturur.

Kemik oluşturma yeteneğine sahip olan osteojenik prekürsör hücrelerin, kemik iliğinin stroması ve endosteal hücreleri arasında bulunduğu gösterilmiştir.³⁴ Bazı otörler iki çeşit osteojenik prekürsör hücre olduğu düşünülmektedir. Bunlar:

a)Belirli osteojenik prekürsör hücreler: Bu hücreler bir kök hücresinin karakteristik özelliklerine sahiptirler. Kendilerini yenileme ve farklılaşarak hücre üretme kapasiteleri vardır. Bunlar sadece ilik stroması ve kemik yüzeylerinde bulunurlar.

b)Uyarılabilen osteojenik prekürsör hücreler: Bu hücreler bağ dokusu çatısında ve dolaşımdaki kanda bulunurlar. Friedenstein, bu hücrelerin bilinmeyen bir kaynaktan kan akımı ve hücre migrasyonu vasıtasıyla iyileşmenin olduğu bölgeye ulaştığını düşünmektedir. Uyarıcı ajan olmaksızın, bu hücreler kemik yapmayacaktır.²⁵

Normal yetişkinde kırmızı ilik sadece iskelette, omuz çevresi kemiklerinde ve ekstremitelerin proksimal parçalarında yer alır. Genç laboratuvar hayvanlarında kırmızı ilik, iskelet boyunca bulunur.²⁵

Kemik Greftlerinde Kemik İliğinin Rolü

Kırmızı ilik otogreft olarak heterotropik bir bölgeye transplante edildiğinde kemik oluşturmaktadır. Goujun tarafından yapılan bu gözlem, takip eden bir çok çalışmayla da desteklenmiştir.^{25,34} Banka kemiklerinin en önemli dezavantajları canlılıklarını kaybetmeleri ve yerleştirildikleri bölgede yeni kemik oluşumu için osteogeneze katkıda bulunmamalarıdır. Bu problemi çözmek ve allojen ve heterojen kemik greftlerinde osteogenez sağlamak amacıyla, otojen kırmızı kemik iliğinin osteojenik potansiyelinin kullanılması önerilmiştir.^{25,35}

Kemik iliği klinikte osteogenezi uyarmak için çeşitli materyallerle birlikte kullanılır. Kemik iliğinin aynı zamanda iyileşmeyen veya geç iyileşen kırıklarda perkutan enjeksiyonu iyileşmeyi hızlandırır. Hayvanlar üzerinde yapılan çok sayıda deneysel çalışmalar otojen kemik iliğinin kemik yapımına katkıda bulunacak osteojenik prekürsör hücreleri içerdiğini göstermiştir.³⁶ Bununla birlikte kemik iliğinin yeni

kemik oluşturabilmesi için, canlılığını kaybetmeden nakledilip çoğalacak ve kemik yapıcı hücrelere dönüşecek ilik hücrelerinden zengin olması gerekir.¹¹

Kırık iyileşmesinde, kortikal kemik grefti uygulanması, iskemi, radyasyon, elektrik stimulasyonu ve ototransplantasyon gibi değişikliklerde, kırmızı ilikte, osteogenez meydana gelir.

Nade ve Burwell,³⁷ otojen kemik iliğinin heterotopik bir bölgeye transplantasyonu sonucunda, deney hayvanlarının %80'inde kemik oluşumu gözlemişlerdir.

Cummine ve arkadaşları,¹⁵ domuzlarda C vitamini eksikliği oluşturarak bunun greft iyileşmesine etkisini incelemişler ve kemik iliği ile kombine greftteki iyileşmenin bozulduğunu görmüşlerdir. Bu nedenle osteogeneziste hücrelerin bulunduğu ortamın da çok önemli olduğu anlaşılmaktadır.

Langer ve arkadaşları,³⁸ araştırmalarında kemik iliğinin konak dokuda çok yavaş rezorbe olduğu ve kemiğin en immünolojik elemanın kemik iliği olduğunu bulmuşlardır.

Son 20 yılda otojen kemik iliğinin:

- a) Otogreft, allogreft ve heterogreft'le
- b) BMP'le (Kemik Morfogenetik Protein) ve
- c) Poroz biodegradable ve biyoaktif seramikler' le kombinasyonu ile ilgili çok

sayıda deneysel çalışmaların bulguları yayınlanmıştır.²⁵

MATERYAL VE METOD

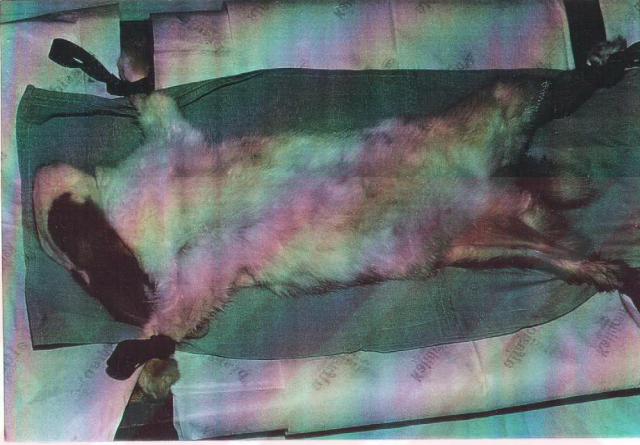
Araştırmamızda, deney hayvanı olarak kiloları 2-3 kg. olan 27 adet Yeni Zelanda cinsi tavşan kullanıldı. Ameliyatlar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D. hayvan ameliyathanesinde, histopatolojik tetkikler ise Tıp Fakültesi Patoloji A. D. da yapıldı. Heterojen kemik grefti olarak Tutoplast Spongiosa Bovine Chips kullanıldı.(Resim 1)



Resim 1: Araştırmada kullanılan heterojen kemik grefti

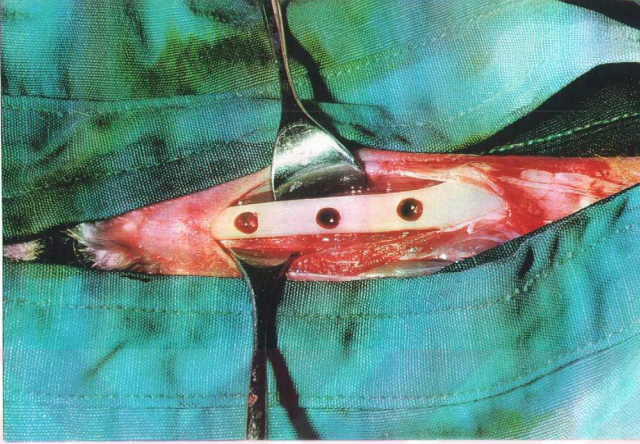
Tavşanlar her bir grupta 9 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldılar. Öncelikle her bir tavşanın sol gluteal kası içerisine operasyondan yarım saat önce Ampisilin/sulbaktam (Alfasid 250 mg.) flakon enjeksiyonu yapıldı. Genel anestezi için, 70 mg./kg. dozda Ketamin hidroklorid (Ketalar 50mg./ml ampul) sağ gluteal kas içine enjekte edildi.

Böylece yaklaşık 45 dakikalık genel anestezi sağlandı. Ketamin enjeksiyonu ile genel anesteziyi takiben, sağ tibia ve femurun alt kısımlarındaki tüyler traşlandı ve hayvan ameliyat masasına sabitlendi.(Resim 2)

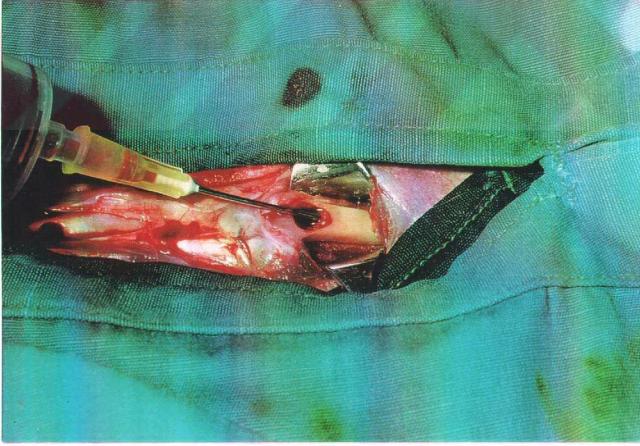


Resim 2: Ameliyatlarda tavşanı sabitlemek için kullandığımız düzenek

Ameliyat alanı Polyvinylpyrrolidone iod kompleksi (Batticon solüsyon) ile dezenfekte edildi ve bölge 2 cc. Articaine Hidroklorid solüsyonu (Ultracaine D-S Forte) ile lokal olarak da uyuşturuldu. 15 numara bistüri ile femurun yaklaşık ortasından, tibianın distal proksimaline kadar cilt insizyonu yapıldı. Cilt ve fasya tabakaları diseke edilerek kas dokularına ulaşıldı. Periost elevatörüyle, kaslar, kemik yüzeyinden ve birbirinden ayrıldı. Kemik tamamen açığa çıkarıldıktan sonra tibia'yı ortalayacak ve birbirlerine yaklaşık 1 cm. mesafede olacak şekilde, rond frez ile 3 mm. çap ve derinliğe sahip üç ayrı defekt açıldı.(Resim 3)

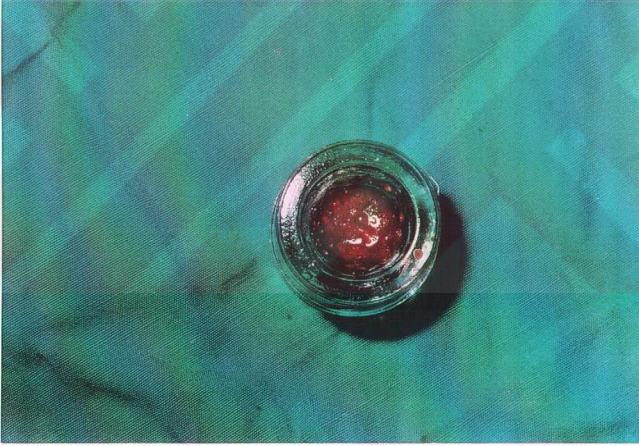


Resim 3: Tibiada oluşturulan defektlerin görünüşü



Resim 4: Femur diafizinden kemik iliğinin aspirasyonu

Kemik yüzeyi ıslak steril spançlarla kapatıldı ve femurun tibia ile eklem yapan alt epifiz kısmı açığa çıkarıldı. Bölgedeki eklemi örten yüzeyel fasya üzerine, femurun genişliği kadar yatay bir insizyon yapılarak eklem kapsülüne ulaşıldı. Eklem kapsülü üzerinde dikey bir insizyon atılarak kemik açığa çıkarıldı. Femurun epifizi ile diafizinin birleşim yerinden bir pencere açıldı. Bu pencereden 20 cc.lik enjektör kullanılarak medullar boşluktan kemik iliği aspire edildi.(Resim 4) Kemik iliği aspire edilir edilmez bekletilmeden, steril cam gode içerisine önceden konulmuş heterojen kemik cipsleri ile karıştırıldı (Resim 5) ve karışım hemen defekte yerleştirildi.

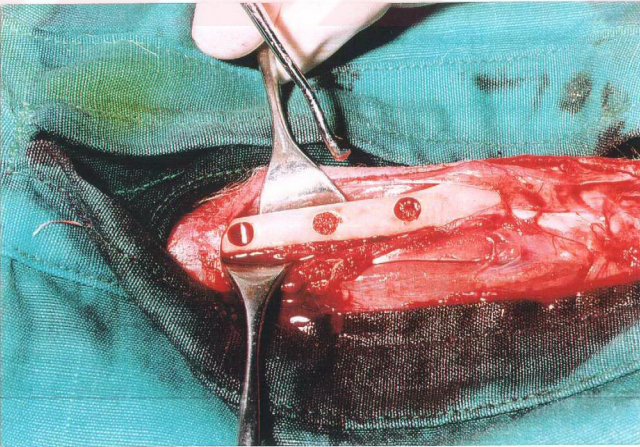


Resim 5: Steril cam gode içerisinde kemik iliği ile kombine edilen heterogreft

Femur epifizindeki pencereden, aynı zamanda spongios kemik de kürete edildi (Resim 6) ve diğer defekte yerleştirildi. Son defekt ise kontrol grubu olarak boş bırakıldı. (Resim 7)

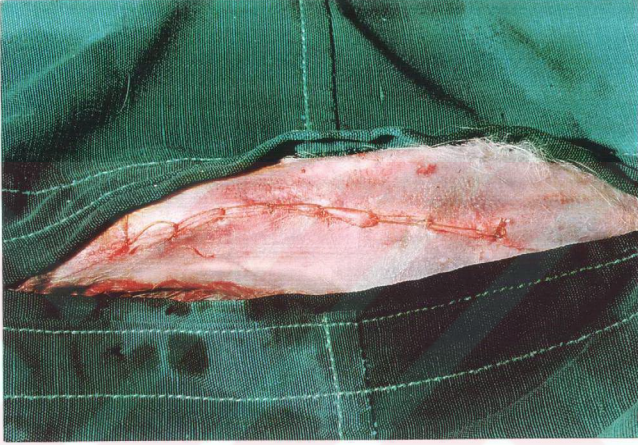


Resim 6: Femurdan otojen spongiöz kemiğin elde edilmesi



Resim 7: Otojen ve kombine greft uygulandıktan sonra defektlerin görünüşü

Takiben önce kas ve cilt altı dokular suture edildi; sonra cilt dikişleri atılarak müdahale bitirildi.(Resim 8)



Resim 8: Operasyon sonunda cilt ve cilt altı dokularının suture edildikten sonraki görünümü

Bölge batticon solüsyonu ile silindi ve hem yarayı kapatması, hem de zayıflamış kemiğe destek olması amacıyla femur ve tibia ayrı ayrı bandajlandı. Tavşanların kulak iç yüzeyine silinmez beyaz tahta kalem ile grup kodları ve ameliyat tarihi yazıldı. Tavşanların hepsine aynı operasyon ve bakım işlemleri uygulandı. Epifize yakın olan defektlerde daha iyi kanlanma olacak ve ortadaki defektlere göre daha hızlı iyileşme ve kemikleşme sağlanacaktı. Bu problemi çözmek için de kontrol defekti ve greftlerin yerlerinin değiştirilmesi planlandı. Bu şekilde 9 adetlik her grupta kontrol grubu ve greftler eşit sayıda üst, orta ve alt defekte yerleştirildi. Yani kontrol defekti, 9 hayvanın

üçünde üst defekt olarak, üçünde orta defekt olarak; son üçünde ise alt defekt olarak kabul edildi. Aynı şekilde greftler de üçer kez her bir defekte uygulandı. Ancak bu yer değiştirme işlemi sadece yukarda bahsedilen hatalı değerlendirmeyi ortadan kaldırmak için planlandı. İstatistiki değerlendirmede bu değişiklik göz önünde tutulmamıştır.

Histopatolojik Çalışmalar

Yaptığımız çalışmada tavşanlar sırasıyla 1., 3. ve 6. haftalarda kurban edildi ve tibiaları çıkarılarak fiksasyon amacıyla % 10 'luk formalin içinde bekletildi. Dekalsifikasyon ve kesit alma işlemlerini kolaylaştırmak için kemikler, her biri bir defekti içine alacak şekilde üç parçaya ayrıldı. Daha sonra parçalar, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Numunelerin % 5'lik formik asitle dekalsifikasyonlarını takiben alkollerden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Parçalar bu haliyle parafin bloklara gömüldü. Bloklar sertleşip iyice katılaştıktan sonra mikrotom ile ilgili lezyon bölgesini içine alan 5 mikronluk sagittal kesitler alındı. Preparatlar histopatolojik inceleme için hematoxilen eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildiler.

Histopatolojik Değerlendirme Kriteri

Elde edilen preparatlar, Lane ve Sandhu ile Heiple ve arkadaşlarının geliştirdiği histolojik puanlandırma sistemi ile değerlendirildi.(Tablo 1) Preparatlar, çalışma hakkında bilgi sahibi olmayan bir patolog tarafından skorlandırıldı. Grupların iyileşme değerleri açısından istatistiki analizleri SPSS 10.0 for Windows programı ile yapıldı. Birinci, üçüncü ve altıncı haftalarda, gruplar arasında (kontrol, otojen kemik grefti ve kemik ilığı ile kombine heterogreft) istatistiksel analiz için nonparametrik test olan Kruskal-Wallis testi, çoklu değişkenlerin analizi içinse Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Tablo 1: Heiple ve arkadaşları ile Lane ve Sandhu'nun geliştirdiği histolojik puanlandırma sistemi tablosu

A-Kaynama (kemikleşme)		D-Kemik iliği	
Kaynama belirtisi yok	0	Hiç bulunmaması	0
Fibröz kaynama	1	Görölmeye başlamışsa	1
Osteokondral kaynama	2	Defektin yarısından fazlasını kaplaması	2
Kemiksel kaynama	3	Kırmızı kemik iliği ile tam kaplanması	3
Kemiğin tam reorganizasyonu	4	Olgun yağlı ilik	4
B-Spongioza		Her bir kategori için mümkün olan maksimum puanlar:	
Kemikte hücresele aktivite yok	0	-Proksimal kaynama	4
Erken yeni kemik oluşum devresi	1	-Distal kaynama	4
Aktif yeni kemik oluşum devresi	2	-Spongioza	4
Reorganize spongioza oluşumu	3	-Korteks	4
Tam olarak reorganize spongioza	4	-Kemik iliği	4
C-Korteks		Toplam	20
Korteksin yokluğu	0		
Erken görölmesi	1		
Şekillenmeye başlamışsa	2		
Çoğu yeniden organize	3		
Tam şekillenme	4		

Not: Bu tabloda hem proksimal hem de distal kemikleşme ayrı ayrı alınarak toplam puanlar hesaplanıp maksimum puan 20 puan üzerinden işlem yapılmıştır. Fakat bizim olgularımız iki uçlu bir kemik uzaması olmayıp tek bir bölgede oluşturulan kemik defekti olmasından dolayı proksimal ve distal değerlerden bir tanesi çıkarılarak maksimum toplam puan 16 üzerinden skorlandırılıp, elde edilen verilerin buna göre istatistiki analizleri yapılmıştır.

BULGULAR

1. Hafta Bulguları: Bir haftalık kontrol grubu, kemikleşme açısından değerlendirildiğinde, genelde osteokondral kaynama gözlenirken bazı olgularda kemiksel kaynamanın gerçekleştiği gözlenmiştir.(Resim 9) Spongioz kemik formasyonu açısından değerlendirildiğinde defektlerin çoğunda aktif yeni kemik formasyonu olduğu gözlemlendi. Bu gruptaki olguların çoğunda kemik korteksi oluşumu gözlenmezken kemik iliği formasyonuna hiç rastlanmadı.



Resim 9: Bir haftalık kontrol grubunda osteokondral kemikleşme (HEx200)

Otojen kemik grefti uygulanan defektler, kemikleşme açısından değerlendirildiğinde genelde osteokondral ve kemiksel kaynama oluşumu gözlemlendi.(Resim 10) Bu grupta yeni spongioz kemik formasyonu ile yeniden organize

spongioz kemik formasyonu izlendi. Kemik korteksi genelde şekillenmeye başlamıştı. Kemik iliği formasyonuna fazla rastlanmadı; ancak olguların sadece ikisinde kemik iliği görülmeye başlamıştı.



Resim 10: Otojen kemik greftinde 1. haftadaki osteokondral kemikleşme (HEEx200)

Kemik iliği ile kombine edilen heterogreftin uygulandığı gruptaki kemikleşme genelde osteokondral seviyedeydi. Bununla birlikte bazı olgularda kemiksel kaynamaya da rastlandı. Spongioz kemik formasyonu açısından değerlendirildiğinde olguların çoğu erken ve aktif yeni kemik oluşumu gösterdikleri, bazı olguların ise yeniden organize spongioz kemik formasyonu gösterdikleri fark edildi. Kemik korteksi bu grupta sadece dört olguda oluşmaya başlamışken, olguların hiçbirinde kemik iliği formasyonuna rastlanmadı. Birinci haftada elde edilen iyileşme skorları Tablo 2’de gösterilmiştir.

Bir haftalık kontrol, otojen kemik grefti ve kemik iliği ile kombine heterogreft

uygulanen kavitelerde, kemikleşme, spongioz ve kortikal kemik formasyonu, kemik iliği oluşumu ve toplam skorlar değerlendirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak (Kruskal-Wallis Test) anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Tablo 3).

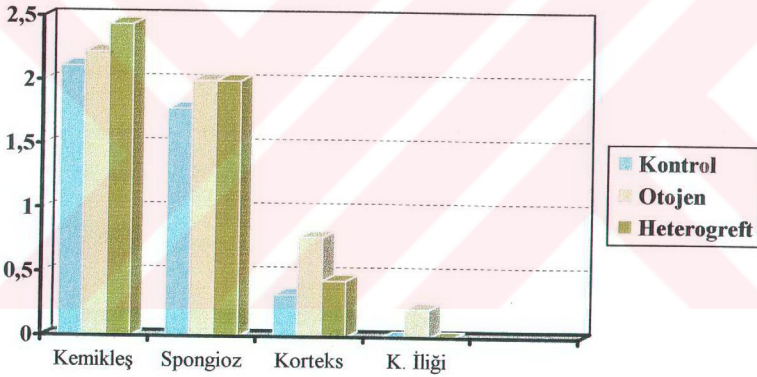
Tablo 2: Bir haftalık iyileşme skorları

1. HAFTA	Kemikleşme	Spongioz	Korteks	Kemik iliği	Toplam
Kontrol	3	2	1	0	6
Kontrol	3	2	1	0	6
Kontrol	2	1	0	0	3
Kontrol	2	2	0	0	4
Kontrol	2	2	0	0	4
Kontrol	2	2	1	0	5
Kontrol	1	1	0	0	2
Kontrol	2	2	0	0	4
Kontrol	2	2	0	0	4
Otojen	3	2	2	1	8
Otojen	2	1	0	0	3
Otojen	3	2	1	0	6
Otojen	3	2	1	0	6
Otojen	2	2	0	0	4
Otojen	2	2	0	0	4
Otojen	1	1	0	0	2
Otojen	2	3	1	0	6
Otojen	2	3	2	1	8
Heterogreft	3	1	0	0	4
Heterogreft	2	1	0	0	3
Heterogreft	2	1	1	0	4
Heterogreft	3	2	1	0	6
Heterogreft	2	3	0	0	5
Heterogreft	3	3	1	0	7
Heterogreft	3	2	0	0	5
Heterogreft	2	2	0	0	4
Heterogreft	2	3	1	0	6

Tablo 3: Kontrol, otojen kemik grefti ve kemik iliği ile kombine heterogreft gruplarının 1 haftalık istatistiksel sonuçları

	Kontrol		Otojen		Heterogreft		P
	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD	
Kemikleşme	2.11	0.60	2.22	0.67	2.44	0.53	>0.05
Spongioz	1.78	0.44	2.00	0.71	2.00	0.87	>0.05
Korteks	0.33	0.50	0.78	0.83	0.44	0.53	>0.05
Kemik iliği	0.00	0.00	0.22	0.44	0.00	0.00	>0.05
Toplam	4.22	1.30	5.22	2.11	4.89	1.27	>0.05

Tablo 4: Bir haftalık verilerin grafiği



3. Hafta Bulguları: Kontrol grubunda kemikleşme, tüm olgularda kemiksel kaynama seviyesindeydi ve yeniden organize olmuş spongioz kemik formasyonuna rastlandı. Olguların çoğunda kemik korteksi şekillenmeye başlamışken bazı olgularda kemik korteksi yeniden organize olmuştu. Kemik iliği genelde görülmeye başlamış olmakla birlikte üç olguda ilik defektin yarısından çoğunu kaplamıştı.

Otojen spongioz kemik grefti uygulanan defektlerin tamamında kemiksel kaynama mevcuttu. Genelde yeniden organize olmuş spongioz kemik formasyonu mevcuttu. Defektlerin çoğunda kemik korteksi yeni şekillenmeye başlamıştı. (Resim 11)

Kemik iliğinin, defektlerin bazılarında yeni görülmeye başladığı, bazı olgularda ise defektin yarısını kapladığı gözlemlendi.

Kemik iliği ile kombine edilen heterojen kemik greftinin uygulandığı gruptaki defektlerin çoğunda kemiksel kaynama gözlenirken, bazı defektlerde osteokondral kaynamaya rastlandı. Olguların çoğunda erken ve aktif yeni spongioz kemik oluşumu gözlenirken, bazı olgularda ise yeniden organize spongioz kemik formasyonu olduğu gözlemlendi. Bu grupta, üç olguda korteks formasyonuna hiç rastlanmazken, diğer olgularda organize olmuş hale kadar farklı seviyelerde gözlemlendi. Kemik iliği formasyonu ise genelde başlangıç aşamasındaydı. Üçüncü haftada elde edilen iyileşme skorları Tablo 5’de gösterilmiştir.



Resim 11: Kontrol grubunda 3. haftada kemik korteksinin şekillenmeye başlaması

Tablo 5: Üç haftalık iyileşme skorları

3. HAFTA	Kemikleşme	Spongioz	Korteks	Kemik iliği	Toplam
Kontrol	3	2	1	0	6
Kontrol	3	3	2	1	9
Kontrol	3	3	2	1	9
Kontrol	3	3	3	2	11
Kontrol	3	3	2	1	9
Kontrol	3	3	3	1	10
Kontrol	3	3	3	2	11
Kontrol	3	3	2	1	9
Kontrol	3	3	2	2	10
Otojen	3	2	1	0	6
Otojen	3	3	2	1	9
Otojen	3	2	1	0	6
Otojen	3	2	1	1	7
Otojen	3	2	2	0	7
Otojen	3	3	2	2	10
Otojen	3	3	3	2	11
Otojen	3	3	2	1	9
Otojen	3	3	2	2	10
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	2	2	1	0	5
Heterogreft	3	3	2	1	9
Heterogreft	3	2	0	0	5
Heterogreft	3	3	2	1	9
Heterogreft	1	1	0	0	2
Heterogreft	2	1	0	0	3
Heterogreft	2	2	1	0	5
Heterogreft	3	3	3	2	11

Üç haftalık sonuçlar karşılaştırıldığında spongioz kemik formasyonu, kortikal kemik formasyonu, kemik iliği oluşumu ve toplam değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak (Kruskal-Wallis Test) anlamlı bir fark olmadığı ($p>0.05$), ancak kemikleşme açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p=0.011$) (Tablo 6).

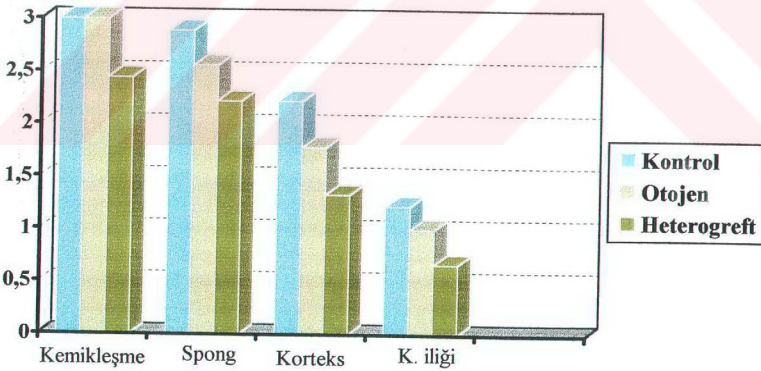
Kemikleşme skorları yönünden istatistiksel farkın hangi gruplar arasında olduğunu tespit edebilmek için Mann-Whitney U testi yapıldı. Test sonucunda, bu farkın kontrol

grubu ve kemik iliği ile kombine heterogreft grupları ($p=0.028$) arasında; aynı zamanda otojen kemik grefti ve heterogreft uygulanan gruplar arasında ($p=0.028$) olduğu görüldü.

Tablo 6: Kontrol, otojen kemik grefti ve kemik iliği ile kombine heterogreft gruplarının 3 haftalık istatistiksel sonuçları.

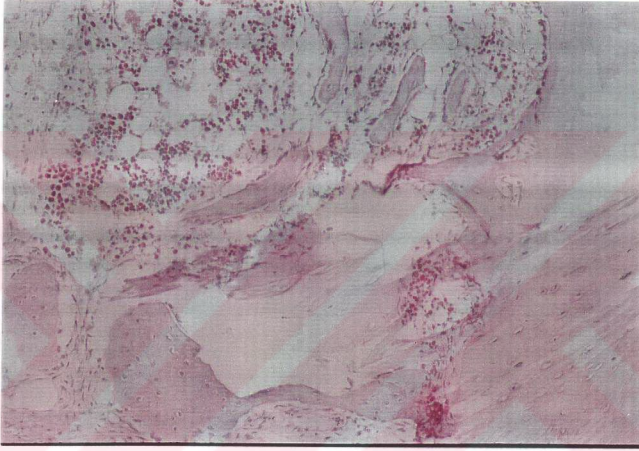
	Kontrol		Otojen		Heterogreft		P
	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD	
Kemikleşme	3.00	0.00	3.00	0.00	2.44	0.73	0.011
Spongioz	2.89	0.33	2.56	0.53	2.22	0.83	>0.05
Korteks	2.22	0.67	1.78	0.67	1.33	1.22	>0.05
Kemik iliği	1.22	0.67	1.00	0.87	0.67	0.87	>0.05
Toplam	9.33	1.50	8.33	1.87	6.67	3.39	>0.05

Tablo 7: Üç haftalık verilerin grafiği



6. Hafta Bulguları: Altı haftalık kontrol grubunda, tüm olgularda kemiksel kaynama gözlemlendi. Ağırlıklı olarak yeniden organize olmuş spongioz kemik

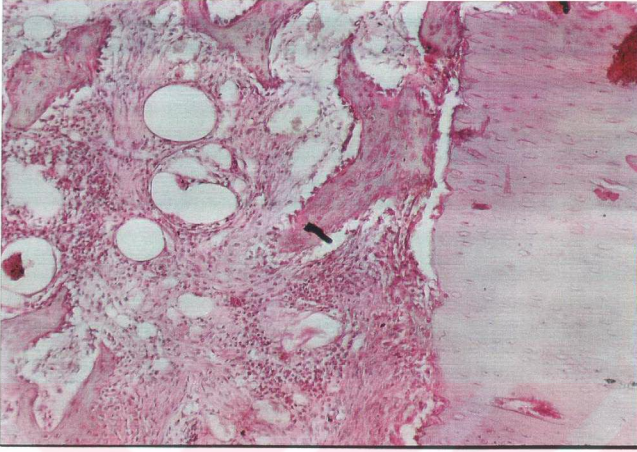
formasyonu mevcuttu. Defektlerin çoğunda kemik korteksi de yeniden organize olmuş ve şekillenmeye başlamıştı.(Resim 12) Kemik iliği bazı olgularda yeni görünmeye başlamışken, bazı olgularda defekt kavitesinin yarısından fazlasını kaplayacak kadar gelişmişti.



Resim 12: Altı haftalık kontrol grubunda kemik korteksinin yeniden organizasyonu

Otojen spongioz kemik grefti uygulanan defektlerin tamamında kemiksel kaynama mevcuttu. Spongioz kemik ve kemik korteksi genelde yeniden organize olmuştu. Kemik iliği birçok olguda defektin yarısından çoğunu kaplamıştı.

Kemik iliği ile kombine edilen heterogreft uygulanan defektlerin tamamında kemiksel kaynama, yeniden organize olmuş spongioz ve kortikal kemik formasyonu gözlemlendi.(Resim 13) Olguların çoğunda kemik iliği defektlerin yarısından çoğunu kaplamıştı. Altıncı haftada elde edilen iyileşme skorları Tablo 9’da gösterilmiştir.



Resim 13: Altıncı haftada kombine greftte organize olmuş spongioz kemik formasyonu

Altı haftalık kemik kaviterlerinde ise gruplar arasında değerlendirilen parametreler açısından (kemikleşme, spongioz kemik formasyonu, kortikal kemik oluşumu, kemik iliği oluşumu ve toplam skorlar) istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0,05$) (Tablo 8) Bununla birlikte altıncı haftada kemik iliği ile kombine heterogreftin daha yüksek iyileşme skorları olduğu gözlemlendi. (Tablo 10)

Tablo 8: Kontrol, otojen kemik grefti ve kemik iliği ile kombine heterogreft gruplarının 6 haftalık istatistiksel sonuçları.

	Kontrol		Otojen		Heterogreft		P
	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD	
Kemikleşme	3.00	0.00	3.00	0.00	3.00	0.00	>0.05
Spongioz	2.67	0.50	2.89	0.33	3.00	0.00	>0.05
Korteks	2.67	0.50	2.78	0.44	2.89	0.33	>0.05
Kemik iliği	1.33	0.71	1.67	0.50	1.78	0.44	>0.05
Toplam	9.67	1.22	10.33	1.12	10.67	0.71	>0.05

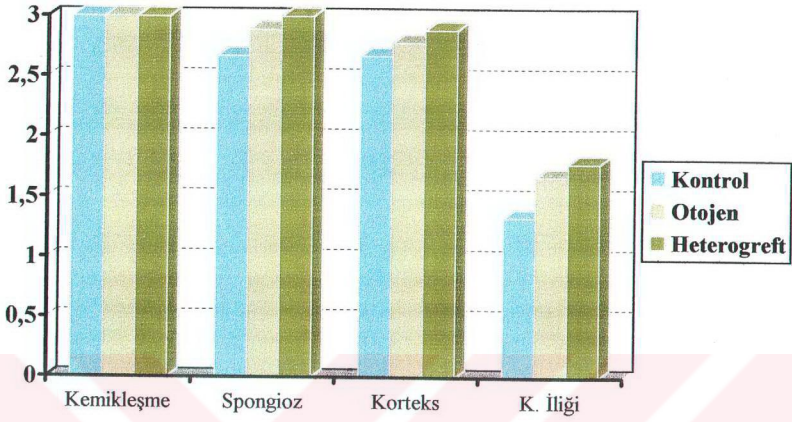
Tablo 9: Altı haftalık iyileşme skorları

6. HAFTA	Kemikleşme	Spongioz	Korteks	Kemik iliği	Toplam
Kontrol	3	3	3	1	10
Kontrol	3	3	2	1	9
Kontrol	3	3	3	2	11
Kontrol	3	2	3	2	10
Kontrol	3	3	2	1	9
Kontrol	3	3	3	2	11
Kontrol	3	2	3	0	8
Kontrol	3	3	3	2	11
Kontrol	3	2	2	1	8
Otojen	3	3	3	2	11
Otojen	3	3	2	1	9
Otojen	3	3	3	2	11
Otojen	3	3	3	2	11
Otojen	3	3	3	1	10
Otojen	3	3	3	2	11
Otojen	3	2	2	1	8
Otojen	3	3	3	2	11
Otojen	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	1	10
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	3	2	11
Heterogreft	3	3	2	1	9

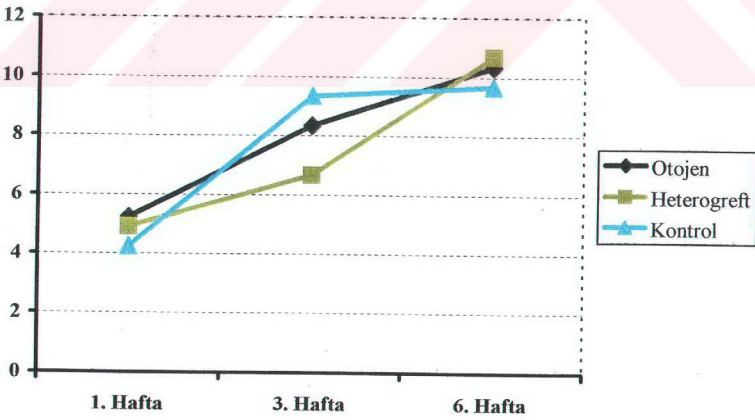
Birinci-altıncı haftalar arasında, grupların toplam iyileşme skorlarındaki değişim

Tablo 11’de çizgisel grafik olarak gösterilmiştir.

Tablo 10: Altı haftalık verilerin grafiği



Tablo 11: Gruplara göre toplam skorların grafiği



TARTIŞMA

Kemik vücutta en sık nakledilen dokulardan biridir. Travma, neoplazm, konjenital malformasyonlar veya enfeksiyonlar nedeniyle meydana gelen defektlerin tamirinde rutin olarak kullanılır.^{1,20}

Otojen kemik greftlerinin sınırlı miktarda elde edilebilmesi, postoperatif morbiditede artış ve grefti elde etmek için yapılan müdahalenin bazen esas müdahaleden daha büyük olması gibi bazı dezavantajları nedeniyle otojen kemik grefti yerine allojen ve heterojen kemik greftleri çeşitli şekillerde kullanılmışlardır. Ancak hiçbir greft materyali, taze otojen kemik grefti kadar ideal iyileşme göstermemiştir.^{3,8,9,13,15,19,20,23}

Yeni kemik yapımı üç yolla olur. Bunlar osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyondur. Osteoindüksiyon, kemik matriksinden serbestleşen bir veya daha fazla indükleyici ajanın etkisi ile mezenşimal hücrelerden gelişen osteoprojenitör hücrelerin yeni kemik yapımını ifade eder.^{13,20,39} Gazdag ve arkadaşlarına³⁹ göre, otojen kansellöz kemik tarafından başlatılan kemik rejenerasyonu 3 major basamakta gelişir. İlk farklılaşmamış osteoprojenitör hücreler işleve başlar. Sonra osteoindüksiyonla bu hücreler osteoklastlar ve kondrositlere farklılaşırlar. Son olarak aktif osteoprojenitör hücreler yeni kemik üretimine başlarlar.³⁹ Reddi ve arkadaşlarına⁴⁰ göre bütün bilinenlere rağmen kemik indüksiyonunun temel biyolojisi hala tam açık değildir. Osteokondüksiyonda kemik matriksi, osteojenik hücre veya kemik yapımını indükleyici ajan içermez. Sadece damarların içine doğru büyümesi için iskelet olarak görev yapar ve greft çevresindeki canlı kemiğin greft içine doğru büyümesi (creeping substitution) şeklinde kemik formasyonunda pasif rol oynar.¹³

Otojen kemik ve ilik greftleri osteoindüksiyon yoluyla kemik formasyonuna katkıda bulunurlar.^{13,20} Heterogreftler ise osteogenezis için canlı hücreler içermezler ve tek başlarına osteoindüktif özellikleri yoktur.^{13,14,20} Bununla birlikte kemik greftleme işleminde başarıya ulaşmak için yeterli osteoindüksiyon sağlanmalıdır.²⁰ Bizim amacımız heterogreftlerin osteokondüktif özelliğine ilaveten kemik iliğinin osteoindüktif özelliklerini eklemek ve birlikte kullanılmalarının kemikleşmeye etkisini karşılaştırmalı olarak incelemektir.

Kemik iliği stromal hücrelerinin, osteojenik prekürsör hücreler olduğunun gösterilmesiyle, otojen ilik greftleri kırıklarda ve kemik defektlerinin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır.^{35,41}

Klasik kitaplarda toz halindeki demineralize greftlerin (75-250 mikronluk) yalnızca kemik desteği gerektirmeyen küçük defektlerde kullanılması önerilirken, küçük kortikal cipsler (850 mikron veya daha küçük) veya spongios cipslerin kistik lezyonlar için; spongios ve kortikokansellöz blokların ise şekil vermesi kolay olduğu ve kemiğe destek olduğu için segmental defektlerde kullanılması önerilmektedir.²⁰

Çalışmamızda heterojen kemik grefti olarak sığır kemiğinden elde edilmiş 1-2 mm. partikül boyutuna sahip spongios kemik mikrocipsleri kullanıldı. Bu greft materyali, düşük miktarlarda (0.5 cc) elde edilebilmesi, küçük, orta ve büyük çaplı defektlerde kullanılabilmesi, nisbeten daha ekonomik olması ve ürün kalitesinin CE onayı ile belgelenmiş olması nedeniyle tercih edildi.

Yaptığımız çalışmada kemik iliğini, Gupta¹⁴ ve Boyne¹⁶ nin tarif ettiği şekilde, femur epifizinde pencere açıp, bu açıklıktan enjektörle aspire ederek elde ettik.

Araştırmamızda uygulanan ameliyat tekniği, Moskow ve arkadaşlarının⁴² çalışmaları ile Ertaş⁴³ ve Güngörmüş⁴⁴ ün tez çalışmaları örnek alınarak belirlenmiştir.

Defektlerdeki iyileşmenin değerlendirilmesinde Heiple ve arkadaşlarının²⁶ kullandıkları histolojik skorlama sistemini kullandık. Böylece kemik iyileşmesini ayrıntılı bir şekilde değerlendirebildik. Nilsson ve arkadaşları⁹ da çalışmalarında bu skorlama sisteminden faydalanmışlardır.

Literatürde greft uygulanan defektlerdeki kemik iyileşmesini değerlendirmek için 4 hafta - 6 ay gibi oldukça değişik zaman aralıkları kullanılmıştır.^{35,45-47}

Simmons ve arkadaşları,⁴⁷ tavşanlarda otojen kemik iliği ile kombine allograftlerin osteojenik potansiyelini araştırmak için yaptıkları çalışmada, hem kombine hem de otojen kemik greftlerinde, transplantasyon sonrası 6. haftaya kadar kemikleşmenin tamamlandığını ifade etmişlerdir.

Reddi ve arkadaşları,²⁰ kemik ve kemik iliği oluşumu ile sonuçlanan olaylar dizisinin, ratlarda 21 günde tamamlandığı; diğer türlerde de kemik formasyonunun benzer şekilde gerçekleştiği; ancak süresinin farklı olduğunu belirtmişlerdir.

Araştırmamızda, kemik defektlerindeki iyileşme 1., 3. ve 6. haftalarda değerlendirilmeye alındı. Neticede kemik iyileşmesinin 6 hafta sonunda büyük ölçüde tamamlanmakta olduğu tespit edildi. Ancak çalışmada elde ettiğimiz iyileşme skorları, tavşanda 6 haftada kemik iyileşmesinin tamamlanmadığını gösterdi.

Heiple ve arkadaşları²⁶ köpek ulnalarında segmental defekt oluşturup, defekt alanına otojen spongios kemik grefti uyguladıkları çalışmada, ilk 1-2 hafta içerisinde greftin periferel bölgelerinde ara sıra canlı ilik içeren alanlara rastladıklarını ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda 1 haftalık kontrol ve kombine greft defektlerinde kemik iliği formasyonuna hiç rastlanmazken, otojen spongios kemik grefti uygulanan defektlerin bazılarında kemik iliği görülmeye başlanmıştı. Heiple ve arkadaşlarının bulgularıyla uyumlu olan bu durum, otojen spongios kemik greftinin iyileşmenin

başlangıcında daha osteoindüktif davrandığını göstermektedir.

Ertas,⁴³ aynı skorlama sistemini kullanarak biyosentetik büyüme hormonunun kemik iyileşmesi üzerine etkisini incelediği tez çalışmasında, bir haftalık kontrol kaviterlerinde kemikleşmeye rastlamamıştır. Bizim çalışmamızda ise birinci haftada hem kontrol hem de greft uygulanan defektlerde, kemikleşme açısından daha yüksek değerler elde edildi. Bu farklılığın, histopatolojik skorlama sistemindeki kemiksel kaynamanın değerlendirilmesinde, defektin tüm alanını kapsayan kemikleşme olarak mı, defektin özellikle sağlam kısımlarında kısmen kemikleşmenin başlaması olarak mı yorumlandığından ve bu farklı yorumların skorlamaya yansımından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Wittbjer ve arkadaşları⁴⁵ tavşanlarda yaptıkları çalışmada, 2.haftada kemik iliği ile kombine otojen kemik uygulanan defektlerdeki kemik formasyonunun sadece otojen kemik grefti uygulanan defektteki kemik formasyonuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ancak 4. Hafta sonuçlarında iki defekt arasında istatistiksel olarak farklılığa rastlamamışlardır. Wittzber ve arkadaşları bu sonuçlara dayanarak greftin canlı otojen kemik iliği ile kombine edilmesi durumunda osteogenezin sadece iyileşme sürecinin başlangıcında hızlandığı sonucuna varmışlardır.

Moskow ve arkadaşları⁴² tavşanlarda aynı tip defekt oluşturarak yaptıkları çalışmada, ilik içeren otojen kansellöz kemik koydukları defektlerde, 3. haftada kavitenin tamamen dolduğunu ve yeni kemik ile tüm yüzeylerin örtüldüğünü görmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda, otojen kemik grefti uygulanan defektlerin tamamında 3. haftada, kemiksel kaynama olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar Moskow ve arkadaşlarının⁴² bulgularıyla uyumlu idi.

Moskow ve arkadaşlarının⁴² aynı çalışmasında, 3. haftada, kontrol defektlerinin tamamında yeni trabekül formasyonu tamamlanmıştı. Bizim çalışmamızda benzer olarak, 3 haftalık kontrol grubunu oluşturan tüm defektlerde, yeni spongioz kemik formasyonunun şekillendiği gözlemlendi.

Reddi ve arkadaşlarına⁴⁰ göre greftlemenin 3. haftasında kemik iliği formasyonu başlamış olmalıdır. Kemik iliğinin osteojenik yeteneğinin greftleme sonrası ilk 2-3 hafta içinde maksimal düzeyde olduğu tesbit edilmiştir.³⁴

Araştırmamızda bir haftalık kontrol, otojen kemik grefti ve kombine greft defektlerinde kemik iliği formasyonuna rastlanmazken, 3. haftada tüm gruplarda kemik iliği formasyonu başlamıştı ve gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık yoktu. Ancak bizim çalışmamızda kontrol grubu kemik iliği formasyonu açısından, otojen ve kombine kemik grefti değerlerini yakalamıştı. Moskow ve arkadaşları⁴² çalışmalarında kontrol grubunda kemik iliği formasyonundan bahsetmemişlerdir.

Araştırmamızda, kemik iliği ile kombine heterogreft uygulanan defektlerin 3. haftasında, diğer gruplara nazaran kemikleşmede gecikme gözlenmekteydi. Bu bulgu, heterojen kemik greftinin kemik iliği ile kombine olsa dahi kemik iyileşmesini yavaşlattığını düşündürülebilir. Bunun bir sebebi de tavşandan otojen spongioz kemik grefti elde etmek için yapılan küretaj esnasında, kemik trabekülleri ile beraber kemik iliğinin de alınması olabilir. Dolayısıyla kemik iliği ile kombine otojen kemiğin, kemik iliği ile kombine heterogreftte göre daha yüksek iyileşme skorları vereceği beklenen bir sonuçtur. Ancak heterogreftin kemik iliği ile kombinasyonu, tek başına kullanımına göre daha iyi ve hızlı kemikleşme sağlar.^{6,14,47}

Simmons ve arkadaşları,⁴⁷ tavşanlarda kemik iliği ile kombine allogreft ve otojen grefti heterotopik olarak yerleştirerek iyileşmeyi karşılaştırmışlardır. Araştırmanın 3.

hafta sonuçlarında kemikleşmenin kompozit greftlerde daha fazla olduğunu görmüşler ve bu durumu da iyileşmenin sadece başlangıcında, kompozit kemik greftinin yeni kemik formasyonunu otojen greftten daha fazla uyardığı şeklinde yorumlamışlardır. Simmons ve arkadaşlarının bulgularıyla uyumayan bu sonucun greftin lokalizasyonu ve uygulamasındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünüldü.

Horowitz ve arkadaşları,² çene kemiğinde kistik defekti olan 20 hastanın tedavisinde, kemik iliği ile kombine heterogreft uygulamışlar ve hastalardan elde ettikleri sonuçlara bakarak osteogenezin daha hızlı ve daha iyi olduğunu söylemişlerdir.

Nilsson ve arkadaşları,⁹ osteogenezin kemik dokusundan değil, kemik iliğinden kaynaklandığını ve osteogenezin seviyesinin de hücre konsantrasyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Kompozit greftlerde yeni kemik formasyonu, muhtemelen sadece otojen ilikten kaynaklanmaktadır.^{10,12} Nade ve Burwell'e göre³⁷ demineralize kansellöz kemik, kemik iliğiyle birlikte kullanıldığında, mineralizasyon için sadece bir iskelet görevi görür. Osbon ve arkadaşları³⁰ da bazı araştırmacıların yüzeyi dekalsifiye edilmiş allojen kemiğin, lokal osteogenezi uyardığı fikrini kabul etmemişler ve osteogenezin kemik iliğinden kaynaklandığını iddia etmişlerdir. Çalışmamız da bu bilgileri destekler mahiyettedir. Çünkü iyileşmenin hemen her döneminde, kemik iliği ile kombine heterogreft, otojen kemik grefti kadar yüksek iyileşme skorlarına sahipti. Heterogreftin tek başına, otojen kemik grefti kadar üstün iyileşme özelliklerine sahip olmadığı açıktır.^{20,22,29,30} O halde iyileşme skorlarında bu artış kemik iliğinden kaynaklanmaktadır. Gupta ve arkadaşları¹⁴ da otojen kemik iliğinin yeni kemik iliği oluşumunu uyardığı ve heterogreft veya allogreftlerle kombine edildiğinde onların osteojenik potansiyellerini artırdığını belirtmişlerdir.

Salama ve arkadaşları,⁴⁶ heterogreftten kimyasal yollarla minerallerin uzaklaştırılmasının yeni kemik formasyonunu azalttığını; organik materyallerin giderilmesinin osteogenezi arttırdığı ve tamamen deproteinize kemiğin otojen ilik ile kombinasyonunun osteogenezis için en uygun karışım olduğunu tespit etmişlerdir.

Araştırmamızda 1. ve 6. haftalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılığa rastlanmamıştır. Bu sonuçlar Simmons ve arkadaşlarının⁴⁷ bulgularıyla uyumludur. Ancak 3. haftada otojen kemik ve kontrol grubunda, kombine grefte göre sadece kemikleşme açısından daha iyi değerler tespit edildi.

Çalışmamızda kemik iliği ile kombine greftin, 6. hafta iyileşme skorları, otojen kemik grefti ve kontrol grubuna göre -istatistiksel olarak anlamsız olmakla birlikte- tüm parametrelerde daha yüksekti. Dolayısıyla kemik iyileşmesinin son safhasında kemik iliği ile kombine greft daha avantajlı konuma gelebilir.

SONUÇLAR

1. Kemik iliği ile kombine heterogreftin iyileşmenin hemen her basamağında otojen kemik grefti kadar yüksek iyileşme değerlerine sahip olduğu gözlemlendi. Kombine greftlerin avantajları açıktır: Teknik atravmatik, basit, ekonomik, zaman kazandırır, otojen greft elde etmek için ilave operasyon gerektirmez, güvenli ve donör alan söz konusu olmadığı için bununla ilgili muhtemel komplikasyonlar da önlenmiş olur. Ayrıca heterogreft, istenilen miktarda sağlanabilir ve basit bir işlemle osteojenik potansiyele sahip olabilir. Otojen ilik heterogreft ile karıştırıldıktan sonra pıhtılaşması önemli olmadığı gibi greftin trabekülleri arasında kalmasına yardımcı olduğu için faydalıdır.

2. Kemik defektlerinin iyileşmesinde, otojen spongios kemik greftlerinin kemik iliği ile kombine heterogreftte göre daha yararlı olduğu sonucuna varıldı. Bunun, içerisinde bulunan ilik yanında trabeküler yapının çatı oluşturmaya ve biyouyumluluğunun daha yüksek olmasına bağlı olduğu düşünüldü. Ancak otojen kemik greftinin miktar olarak yetersiz kalması veya ikinci bir operasyon sahası istenmemesi gibi durumlarda, kemik iliği ile kombine heterogreftin otojen kemiğe alternatif bir greft materyali olacağı sonucuna varıldı.

3. İstatistiksel olarak önemli farklılıklar olmamasına rağmen, iyileşmenin başlangıcında otojen greft; son safhalarında ise kemik iliği ile kombine heterogreft lehine olan iyileşme skorlarının, denek sayısının daha fazla olması durumunda daha net ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verebileceği düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Ellis III E. Surgical reconstructions of defects of the jaws. In Peterson LJ, eds. Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery. St. Louis: CV Mosby, 1998: 680-684
2. Horowitz I, Bodner L: Use of xenograft bone with aspirated bone marrow for treatment of cystic defect of the jaws. Head & Neck 1989; 11: 516-523
3. Khan SN, Tomin E and Lane JM: Clinical applications of bone graft substitutes. Orthop Clin North Am 2000; 31: 389-398
4. Tuncay Ü: Diş hekimliği cerrahisinde kullanılan kemik greftleri. Ege Ün v Diş Hek Fak Derg 1989; 10: 159-163
5. De Boer HH: The history of bone grafts. Clin Orthop 1988; 226: 292-298
6. Dabak N. Otolog kemik iliği greftlerinin defektli kırıkların iyileşmesi üzerine etkisi ve otolog spongioz kemik greftleri ile karşılaştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun, 1990
7. Löfgren H, Johansson V, Olsson T, Ryd L and Levander B: Rigid fusion after cloward operation for cervical disc disease using autograft, allograft, or xenograft. Spine, 2000; 25: 1908-1916
8. Mulliken JB, Glowacki J, Kaban LB, Folkman J and Murray JE: Use of demineralized allogeneic bone implants for the correction of maxillocraniofacial deformities. Ann. Surg. 1981; 194: 366-372

9. Nilsson OS, Urist MR, Dawson EG, Schmalzried TP and Finerman GAM: Bone repair induced by bone morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. *J Bone Joint Surg Br* 1986; 68: 635-642
10. Salama R, Weissman SL: The clinical use of combined xenografts of bone and autologous red marrow. *J Bone Joint Surg Br* 1978; 60: 111-115
11. Marx RE, Snyder RM and Kline SN: Cellular survival of human marrow during placement of marrow cancellous bone grafts. *J Oral Surg* 1979; 37: 712-718
12. Salama R: Xenogeneic bone grafting in humans. *Clin Orthop* 1983; 174:113-121
13. Lane JM, Sandhu HS: Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 213-225
14. Gupta D, Khanna S and Tuli M: Bridging large bone defects with a xenograft composited with autologous bone marrow. *Int Orthop* 1982; 6: 79-85
15. Cummine J, Armstrong L and Nade S: Osteogenesis after bone and bone marrow transplantation. *Acta Orthop* 1983; 54: 235-241
16. Boyne PJ: Autogenous cancellous bone and marrow transplants. *Clin Orthop* 1970; 73: 199-209
17. Aytekin Y. Temel Histoloji. İstanbul: Barış Kitabevi, 1998:132-144
18. Mellonig JT: Alveolar bone induction: Autografts and allografts. *Dent Clin North Am* 1980; 4: 719-737
19. Akal ÜK, Cambazoğlu M: Kistektomi, kronik enfeksiyon bölgelerinin küretajı ve apikal rezeksiyon operasyonları sonucunda oluşan kemik defektlerinde solventlerle dehidrate edilmiş spongioz kemik cipslerinin kullanılması. *Ank. Üniv. Diş Hek Fak Derg* 1995; 22: 103-108

20. Levin LM, Barber HD, Betts NJ, MacAfee KA, Feinberg SE, Fonseca RJ. Bone induction and the biology of grafting. In Fonseca RJ, Davis WH, eds. *Reconstructive Preprosthodontic Oral and Maxillofacial Surgery*. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders, 1995: 41-72
21. Tuncay Ü: Diş hekimliği cerrahisinde kullanılan kemik greftleri. E. Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. 1989; 10:159-163
22. Kornblut AD, Stark TW, Vap JG and deFries HO: The role of autografts, homografts, heterografts, and alloplastic implants in reconstructive head and neck surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 1982; 15: 147-160
23. Burchardt H: Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 187-195
24. Bird JS, Kullbom TL and Quast GL: Subtotal reconstruction of the hemimandible with an autogenous cancellous bone and marrow graft. *J Oral Surg* 1976; 34: 450-452
25. Burwell RG: The function of bone marrow in the incorporation of a bone graft. *Clin Orthop* 1985; 200: 125-141
26. Heiple KG, Goldberg VM, Powell AE, Bos GD and Zika JM: Biology of cancellous bone grafts. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 179-185
27. Burwell RG, Gowland G: Studies in transplantation of bone. III. Immune response of lymph nodes draining components of fresh homogeneous bone treated by different methods. *J Bone Joint Surg Am* 1962; 44: 131
28. Narang R, Wells H and Laskin DM: Experimental osteogenesis with demineralized allogeneic bone matrix in extraskeletal sites. *J Oral Maxillofac Surg.* 1982; 40: 133-141

29. Tauro JC, Parsons JR and Alexander H: Comparison of bovine collagen xenografts to autografts in the rabbit. Clin Orthop 1991; 266: 271-284
30. Osbon DB, Lilly GE, Thompson CW and Jost T: Bone grafts with surface decalcified allogeneic and particulate autologous bone: report of cases. J Oral Surg 1977; 35: 276-284
31. Boyne PJ, James RA and Linda L: Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. J Oral Surg 1980; 38: 613-616
32. Richter HE and Boyne PJ: New concepts in facial bone healing and grafting procedures. J Oral Surg 1969; 27: 557-559
33. Yeager JE and Boyne PJ: Use of bone homografts and autografts marrow in restoration of edentulous alveolar ridges. J Oral Surg 1969; 27: 185-189
34. Paley D, Young MC, Wiley AM, Fornasier VI and Jackson RW: Percutaneous bone marrow grafting of fractures and bony defects. Clin Orthop 1986; 208: 300-312
35. Nade S, Armstrong L, McCartney E, Ceram FI and Baggaley B: Osteogenesis after bone and bone marrow transplantation. Clin Orthop 1983; 181: 255-263
36. Connolly J, Guse R, Lippello L and Dehne R: Development of an osteogenic bone-marrow preparation. J Bone Joint Surg Am 1989; 71: 684-691
37. Nade S, Burwell RG: Decalcified bone as a substrate for osteogenesis. An appraisal of the interrelation of bone and marrow in combined grafts. J Bone Joint Surg Br. 1977; 57: 189-196
38. Langer F, Czitrom A, Pritzker KP and Gross AE: The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone: J Bone Joint Surg Am 1975; 57: 216-220

39. Gazdag AR, Lane JM, Glaser D ve Forster RA: Alternatives to autogenous bone graft: Efficacy and indications. J American Ac Orthop Surg 1995; 3: 1-8
40. Reddi AH, Weintraub S ve Muthukumaran N: Biologic principles of bone induction. Orthop Clin North Am 1987; 18: 207-212
41. Pedüköşkun N: Kemik yerine kullanılabilen materyallerin karşılaştırılması. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bornova, 1991
42. Moskow BS, Gold SI ve Gottsegen R: Effects of scleral collagen upon the healing of experimental osseous wounds. J Periodontol 1976; 47: 596-606
43. Ertaş Ü: Biyosentetik Büyüme Hormonu ve Oktreotid Asetat'ın Tavşanlarda Oluşturulan Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilimdalı, Doktora Tezi. Erzurum, 1999
44. Güngörmüş M: Tavşanlarda Oluşturulan Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerine Heterolog Tip I Kollajenin Etkisinin Histopatolojik ve Radyolojik Olarak İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilimdalı, Doktora Tezi. Erzurum, 1996
45. Wittbjer J, Palmer B, Rohlin M ve Thorgren KG: Osteogenetic activity in composite grafts of demineralized compact bone and marrow. Clin Orthop 1983; 173: 229-238
46. Salama R, Burwell RG ve Dickson IR: Recombined grafts of bone and marrow. J Bone Joint Surg Br 1973; 55: 402-417

47. Simmons DJ, Ellsasser JC, Cummins H ve Lesker P: The bone inductive potential of a composite bone allograft-marrow autograft in rabbits. Clin Orthop 1973; 97: 237-247