



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, GÜLHANE SAĞLIK  
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**OTOJEN KEMİK GREFT UYGULAMASINDA YAĞ GREFTİNİN KEMİK  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Dr. Deniz UYANIK**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA/2018**



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, GÜLHANE SAĞLIK  
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**OTOJEN KEMİK GREFT UYGULAMASINDA YAĞ GREFTİNİN KEMİK  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Dr. Deniz UYANIK**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Sinan ÖKSÜZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA/2018**

## TEŞEKKÜR

Bu tez, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı tarafından bana verilmiş ve otojen kemik greft uygulamalarında yağ greftinin kemik iyileşmesi üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanlık eğitimimde tecrübeleri ve değerli katkılarıyla beni yetiştiren, doğruları öğrenmem adına hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, iyi bir insan ve iyi bir plastik cerrah olabilmem için bana örnek olan, hoşgörüsüyle zor dönemleri atlatmamda büyük pay sahibi ve öğretim üyesi vasfının yanında bir ağabey olarak gördüğüm sayın hocam Doç. Dr. Sinan ÖKSÜZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Asistan eğitim sürecimde bana gösterdiği ilgi, destek ve bilimsel tecrübesini esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Mustafa DEVECİ'ye saygı ve minnetlerimi sunarım.

Altı yıl içinde bir arada çalışma fırsatı bulduğum sayın hocam Prof. Dr. Naci KOSTAKOĞLU'na, Doç. Dr. Umut TUNCEL'e, Yrd. Doç. Dr. Aydın TURAN'a ve birçok acı ve tatlı anıyı yaşadığımız dönem arkadaşım Dr. Mehmet Esat OLGUN'a, ayrıca çok değerli hemşire, klinik personeli ve yanık merkezi personel arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

Plastik cerrahi eğitim süresi boyunca çok fazla zaman geçiremediğim ama desteğini ve sevgisini her zaman yanımda hissettiğim sevgili nişanlım Dr. Ferdi GÜNEŞ'e ve bugüne gelmemde büyük emekleri olan annem, babam ve kız kardeşim Elif UYANIK'a da sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
RESİM LİSTESİ.....	vi
GRAFİK LİSTESİ .....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. TARİHÇE.....	4
2.2. KEMİK DOKUSU .....	5
2.2.1. Kortikal ve Kansellöz Kemik Dokusu.....	5
2.2.2. Primer ve Sekonder Kemik Dokusu .....	7
2.2.3. Kemik Dokusu Hücreleri.....	7
2.2.3.1. Osteoprogenitör hücreler.....	7
2.2.3.2. Osteoblastlar.....	8
2.2.3.3. Osteositler .....	8
2.2.3.4. Osteoklastlar.....	8
2.2.4. Kemik Matriksi .....	9
2.2.5. Kemiği Saran Yapılar .....	9
2.2.5.1. Periosteum.....	9
2.2.5.2. Endosteum.....	10
2.2.6. Kemiğin Vaskülaritesi .....	10
2.2.7. Kemik Oluşumu (Kemikleşme).....	10
2.2.7.1. Enkondral kemikleşme.....	10
2.2.7.2. İntramembranöz kemikleşme .....	12
2.2.8. Kemik İyileşmesi .....	12
2.2.8.1. Primer iyileşme .....	12

2.2.8.2. Sekonder iyileşme .....	13
2.2.9. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler .....	15
2.2.9.1. Lokal faktörler.....	16
2.2.9.2. Genel faktörler .....	17
2.2.10. Kemik Greftler .....	17
2.2.11. Otojen Kemik Greftler .....	18
2.2.12. Otojen Kemik Greftlerinde İyileşme .....	19
2.2.13. Kemik greft iyileşmesini etkileyen faktörler .....	20
2.3. YAĞ DOKUSU.....	21
2.3.1. Yağ grefti .....	21
2.3.2. Yağ Grefti Elde Etme ve Uygulama .....	23
2.3.3. Yağ Greftin İyileşmesi.....	23
2.4. TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA.....	24
2.4.1. Trombositten Zengin Plazma Elde Etme ve Uygulama: .....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	26
3.1. DENEY MODELİ VE GRUPLAR.....	27
3.2. OPERASYON TEKNİĞİ.....	30
3.3. DENEY PROTOKOLÜ .....	31
3.4. DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ .....	32
3.4.1. Radyolojik değerlendirme.....	32
3.4.1.1. Bilgisayarlı tomografi görüntülerin değerlendirilmesi: .....	32
3.4.1.2. Bilgisayarlı tomografide kemik greft dansitelerin değerlendirilmesi	33
3.4.2. Histolojik değerlendirme .....	34
3.4.3. İstatiksel değerlendirme .....	35
4. BULGULAR .....	36
4.1. KLİNİK BULGULAR .....	36
4.2. RADYOLOJİK BULGULAR .....	37
4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA .....	44
6. SONUÇ .....	48
7. KAYNAKLAR .....	49
ÖZGEÇMİŞ .....	59

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ALP</b>	: Alkalenfosfataz
<b>ATP</b>	: Adenozintrifosfat
<b>BMP</b>	: Kemik morfojenetik protein
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı tomografi
<b>cAMP</b>	: Siklik adenozinmonofosfat
<b>EGF</b>	: Epidermal büyüme faktörü
<b>FGF</b>	: Fibroblast büyüme faktörü
<b>PDGF</b>	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
<b>PRP</b>	: Platelet-rich plasma
<b>TFP</b>	: Trombositten fakir plazma
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforme edici büyüme faktörü - beta
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktörü - alfa
<b>TZP</b>	: Trombositten zengin plazma
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b> Görsel analiz için uygulanan skarlama. Modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skarlama kriterlerinden uyarlanmıştır.....	33
<b>Tablo 2:</b> Histopatolojik evreleme kriterleri.....	34



## RESİM LİSTESİ

<b>Resim 1:</b> Kortikal kemiğin morfolojik yapısı. Uzun eksene paralel seyreden Havers kanalları ve eksene dik seyreden Volkmann kanallarının görünümü.....	6
<b>Resim 2:</b> Enkondral kemikleşme.....	11
<b>Resim 3:</b> Yeni zellanda tavşanı .....	26
<b>Resim 4:</b> Tavşan kraniumunda kemik defekt oluşturulması. ....	27
<b>Resim 5:</b> Grup 1’de kemik defekt alanların otolog kemik greft ile onarımı. ....	28
<b>Resim 6:</b> Grupların oluşturulması.....	28
<b>Resim 7:</b> Grup 2’de kemik defekt alanların onarımı + yağ grefti uygulaması. ....	29
<b>Resim 8:</b> Grup 3’de kemik defekt alanların onarımı + TZP uygulaması. ....	30



## GRAFİK LİSTESİ

- Grafik 1:** Gruplara göre kemik dansitesi dağılımı. Tek yönlü varyans analizi  
( $p < 0.05$ )..... 41
- Grafik 2:** Histopatolojik analizin gruplara göre dağılımı. Tek yönlü varyans  
analizi ( $p < 0.05$ ). ..... 43



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Deney grupları ve değerlendirme takvimi..... 32



## ÖZET

Kritik boyutta kemik defektleri organizmada kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki kemik defekti olarak bilinmekte ve tedavisinde çeşitli kemik greft materyallerin kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde kritik boyuttaki kemik defektlerinin tedavisinde altın standart yöntem otojen kemik grefti uygulamalarıdır. Fakat otojen kemik grefti uygulamalarında rezorbsiyon sebebiyle, başlangıçta elde edilen tatmin edici sonuçlar zamanla hacim ve kontur bozukluklarına yol açabilmektedir. Ayrıca defekt boyutlarının fazla olduğu ve alıcı sahada yetersiz vaskülarizasyonun olduğu durumlarda vaskülarize kemik greft uygulamaları ön plana çıkmaktadır. Vaskülarize kemik greft uygulamaları mikrocerrahi teknikler yardımıyla gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem zor olduğu kadar komorbidite ve komplikasyonlarla seyretmektedir. Bu nedenlerle otojen kemik greft uygulamalarında defekt boyutunda azalma sağlayıcı teknikler ve greft inkorporasyonunu artırıcı yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır.

Yağ greftinin bol miktarda barındırdığı mezenkimal kaynaklı kök hücreler morfolojik ve fenotipik olarak diğer kök hücrelerden farklı değildir. Mezenkimal kaynaklı kök hücrelerin adipojenik, osteojenik, kondrojenik, myojenik ve nörojenik hücrelere dönüşüm potansiyeli olduğu gösterilmiştir. Trombositten zengin plazma (TZP) ise organizmanın kendi kanından elde edilen ve konsantre plazma içinde, normal kana göre yüksek oranda trombosit içeren ayrıca içerdiği büyüme faktörleri sayesinde osteogenitör hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşması sağlayan biyolojik bir mediyatördür.

Bu deneysel çalışmada; tavşanlar üzerinde oluşturulan kritik boyutlu kranial kemik defektinin kemik greft ile rekonstrüksiyonunda, yağ grefti ile birlikte uygulanmasının veya plateletten zengin plazma ile birlikte uygulanmasının kemik iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız için tavşan kranial kritik boyutlu kemik defekt modeli seçildi. Deneysel hayvan sarfinin azaltılması için 4000-4500 gr ağırlığında 27 adet yetişkin

Yeni Zelanda cinsi erkek tavşanın sağ ve sol parietal kemik bölgeleri kullanılarak 18'er parietal kemikten oluşan 3 gruba ayrıldı (n=54). Her tavşanın sağ ve sol parietal bölgelerinden alınan 15 mm'lik kemik greftleri ile kritik büyüklükte kemik defekt alanları oluşturuldu. Alınan kemik greftlerin karşılıklı olarak yer değiştirilmesi ile otolog kemik grefti ile onarım sağlandı.

Grup 1 deneklerde kranium kemik defekti sadece otojen kemik grefti ile onarıldı. Grup 2 deneklerde kranium kemik defekti, otojen kemik greft ve tavşanların inguinal bölgelerinden alınan ve 3000 rpm'de santrifüj edilen 1cc yağ grefti ince bir tabaka halinde kemik greft üzerine yerleştirilerek onarıldı. Grup 3 deneklerde ise kranium kemik defekti otojen kemik greft ve otojen kandan hazırlanan 1cc TZP kemik grefti üzerine enjekte edilerek onarıldı.

Cerrahi prosedür sonrasında 2., 6. ve 12. haftada her gruptan üçer adet tavşan sakrifiye edilerek, sağ ve sol parietal kemiklerine uygulanan kemik greftleri histopatolojik incelemeye alındı. Bunun dışında tavşanlara 0. gün, 2. hafta, 6. hafta ve 12. haftalarda 3 boyutlu maksilofasyal bilgisayarlı tomografi yardımıyla radyolojik görüntüleme yapılarak kemik dansitesi hesaplanmıştır.

Histolojik değerlendirme 2. hafta ve 6. haftada en iyi skorun TZP uygulanan Grup 3'te olduğu, 12. haftada ise Grup 1 ve Grup 3'ün, yağ grefti uygulanan Grup 2'ye göre daha iyi histopatolojik iyileşme gösterdiği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Radyolojik değerlendirmede en iyi iyileşme sonuçlarının TZP uygulanan Grup 3'te olduğu görüldü. 12. haftada yapılan 3 boyutlu maksilofasyal tomografi görüntülerinin değerlendirmesinde görsel olarak Grup 1 ve Grup 3'teki tüm tavşanlarda tam iyileşme izlenmiştir. Fakat yağ grefti uygulanan Grup 2'de, 5 tavşanda tam iyileşme izlenmemiş olup, yapılan değerlendirmede en kötü iyileşmenin izlendiği grup oldu.

Çalışmada yağ grefti uygulamasının otojen kemik greft ile kombinasyonunda kemik iyileşmesi üzerine olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. TZP uygulamasının ise kemik greftin iyileşme sürecinin özellikle erken döneminde olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir. TZP kemik iyileşme sürecini hızlandırmış ve diğer gruplara kıyasla daha yüksek kemik dansitesi artışı ile iyileşme sağlamıştır. Çalışmamızda

gördüğümüz TZP uygulamasının olumlu etkileri literatürde mevcut çalışmalar ile uyumlu olup, yağ grefti uygulamasında ise kemik greft osteogenez hattında nekrotik bir bariyer görevi görerek iyileşmeyi olumsuz etkilediği düşünülebilir.



## ABSTRACT

Critical bone defects are known as the smallest bone defects that can not heal spontaneously in the organism and require the use of various bone graft materials in their treatment. Today, the gold standard method for the treatment of critical size defects is "autogenous bone graft" application. However, due to resorption in autogenous bone graft applications, initially satisfactory results may lead to volume and contour disorders over time. In addition, vascularized bone graft applications are at the forefront in cases where the defect size is large and the recipient site has inadequate vascularization. For these reasons, attempts have been made to develop methods to decrease the defect size and to increase graft incorporation in autogenous bone graft applications.

Mesenchymal stem cells stemming from fat grafts are morphologically and phenotypically like other stem cells. Mesenchymal stem cells have been shown to have the potential to be transformed into adipogenic, osteogenic, chondrogenic, myogenic, and neurogenic cells. Platelet-rich plasma (PRP) is a biological mediator that allows the multiplication and differentiation of osteogenic cells by the growth factors of the organism, which are obtained from their own blood and contain high platelets in the concentrated plasma in comparison with normal blood.

In this experimental study, it was aimed to investigate the effects of co-administration of fat graft or co-administration of platelet-rich plasma on bone healing in bone graft reconstruction of critical dimension cranial bone defect on rabbits. A rabbit cranial critical dimension bone defect model was chosen for our study. There were 27 adult New Zealand rabbits weighing 4000-4500 gr, used for their right and left parietal bone zones to reduce experimental animal consumption. 3 groups of 18 parietal bones were separated (n = 54). Large bone defect areas were formed with 15-mm grafts of the right and left parietal regions of his rabbit. The reciprocal bone grafts were replaced for autologous bone graft repair.

In group 1 subjects, the cranium bone defect was repaired only by autogenous bone grafting. Group 2 subjects were repaired by placing a autogenous bone graft and 1 cc fat graft from the inguinal regions which centrifuged at 3000 rpm, lay on cranium bone defect in a thin layer. Group 3 subjects cranium bone defect were repaired by autogenous bone graft and injecting 1 cc PRP prepared from autogenous blood, onto autogenous bone graft.

Histopathological examination of the bone grafts applied to the right and left parietal bones was performed after three rabbits were sacrificed from each group at the 2nd, 6th and 12th week after the surgical procedure. Besides, rabbits were examined radiographically with 3D maxillofacial computed tomography at day 0 and 2, 6, and 12 weeks and bone density was calculated.

Histological evaluation showed statistically that the best scoring at week 2 and week 6 was in group 3 with PRP and at week 12, Group 1 and 3 showed better histopathologic improvement than group 2 with fat graft. Radiological evaluation showed that the best healing results were in Group 3, which was administered PRP. Evaluation of the 3-dimensional maxillofacial tomography images performed at 12th week showed visual improvement in all rabbits in Group 1 and Group 3. However, in Group 2 with fat grafting, no complete healing was observed in 5 rabbits, and the group with the worst healing was observed.

In the study, there was no positive effect of fat graft application on bone healing in combination with autogenous bone graft. PRP application was observed to have positive effects especially during the early period of healing period of bone graft. PRP accelerated bone healing process and improved recovery with higher bone density compared to other groups. We think that the positive effects of the PRP we have seen in our study are compatible with the existing studies in the literature and that fat grafting can be considered as a necrotic barrier in the bone graft osteogenesis line with a negative effect on healing.

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik dokusu; içerdği hücreleri, kanaliküler sistemi, inorganik ve organik yapılardan oluşan matriksiyle, son derece iyi organize olmuş, yapısındaki kalsiyumdan ötürü sertleşmiş bir destek dokusudur (2,3). Yaşam boyu kendini yenileyebilen ve skar oluşturmadan iyileşebilen tek dokudur.

Kemik doku defektleri sıklıkla travmalar olmak üzere, konjenital anomaliler, enfeksiyonlar ve cerrahi rezeksiyonlar nedeniyle oluşmaktadır (1). Küçük kemik defekt alanları sekonder iyileşme mekanizması ile kendilerini onarabilmektedir. Fakat kritik boyut defekti adı verilen organizmanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki kemik içi defektleri, fibröz bir bağ dokusu ile kapanma eğilimindedirler (4). Böyle defektlerin rekonstrüksiyonunda çeşitli biyomateryaller veya kemik greftleri kullanılmaktadır (5).

İdeal bir kemik grefti/biyomateryali; en kısa sürede anatomik forma en uygun kemik iyileşmesi sağlamalı, maliyeti uygun olmalı, ideal boyutlarda temin edilebilmeli, mekanik kuvvetlere karşı dirençli olmalı, istenilen biçimde kolayca şekillendirilebilmeli, defekt bölgesi içinde şeklini ve stabilizasyonunu korumalı, ikinci bir operasyona ihtiyaç duymamalı ve immün reaksiyonlara yol açmamalıdır (5). Günümüzde kullanılan materyaller bu özelliklerin sadece bir kısmını karşılayabilmektedir. Tedavide altın standart halen “otojen kemik grefti” uygulamalarıdır (5). Otojen kemik greftleri vücudun bir bölgesinden alınıp ihtiyaç duyulan farklı bir bölgesine nakledilen ve canlılığını nakledilen bölgenin koşullarına göre oluşturan kemik dokusu olarak bilinir.

Otojen kemik greftin iyileşmesi sırasında stabilizasyonu, periostun varlığı, mekanik stres ve alıcı sahanın vaskülarizasyonu, greftin iyileşmesini etkileyen önemli faktörlerdir. Alıcı sahada vaskülarizasyonun fazla olduğu veya stimüle edildiği durumlarda kemik greftin yaşayabilirliğinin arttığını gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur (6,7).



Yağ dokusu mezenşimal kaynaklı adipositlerden ve “stromal-vascular fraction” denilen fibroblast, düz kas hücreleri, perisit, endotelial hücreler ve periadipositlerden oluşmaktadır (8). Otolog yağ grefti ise hastanın vücudunun bir bölgesinden alınan yağ dokusunun alıcı bölgeye aktarılması işlemidir. Otolog yağ transferi, yağ enjeksiyonu, “liposculpture” gibi isimlendirmeleri mevcuttur (8,9,10).

Yağ dokusu kök hücre içeriği bakımından oldukça zengindir. Kök hücrelerin yağ dokusu içerisindeki varlıkları ise ilk kez Zuc P.A. tarafından 2001 yılında gösterilmiştir. 1 gr yağ dokusunda yaklaşık  $5 \times 10^3$  adipoz kökenli kök hücre bulunur (11). Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada intakt yağ dokusunun %16’sının adiposit, %30’unun kök hücre, %15’inin endotel, %9’unun kan kaynaklı hücrelerden oluştuğu bildirmiştir. (12) Tipik mezenkimal kök hücre özelliği taşıyan adipoz kökenli kök hücreler plastiğe yapışarak çoğalan, multipotent farklılaşma yetisine sahip hücrelerdir. Bu hücreler dokunun ihtiyacına göre kemik, kıkırdak, kas ve yağ hücresine transforme olurlar. Migrasyon özellikleri sayesinde hasarlı dokulara ulaşabilirler. Yağ doku kaynaklı mezenkimal kök hücreleri için pozitif belirteçler; CD9, CD13, CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, CD105, CD106, CD117, CD140b, CD146 ve CD166 olarak, negatif belirteçler ise; CD11b, CD14, CD19, CD31, CD34, CD45, CD79a, CD133 ve CD144 olarak bilinmektedir (120).

Yağ doku kökenli kök hücrelerin ortamdaki büyüme faktörleri ve uyaranlara cevap olarak hem adipositlere hem de vasküler endotelial hücrelere dönüştüğü deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Greft uygulanmasının 2-4. günlerinde yağ dokusu içinde yerleşmiş mast hücreleri ve trombositler TNF- $\alpha$ , VEGF, PDGF, TGF- $\beta$  salgılar (120).

Bir büyüme faktörü olan VEGF, kemik iyileşmesinde anjiogenezi tetiklemesinin yanında osteoblastik ve osteoklastik aktiviteyi düzenleyerek osteogenez yönünde etki sağlayan önemli bir sitokindir.

Yukarıda sıralanan yağ greftinin multifonksiyonel özelliklerinden dolayı ortopedi, plastik cerrahi ve ağız ve çene cerrahisi tarafından kemik iyileşmesi üzerine kısıtlı sayıda da olsa çeşitli çalışmalar yapılmıştır (76,77,83,84), fakat yağ greftinin kemik grefti iyileşmesi üzerine etkisine dair literatürde yeterli çalışma yoktur.

Bu çalışmada kritik boyutlu kemik defektlerinin kemik greft ile onarımında, yağ greftinin osteogenez üzerine olan etkisinin incelenmesi ve daha önce literatürde olumlu etkileri kanıtlanmış olan TZP uygulaması ile kıyaslanması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TARİHÇE

Milattan önce 3000’li yıllarda Güney Amerika’da yaşayan yerlilerin kranial trepanizasyon sonrası gelişen kemik defektlerini metal plaklar ve su kabağı ile onarmaları tarihte saptanan ilk bulgulardır. Kemik defektlerin onarımındaki ilk resmi kayıt ise 16. yüzyılda bir hastaya altın plak ile kranioplasti uygulaması olmuştur (17). 17. yüzyılda Jon Janszoon Van Meekeren tarafından kemik ksenogreft uygulaması yapılmış ve bu uygulama yüzünden hastası kiliseden aforoz edilmiştir (17).

1809 yılında Daniel Merrem kraniumdan çıkartılan kemik dokuların tekrar yerine konulduğunda çevre dokuya tutunma gösterdiğini gözlemlemiştir. Bu bilgiden yola çıkan Paul Bert gibi araştırmacılar deneysel çalışmalara başlamışlardır (18).

1872 yılında Richard von Volkmann, Berlin’de sunduğu bir olguda ateşli silah ile yaralanma sonucu parçalanmış kemik segmentlerin anatomik pozisyonuna yerleştirildiklerinde iyileşme izlediğini belirtmiştir (18).

1912 yılına geldiğimizde Macewen, humeral defekti olan bir çocukta iliak kemik grefti kullanarak başarılı sonuçlar elde etmiştir. Viyanalı bir cerrah olan Michael Barth 1893-1908 yılları arasında yaptığı çalışmalarda kemik greft içerisindeki hücrelerin transplantasyon sırasında büyük oranda canlılığını yitirdiğini ve osseos rejenerasyonun nekrotik kemik greftinin “creeping substitution” ile yer değiştirdiğini ortaya atmıştır. 1914 yılında Dallas B. Phemister tüm dünya üzerinde kabul görmüş olan “The Fate of Transplanted Bone” adlı yazısını yayımlamış ve periostun ve endosteumun transplantasyon sürecinde canlılığını koruduğunu ortaya koymuştur (19). Bu çalışmada periostun önemini yanı sıra kansellöz kemik greftlerin kortikal kemik greftlerine göre surveyinin daha fazla olduğu ve bu durumun poröz yapıları nedeniyle osteoblastların daha iyi difüzyona uğramasıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. 1920 yılından itibaren kemik greft uygulamaların temel prensipleri belirlenmiş ve sıkça uygulanmaya başlanılmıştır. 1960’lı yıllarda

Mowlem tarafından kemik greftin aslında tamamen rezorbe olmadığı ve canlı hücrelerin de taşınmasına imkan tanıyan bir skafold olduğu öne sürülmüştür (20,21).

Kemik greftlerine ait bu görüşler halen güncelliğini korumakla birlikte günümüzde kemik greftlerin inkorporasyonunu arttırmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir.

## **2.2. KEMİK DOKUSU**

Kemik iskelet sistemini oluşturan, kas ve tendonlarla birlikte vücut hareketini sağlayan, toraks ve kranium boşluğunda bulunan önemli organları koruyan, ses iletimini sağlayan, içerdiği hematopoetik sistemle kan hücrelerini üreten, mineral rezervuarı sağlayan özel bir bağ dokusudur (13).

Kemik dokusu mekanik, metabolik, endokrin ve beslenme koşullarına duyarlı olan aktif bir dokudur (14). Yetişkin bir insanda 206 kemik bulunur.

Anatomik şekillerine göre 5 gruba ayrılırlar;

- Uzun kemikler (örn: humerus, radius, femur)
- Kısa kemikler (örn: karpal kemikler, falankslar)
- Yassı kemikler (örn: kalvarium kemikler, skapula)
- Düzensiz (irregüler) kemikler (örn: sfenoid kemik)
- Sesamoid kemikler (örn: patella)

Makroskopik yapısına göre kompakt (kortikal) ve spongiyöz (kansellöz) olmak üzere iki ayrı formu olan kemik dokusu, inorganik ve organik komponentlerden oluşmuştur (15).

### **2.2.1. Kortikal ve Kansellöz Kemik Dokusu**

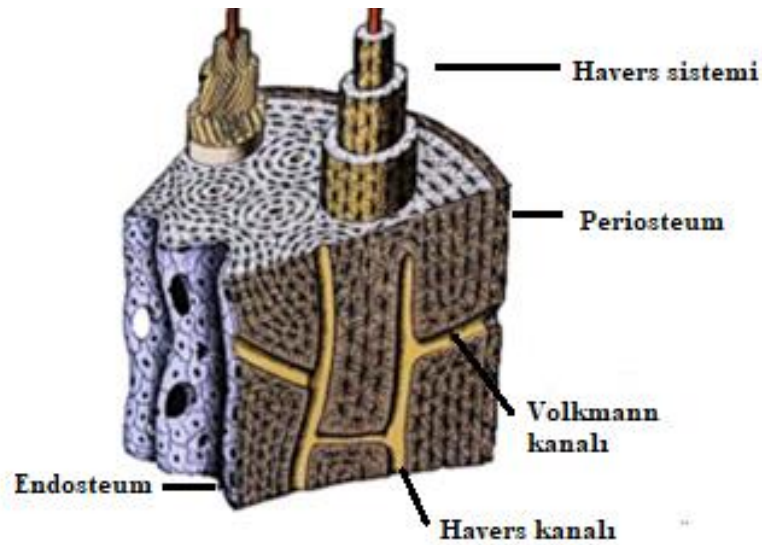
Kortikal kemik; yassı kemiklerin iç ve dış tabakaları ile uzun kemiklerin dış yüzünü oluşturur (15). Sıkı dizilimi olan boşluk içermeyen bir doku olup içerisinde

kemiğe paralel uzanan *Havers kanalları* bulunur. Kollajen liflerin havers kanalları etrafında dairesel şekilde dizilim gösterdiği lameller yapıya *Havers lamelleri* denir. Havers kanalları içerisinde kemiğin beslenmesinde önemli rolü olan vasküler yapılar seyrederek. Bu kanal ve lameller sisteminin oluşturduğu yapıya *osteon* veya *Havers sistemi* denir. Bu sisteme dik uzanım gösteren ve havers kanallarında mevcut vasküler yapılarla ilişki kurabilen bir diğer kanal sistemi ise *Volkman kanalları* adını alır (16) (Resim 1).

Erişkin bir insanın kemik dokusunun %80'ine yakını kompakt kemikten oluşur. Kompakt kemiğin en önemli fonksiyonu bünyesinde barındırdığı mekanik güç olup bu özelliği osteonların sıkı diziliminden kaynaklanır (15).

Kansellöz kemik; uzun kemiklerin metafizinde ve yassı kemiklerin içi kısmında yer alır. Birbirleriyle bağlantılı olan trabeküllerden ve aralarında bal peteği görünümü oluşturan boşluklardan oluşur. Bu boşluklar kemik iliği ile doludur. Havers ve Volkman kanalları yoktur, beslenmesi kanaliküller aracılığı ile sağlanır (15,16).

Mikroskopik olarak incelendiğinde ise aynı yapı taşlarına sahip olmalarına rağmen kollejen dizilişlerinin ve dağılımlarının farklı olduğu iki kemik türü mevcuttur. Bunlar; primer kemik (olgunlaşmamış, birincil veya örgümsü kemik) ve sekonder kemik (olgun, ikincil veya lameller kemik) dokusudur.



**Resim 1:** Kortikal kemiğin morfolojik yapısı. Uzun eksene paralel seyreden Havers kanalları ve eksene dik seyreden Volkman kanallarının görünümü.

### **2.2.2. Primer ve Sekonder Kemik Dokusu**

Primer kemik dokusu immatür kemiktir. Embriyoda, yenidoğanda, kırık kallusunda ve büyüme sürecinde kemiğin metafizer bölgesinde bulunur. Ayrıca yetişkinlerde kafatası yassı kemiklerde, diş alveollerinde ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgelerde de bulunur. Kollajen liflerinin düzensiz sıralanışı, sekonder kemik dokusuna göre daha az mineral içeriğe sahip olması ve daha fazla osteosit içermesi temel mikroskopik özelliklerindedir (21).

Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde görülüp kortikal ve spongiyoz olmak üzere iki farklı yapısal özellikte bulunur. Tipik olarak kollajen liflerin birbirine paralel ya da bir damar kanalının etrafında dairesel olarak yerleşmiş lameller şeklindedir (22).

### **2.2.3. Kemik Dokusu Hücreleri**

Kemik dokusu kemik matriksi ve dört tür kemik hücrelerinden oluşmuştur. Bunlar; mezenkimal kaynaklı osteoprogenitör hücreler, matriksin organik kısmının sentezini yapan osteoblastlar, matriks içinde laküna denilen boşluklara yerleşmiş osteositler ve kemik absorpsiyonu ve remodelizasyonundan sorumlu çok çekirdekli osteoklastlardır (13).

#### **2.2.3.1. Osteoprogenitör hücreler**

Multipotansiyel mezenkimal hücrelerin farklılaşmasıyla ortaya çıkan işçi yapıdaki hücrelerdir. Büyüme sürecinde sürekli aktiftirler. Erişkin dönemde ise travma ve kırık iyileşmesinde tekrar aktifleşen bu öncü hücreler, preosteoblastlara dönüşüm gösterirler. Bu hücrelerden osteoblastlar gelişir (13).

### 2.2.3.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar aktif olarak *osteoid* adı verilen kemiğin organik matriksini sentezlemekle görevlidirler. Kübik şekliinden prizmatiğe kadar değişen bazofilik sitoplazmalı ve yüksek seviye alkalen fosfataz aktivitesi gösteren hücrelerdir. Üretim işlevleri azalmaya başladığında şekilleri yassılaşıp, sitoplazmalarındaki bazofilik özellik kaybolur.

Osteoblastlar kemik matriksinin tip 1 kollajen, proteoglikanlar ve glikoprotein gibi organik bileşenlerini sentezlerler. Etraflarına kemik doku matriksini salgılayarak doku içerisinde yerleşirler ve mineralizasyondan sonra osteositlere dönüşürler (15).

### 2.2.3.3. Osteositler

Olgun osteoblastlardır. Laküna adı verilen boşluklara yerleşmiş olan osteositler, kanalikuli adı verilen küçük bağlantılar ile kan damarları ve diğer osteositler ile ilişki kurarlar. Çevresel faktörlerden etkilenecek şekilde siklik adenosin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve IGF salgılar, bunu takiben öncül osteoblastların sayısı artarak kemikte remodelingi sağlarlar (23,24).

### 2.2.3.4. Osteoklastlar

Kemikte rezorpsiyonu gerçekleştiren, mononükleer fagositer sisteme ait hücrelerdir. Kemikte *Howship lakünası* adı verilen boşluklara yerleşmişlerdir. Osteoklastlar içerdikleri kollajenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemiği rezorbe etmektedirler. Kemik remodelizasyonu sırasında sayısı azalan, rezorpsiyonun arttığı durumlarda ise artan hücrelerdir (15).

Osteoklastlar mineralize kemik matriksini rezorbe ederken, osteoblastlar kemik üretimini yapar ve ömür boyu bu işlevlerini devam ettirerek dengeli bir sistem oluştururlar (23).

#### **2.2.4. Kemik Matriksi**

Kemik matriksi inorganik (%65) ve organik (%35) matriks elemanlarından oluşur. Organik komponent; kollajen lifler (tip 1 ve tip 5), glikozaminoglikanlar, glikoproteinlerden oluşmaktadır. İnorganik komponent ise başta kalsiyum fosfat olmak üzere kalsiyum karbonat, kalsiyum florit, magnezyum florit, magnezyum hidroksit, magnezyum sülfat, sitrat ve karbonat iyonlarından oluşur. Kalsiyum ve fosfat mineralleri hidroksiapatit kristallerini oluşturup, bunlar organik komponentte kollajen fibrinler üzerine çöker ve kemiğe sertlik kazandırır (14).

Kemik ağırlığının yaklaşık %20'si sudur. Kuru kemik ağırlığının ise yaklaşık %60-70'i inorganik komponentten, %30-35'i ise organik komponentten oluşur. Organik matriksin %90'ı Tip 1 kollajen geri kalanı ise proteindir. En sık rastlanan proteinler; osteokalsin, osteopontin, osteonektin ve siyaloproteindir. Gelişmiş bir kemik dokuda kollajen lifler birbirine paralel ve arada porlar bırakacak şekilde dizilmişlerdir. Bu kollajen liflerin aralarına hidroksiapatit kristalleri yerleşmiştir, bu sayede kemik dokunun direnci ve sertliği sağlanır. Eğer kemik doku dekalsifiye edilirse şeklini korur ancak bir tendon kadar esnek hale gelir. Eğer kemik dokuda organik matriksi oluşturan kollajen uzaklaştırılırsa, kemik yine şeklini korur fakat kırılabilir hale gelir (14,26). Kemiğin fonksiyonunu tam olarak yerine getirebilmesi organik ve inorganik matriksin birbiriyle uyum içinde olmasına bağlıdır.

#### **2.2.5. Kemiği Saran Yapılar**

##### **2.2.5.1. Periosteum**

Yapısında fibroblast, kan ve lenf damarları, duyu sinirleri, elastik ve kollajen liflerin bulunduğu, eklem yüzeyleri hariç bütün kemik dokuyu dıştan çevreleyen bağ dokusudur. Periosteum kemiğe *Sharpey lifleri* ile ara lamellere kadar dikey ve yatay şekilde uzanarak bağlanır. İçerdiği kan ve lenf damarları ile kemiğin beslenmesini ve gelişimini sağlar. Kemik tamiri durumunda ise yapısında bulunan hücreler aktifleşir ve iyileşme sürecine katkıda bulunur (14).



### **2.2.5.2. Endosteum**

Endosteum kemik iliği dokusunun devamı olup kemik iliği kavitesini ve kompakt kemikteki kanal sistamini içerden çevrelemektedir. Retiküler bağ dokusundan oluşmuştur. Hematopoetik hücreleri ve kemik doku hücrelerini üretebilme yeteneğine sahiptir (26).

### **2.2.6. Kemğin Vaskülaritesi**

Kemik dokusunun dolaşımı birbiriyle anastomozlarla yakın ilişkide bulunan üç farklı vasküler sistem tarafından sağlanır. Bunlar medullar sistem, metafizyel sistem ve periosteal sistemdir. Medullar sistemde nutrient arter diafiz bölgesini kanlandırmadan sorumludur. Metafizyel sistem kansellöz kemğin baskın olarak bulunduğu metafiz bölgesindeki kanlanmadır. Periosteal sistem kemğin dış kortikalindeki kanlanmadan sorumludur. Bu üç sistemden herhangi birinde bir sorun oluşursa anastomozlar yardımıyla sağlam kalan diğer sistemler baskın hale geçerek kanlanmanın devamlılığını sağlarlar (1).

### **2.2.7. Kemik Oluşumu (Kemikleşme)**

Kemik oluşumu encondral ve intramembranöz kemikleşme olmak üzere 2 şekilde gerçekleşir;

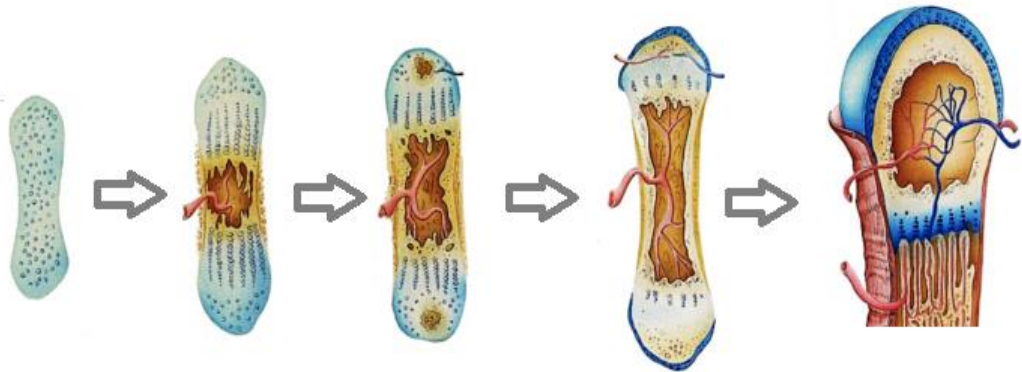
#### **2.2.7.1. Encondral kemikleşme**

Uzun ve kısa kemiklerde görülür. Hyalin kartilaj dokusunun kemik dokusuna dönüşmesi ile gerçekleşir (31).

Encondral kemikleşmede primer ve sekonder ossifikasyon merkezleri oluşur (Resim-2). Primer ossifikasyon merkezinde öncelikle progenitör hücrelerin kondroblastlara farklılaşmasıyla bir kıkırdak çatı oluşur. Bu kıkırdak çatının

perikondriumuna doğru zamanla gelişen vaskülarite artışı iç tabakada bulunan progenitor hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını sağlar. Oluşan osteoblastlar subperikondrial alanda matriks sentezi yaparlar ve kondroblastların yüzeyini kaplayan kemik matriks, kondroblastların dolaşımını bozar, hipertofiyeye uğramalarına ve sonuç olarak ölmelerine yol açar. Osteoklastlar bu esnada aktiflenerek kemik üzerinde vasküler yapıların girişine imkan tanıyan foraminalleri açar. Kan damarları bu deliklerden geçerek osteoprogenitor hücrelerin, kalsiyum ve fosfatın ve hematopoetik hücrelerin içeri doğru taşınmasını sağlarlar. Alkalen fosfataz aracılığı ile kalsiyum ve fosfat tuzları kemik matrikse çökerler ve diafizde bir kemikleşme merkezi ortaya çıkar. Bu olaylar zinciri diafizde ortaya çıkan primer ossifikasyon merkezinin epifiz dışında kalan kemik dokuyu oluşturması ile sonlanır (28,29,30).

Kemikleşme epifize doğru ilerledikçe bu kez epifizde bir sekonder ossifikasyon merkezi oluşur. Her iki odak arasında kemikleşmeye uğramayan bir kıkırdak doku kalır. Buraya epifiz plağı denir. Kemikleşme sürdüğü müddetçe epifiz plağının diafize bakan kısmında kondroblastlar çoğalarak kıkırdak yapının devamlılığını sürdürürken, aşağıda da bu kıkırdak dokusu devamlı olarak kemik dokusuna dönüşüm gösterir ve kemiğin boyuna büyümesini sağlar. Bu süreç epifiz plağının ossifikasyonu ile sonlanır (28,30).



**Resim 2:** Enkondral kemikleşme.

Hyalin kıkırdak yapısındaki çatinın oluşumu sonrası diyafiz bölgesindeki perikondriumda yer alan progenitor hücrelerin osteoblasta farklılaşması ve primer ossifikasyon merkezinin oluşumu gerçekleşir. Daha sonra sekonder ossifikasyon merkezinin oluşumu gerçekleşir ve primer ve sekonder ossifikasyon merkezi arasında epifiz plağı görünür hale gelir. Epifiz plağındaki kondrositler çoğalarak kemiğin boyuna büyümesini sağlar.

### **2.2.7.2. İntramembranöz kemikleşme**

Embriyolojik hayatın 8. haftasında başlar. Bu kemikleşme tipinde vaskülariteden zengin mezenkimal dokunun direkt osteoblastlara farklılaşması ve osteoid üretimi ile gerçekleşir. Osteoblastlar kalsifiye olarak osteositlere dönüşürken, çevre mezenkim doku periost ve endosteuma dönüşüm gösterir (31,32).

Kranial kemikler gibi yassı kemikler ve uzun kemiklerin enine büyümeleri bu tip kemikleşme ile gerçekleşir (32).

### **2.2.8. Kemik İyileşmesi**

Kemik iyileşmesi kırığın oluşmasını takiben başlayan kompleks biyolojik olaylar sonucunda gerçekleşir. Bu süreçte gerçekleşen intrasellüler ve ekstrasellüler olaylar büyüme faktörleri, vaskülarite, oksijenizasyon, pH, hormonlar, elektriksel yoğunluk ve mekanik stabilite gibi pek çok faktörden etkilenir (33).

Kemik iyileşmesi sürecinde skar oluşmayıp iyileşme rejenerasyonla sonuçlanır. Primer iyileşme ve sekonder iyileşme olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Primer iyileşme çok küçük defektlerin iyileşmesi veya rijit fiksasyon uygulanan durumlarda izlenen iyileşmedir, diğer tüm kırık iyileşmeleri sekonder iyileşme formundadır.

#### **2.2.8.1. Primer iyileşme**

Kraniofasyal veya uzun kemik fraktürlerinin anatomik redüksiyonu ve rijid internal fiksasyonu sonrası gözlenen iyileşmedir. Primer kemik iyileşmesi esnasında kallus formasyonu izlenmez, çok az ya da hiç oluşmayan hematoma ve daha az inflamasyon görülür (33).

Primer kemik iyileşme sürecinde ilk basamak canlı kemik segmentleri arasında yer alan nekrotik alanların osteoklastlar ile temizlenmesidir. Osteoklastlar Havers kanallarından geçerek kemik rezorpsiyonuna başlarlar. Osteoklastların

yapmış olduğu bu yıkımın arkasından osteoblastlar vasküler yapıları içeren osteonları oluşturmaya başlarlar. Bu esnada oluşan yeni kemik öncelikli olarak immatür karakter sergiler ve birkaç ay sonrasında matür forma dönüşür (34).

Periost osteoprogenitör hücreler içermesi nedeniyle kemik iyileşmesinde çok önemli role sahiptir. Fakat plaklarla onarım sırasından en önemli dezavantaj periostun serbestleştirilmesi ve periostal kan akımının bozulmasıdır. Bu nedenle plaklarla onarım yapılan kırıklardaki primer iyileşme, sekonder iyileşmeye kıyasla daha geç olmaktadır (33).

### **2.2.8.2. Sekonder iyileşme**

Sekonder iyileşme rijit fiksasyon uygulanmayan kırıklarda izlenen iyileşme tipidir. 3 faz altında incelenir;

- İnflamatuar faz

- Onarım fazı

- Remodelizasyon fazı

a. İnflamatuar faz:

İnflamatuar faz kemik travmasını takiben oluşan ve organize hematoma oluşumu ile sonlanan kemik iyileşme sürecinin birinci evresini oluşturur. Kırık oluşumu ile beraber kemik matrikste hasarlanma, periost ve endosteumda laserasyonlar, hücrelerde nekroz ve kemik kırık uçlarının yer değiştirmesi meydana gelir. Vasküler bütünlüğün bozulduğu kırık alanında osteositlere giden kan akımı azalır ve boş lakünalar, lizis ve piknotik görünümde osteositler oluşur. Kırık alanında kan ve lenf birikimi oluşarak hematoma gelişir. Yaralanma sonrasında hematoma alanı 48 saat içerisinde organize bir hal alıp fibrinden zengin bir yapıya dönüşür. Bu yapı kırık alanında stabilizasyonu sağlarken içerdiği farklı hücrelerden (başta trombosit olmak üzere) salgılanan büyüme faktörleri iyileşme süreci üzerine düzenleyici etkilerini başlatırlar. Hematom kırık iyileşmesinde önemli bir aşamadır, kırık uçlarını

bir arada tutar fakat açık kırıklarda hematoma dışarıya disloke olması iyileşmeyi geciktiren bir durumdur (36).

Travma oluşumunu takiben erken dönemde görülen adrenal deşarjına bağı vasküler odaklarda vazokonstrüksiyon izlenirken, ilk 24 saatte gerçekleşen mast hücre artışı ve histamin salınımı ile vazodilatasyon ve ödem meydana gelir. Daha sonrasında ortama göç eden makrofajlar, lökositler ve lenfositler gibi akut inflamasyon hücrelerin salgıladıkları IL-1, IL-6, TGF- $\alpha$  VE PDGF gibi sitokinler iyileşme sürecinin biyokimyasal yollarında rol alırlar (36). İnflamatuar faz travmanın oluşumunu takiben 1-4. gün arasında sürer.

b. Onarım fazı:

2. gün başlayıp 40. güne kadar devam eden ve primer kallus yapının oluştuğu aşamadır. Onarım fazı hematoma organize olmasıyla başlar. Bu aşamada lokal sitokinlere cevap veren periosteal ve endosteal progenitör hücreler, fibroblast, kondroblast ve osteoblast oluşturmak üzere farklılaşırlar. Bu süreçte travma bölgesindeki kimyasal, mekanik ve elektriksel faktörlerin bir bütün halinde etkileşimi önemli rol oynar. Progenitör hücrelerinin farklılaşmasıyla organize hematoma alanında yumuşak granülasyon dokusu gelişir. Bu granülasyon dokusunda yerleşen fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoid sentezini gerçekleştirirler (35).

Onarım fazının 2-3. gününde anjiogenez oluşmaya başlar. İnflamatuar fazda özellikle ortama göç eden makrofajlar tarafından salgılanan TNF-  $\alpha$ , VEGF, FGF-2, EGF gibi büyüme faktörleri çevredeki endotel hücrelerini uyarmasıyla oluşmaktadır. Anjiogenez her ne kadar erken evreden itibaren oluşmaya başlasa da osteojenik hücre çoğalmasına paralel seyredemez ve geride kalır. Bu yüzden anjiogenezin fazla olduğu progenitör hücrelerde osteoblast gelişimi olurken, kırığın uç kısmında kanlanmanın daha az olduğu bölgelerde kondroblast oluşumu daha ön planda izlenir. Zamanla her iki kırık uçlarda oluşan kırık dokusu birleşir ve kallusun dış kısmını oluşturur. Primer kallus (yumuşak kallus) olarak tanımlanan bu yapı kırık sonrası ortalama 7-12. günlerde ortaya çıkar ve başlıca kırık dokusu, immatür kemik, fibröz doku, osteoid ve yeni oluşan vasküler yapıları içerir (33,35).

Kırık hatları bu primer kallus yapısıyla daha stabil hale gelir. Anjiogenezin kallus içerisine ilerlemesi ve vaskülaritenin artması ile primer kallus yapısı olgunlaşarak sekonder kallusa (sert kallus) dönüşecektir. Fakat bu süreçte primer kallus yapısı içerisindeki proteoglikanların negatif yükü ve vasküler yapıların sahip olduğu sialik asidin negatif yüzü birbirini iten negatif kutuplar olması nedeniyle vasküler yapıların kallus içerisine ilerlemesi zorlaşacaktır. Kalsiyum bu aşamada önemli bir role sahiptir ve osteoidin kalsiyum ile mineralizasyonu ile ortamdaki negatif yükü pozitif çevirir ve yeni vasküler yapıların kallus içerisine ilerlemesine olanak tanır.

Osteoidin mineralizasyonu osteoblastların kollajen sentezlemesi ile başlar ve kollajen lifleri üzerine kalsiyum hidroksiapatit kristalleri çökerek mineralizasyon gerçekleşir. Kollajen çatı üzerinde kalsiyum hidroksiapatit kristallerinin çökmesi osteoid üzerindeki yer alan yüksek konsantrasyondaki kalsiyum, fosfat, cAMP, ATP, ATPaz, kalsiyum bağlayıcı protein, ALP, pirofosfataz ve fosfoserin içeren matriks veziküllerinin deşarj olması ile gerçekleşir (33,34,36).

Kalsifiye olan doku içinde kalan ve difüzyonla beslenen kondroblastlar ölür, yerlerinde lakünalar oluşur. Bu lakünlara vasküler yapılar ve kemik hücreleri ilerlemeye başlar ve olgunlaşan sert kallus dokusu oluşur.

#### c. Remodelizasyon fazı:

Kemik iyileşme sürecinde en uzun süren fazdır (25-100 gün). Bu fazda immatür olan kemik yapısının lamellar kemik formuna dönüşmesi gerçekleşir. Osteoklastik ve osteoblastik aktivite sayesinde sert kallus rezorbe olurken matür kemik yerini alır. Klinik olarak ise ağrı ortadan kalkar ve normal fiziksel aktivite izlenebilir (28).

### **2.2.9. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Başlıca lokal faktörler ve sistemik faktörler olarak iki başlık altında incelenebilir;

### 2.2.9.1. Lokal faktörler

İyileşme sürecinde rol oynayan lokal faktörler travmanın derecesi, kırık uçların birbirine konumu, kırık alanın vaskülaritesi, kırılan kemiğin türü, cilt ve yumuşak doku yaralanması, periost hasarı, kan akımı, enfeksiyon, moleküler etkileşimler gibi değişkenler sayılabilir.

Vaskülarite ile kemik iyileşmesi arasında önemli bir ilişki vardır. Fare deneylerinde epifiz büyüme plaklarında anjiogenezin inhibisyonu ossifikasyonun hasarlaması, radyoterapinin kemik iyileşmesi üzerine olumsuz etkisi anjiogenez ile osteogenez arasındaki bu yakın ilişkiyi ortaya koymaktadır. Kemik iyileşmesi esnasında anjiogenez oluşumunda VEGF ve FGF-2 faktörler kritik rol oynarlar (37).

İyileşme esnasında anjiogenez tetikleyen büyüme faktörleri dışında inflamatuvar hücrelerin göçü, farklılaşması, proliferasyonu ile kallus ve kemik oluşumu sırasında önemli rol üstlenen mikromoleküllerin başlıcaları;

- Kemik morfogenetik proteinler (BMP), TGF- $\beta$  ailesinin bir üyesidir. BMP'ler sinyal peptidi içeren geniş moleküller olarak salınır ve başlıca osteoblastların mitogenezini ve kemotaksisini stimüle eder, progenitör hücrelerin kemik ve kartilaja farklılaşmasına aracılık ederler (37).
- Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), kemik iyileşmesi sırasında osteoblast kemotaksisi ve öncü hücrelerin proliferasyonunda rol oynar (37,38). Osteoklastlar üzerinde inhibe edici etki gösterir ve bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar.
- Platelet derive büyüme faktörü (PDGF), başlıca trombositlerden köken alan, hücrel proliferasyon ve kemotaksis esnasında aktif rol alan bir büyüme faktörüdür. Osteoblastların kemotaksisini, proliferasyonunu artırırken diferansiasyonunu azaltır (37).
- Fibroblast büyüme faktörü (FGF), osteoblast kültürleri üzerinde yapılan in vitro çalışmalarda hücrel proliferasyonu ve kollajen miktarını arttırdığı gösterilmiştir (37).

### **2.2.9.2. Genel faktörler**

Genel faktörler, kişinin komorbidite durumlarından, kullandığı medikal tedavilere kadar geniş bir yelpazeyi kapsar.

Kırık iyileşmesinde yaşın etkisi özellikle periost matürasyonu ile ilişkili olup, genç popülasyonda periost matürasyonu tamamlanmamış olup mezenkimal hücrelerin farklılaşmaları daha hızlı şekilde gerçekleşir (38).

Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi kronik hastalıklarda ve inflamatuvar sistemik hastalıklarda kemikleşmede azalma ve osteoporoz eğiliminde artış görülmektedir.

Hormonlar kemik iyileşme sürecini etkileyen bir diğer sistemik faktördür. Paratiroid hormonun osteoklast sayısını artırıcı ve osteolizisi hızlandırıcı etkisi mevcutken, kalsitonin kompakt ve trabeküler kemik yapımını artırıcı etki gösterir. Kortikosteroidler öncü hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü engellerken kemik matriks sentezini yavaşlatırlar. Steroidler ayrıca FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kemik iyileşme sürecini negatif yönde etkilerler. Bunun dışında insülin, büyüme hormonu, tiroid hormonlar ve östrojen gibi anabolizan hormonlar kemik iyileşmesini stimüle eden hormonlardır (38).

Kişinin nutrisyon durumu ve vitamin düzeyi kemik iyileşmesi esnasında önemlidir. A vitamini normal dozlarda mezankimal hücre farklılaşmasını uyarırken, C vitamini kollajen sentezinde aktif rol alır. D vitamini kalsiyum geçişinde rol alırken. Kemik hücrelerin sitrat üretimini stimüle eder. B6 vitamin eksikliği ve K vitamini antagonistleri kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilerler.

### **2.2.10. Kemik Greftler**

Kemik dokusunun yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşmeyecek en küçük kemik defektine “kritik boyutta kemik defekti” adı verilir (4). Bu tip defektler fibröz bir bağ dokusu ile iyileşme gösterirler. Onarımlarında kemik greft materyallerine ihtiyaç duyarlar.



Kritik boyutlu kemik defektlerin onarımında sıklıkla tercih edilen ve organizmada kandan sonra en sık transplante edilen doku kemik greftleridir. Kemik greftlerini elde etme ve hazırlama özelliklerine göre birçok farklı tipi mevcuttur. Bunların tamamı birbirinden farklı osteokondüktif (alıcı kemikten vasküler yapıların grefte ilerlemesi için, greftin çatı görevi üstlenerek yüzeyinde yeni kemik oluşumunu destekleyebilmesi), osteoindüktif (pluripotent hücrelerin osteoblastik fenotipe transformasyonunu uyarabilme etkisi) ve osteojenik (greft materyali içindeki hücrelerin, transplantasyon sonrası hayatta kalarak, nakledilen alanda yeni kemik oluşturabilmesi) etkiye sahiptirler.

### **2.2.11. Otojen Kemik Greftler**

Kişinin bir bölgesinden alınıp farklı bir bölgesine nakledilen canlı kemik dokusudur. Otojen kemik greftlerde biyouyumluluk en üst seviyede olup immun cevap oluşturmazlar, osteojenik, osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklere sahiptirler. Bu nedenlerden ötürü günümüzde otojen kemik uygulamaları kritik boyutlu kemik defektlerin kemik greft ile onarımlarında altın standart yöntemdir (39). Dezavantajları ise donör saha morbiditesi oluşturması, sınırlı miktarda elde edilmesi, enfeksiyon riski, anestezi süresinde uzama, kanama ve alıcı sahada rezorpsiyon sebebiyle kontür ve hacim bozuklukları ile karşılaşma riskidir (40,41).

Otojen greftler kansellöz, kortikal veya kortiko-kansellöz yapıda olabilirler. Kansellöz kemik greftlerde erken dönemde mekanik destek gücü kortikal kemik greftlerdekenden daha az oranda izlenir. Kansellöz kemik greftler, kortikal greftin sağladığı mekanik destek güce ulaşmak için 6-12 ay arasında bir zamana ihtiyaç gösterirler (42). Kansellöz kemik greftlerin boşluklu yapıları sayesinde vasküler yapıların daha fazla ve daha kolay greft içine ilerlediği görülür. Ayrıca kansellöz kemik greftlerde osteojenik hücreler daha yoğun bulunur (43). Bu yüzden kansellöz kemik greftler hızlı revaskülarize olup tamamen rezorbe olarak yeni kemik oluşumunu yoğun derecede stimüle ederken, kortikal kemik greftlerde rezorpsiyon tam olamamaktadır.

Kansellöz kemik greftlerin osteokondüktif, osteoindüktif ve osteojenik etkileri yüksek olup, kortikal greftlerde iyileşme sürecinde asıl etki ise

osteokondüktif olup, içerisinde yer alan osteoblastlar sayesinde kısmi bir osteojenik etki ve az miktarda osteoindüktif etki oluşmaktadır (44,45). Bu yönüyle kansellöz kemik greftler iyileşme açısından daha yüksek potansiyele sahip olup mekanik destek açısından daha zayıf kalırlar.

Kortikokansellöz kemik greftlerin en büyük avantajı eşit miktarda olmasa bile kortikal greftlerdeki gibi mekanik destek ve kansellöz greftlerdeki gibi osteogeneze de aktif bir etkiden kısmen de olsa eş zamanlı faydalanılmasını sağlamalarıdır (46).

### **2.2.12. Otojen Kemik Greftlerinde İyileşme**

Kemik greftlerinde iyileşme kırık iyileşmesine benzemektedir. Erken dönemde inflamasyon ve ardından granülasyon dokusu oluşumu izlenir. Granülasyon dokusu hem greftin revaskülarizasyonu hem de osteoprogenitör hücrelerin ortama yerleşmesine imkan sağlamaktadır.

Kortikal ve kansellöz kemik greftlerde iyileşme granülasyon aşaması ardından bazı farklılıklar içermektedir (47).

Kortikal kemik greftlerinde kansellöz greftlerden farklı olarak iyileşme osteoklastik aktivite ile başlayıp “creeping substitution” ile devam eder. Osteoklastik aktivite sonucu nekrotik odakların debrtmanı sağlanır ve 1. haftanın sonunda periferel vasküler penetrasyon başlar (48,49). Greft vaskülarizasyonunun tamamlanması 1-2 aya kadar sürebilir. Kortikal greftlerde kansellöz greftler gibi vaskülarizasyon için geniş ve uygun bir yüzey olmaması, osteoklastik aktivite ile neoanjiogenezisin ilerleyebileceği boşlukların açılmasını gerektirir (50). Bir sonraki basamak ise osteoblastik aktivasyondur. Önce immatür kemik dokusu gelişir ve ardından matür kemik dokusu formuna döner.

Kortikal kemik greftlerde erken dönemde görülen osteoklastik aktivite nedeniyle mekanik desteğinin %40'ına varan bir azalma gerçekleşir. 1-2 yıl içerisinde tamamlanan remodelizasyon aşaması sonucu normal kemik direncine ulaşır (51).

Kansellöz kemik greftin iyileşmesinde basamaklar inflamasyon fazından sonra osteoblastik aktivasyonla devam eder. Artan osteoid üretimi mekanik destek gücün artışı da sağlar. Vasküler penetrasyon 2. gün başlar ve bunun için osteoklastik aktivasyona ihtiyaç duyulmaz. Kansellöz greftlerde revaskülarizasyon 2. haftada tamamlanır ve oluşan immatür kemik formunun “creeping substitution” ile matür kemik halini alması uzun zaman alır (47).

### **2.2.13. Kemik greft iyileşmesini etkileyen faktörler**

- Mekanik stres; kemik greftin iyileşmesi süresince fizyolojik dozlarda mekanik stres kemik depozisyonu ve hipertrofisine yol açar (47).
- Fiksasyon; uygun fiksasyon mekanik stresin aktarılmasına izin verir, revaskülarizasyonun daha hızlı gelişmesini sağlar. Yapılan çalışmalarda fiksasyon uygulandığı durumlarda kemik greftin yaşayabilirliğinin artmış olduğu gözlemlenmiştir (52,53).
- Periost; kemik greftlerine periostun dahil edilmesi revaskülarizasyonu artırır ve içerdiği öncül hücreler sayesinde osteogenezisi hızlandırır (54).
- Alıcı saha; greft inkorporasyonu için alıcı sahanın vaskülaritesi çok önemlidir. Örneğin doku genişletici uygulanıp vaskülaritesi artmış bir alanda greft canlılığının arttığı, radyoterapi görmüş ve vasküler yapıların hasarlanmış olduğu bir zeminde ise greft yaşayabilirliğinde azalma olduğu gösterilmiştir (55).
- Greft oryantasyonu; yapılan çalışmalarda greftin yerleştirilmesi esnasında kansellöz kısmın alıcı kemikle doğrudan temas ettiği, periostal yüzeyin ise yumuşak dokulara baktığı durumlarda greft inkorporasyonunun artmış olduğu gözlemlenmiştir (56,57).
- Embriyolojik köken; 1951 yılında Peer yaptığı bir çalışmada encondral kökenli kemik greftlerde fibröz doku gelişimi saptarken, membranöz kökenli kemik greftlerde fibröz doku gelişimi olmadığını gözlemlemiştir (58). Araştırmacılar membranöz kökenli kemik greftlerde yaşayabilirliğin

daha fazla olmasını erken revaskularizasyonla ilişkilendirmiş olup bazı çalışmalar ise embriyolojik kökenin kemik greftlerin yaşayabilirliğinde bir etkisinin olmadığını saptamışlardır (59,60).

### **2.3. YAĞ DOKUSU**

Mezenkimal kök hücreler multipotent özellikte olup gestasyonun ilerleyen dönemlerinde kondroblast, adipoblast ve osteoblast gibi mezenkimal öncü hücrelere farklılaşırlar. Adipoblastlar moleküler ve çevresel uyaranların etkisiyle preadipositlere ve daha sonra kaskadın son basamağı olan adipositlere dönüşürler. Matür yağ dokusu adipositler ve stromal vasküler komponentten meydana gelen mezenkimal kaynaklı bir yağ dokusudur (64). Stromal vasküler hücre komponenti fibroblastlar, kan hücreleri, makrofajlar, mezenkimal kök hücreler, preadipositler ve endotel hücrelerinden oluşmaktadır. Yapılan araştırmalar yağ dokusunda bulunan mezenkimal kök hücrelerin, kemik iliği kökenli kök hücreler kadar proanjiojenetik özelliğe sahip olduğu ve yağ dokusunun kemik iliğine göre 100 kat daha zengin kök hücre içeren bir rezervuar olduğunu ortaya koymuştur (61-63).

#### **2.3.1. Yağ grefti**

Otolog yağ grefti uygulaması 19.yüzyıla kadar uzanmakta olup ilk kez Neuber tarafından 1893 yılında Alman Cerrahi Topluluğu kongresinde sunulmuştur (65). 1980'li yıllarda Yves-Gerard Illouz ve Pierre Fournier sağlıklı bireylerin karın ve uyluğundan yağ dokusunu uzaklaştırmak için liposakşın işlemini tarif etmişlerdir ve çok daha az skar dokusu bırakarak yağ dokusu toplayabilmenin mümkün olduğunu göstermişlerdir. Bu sayede otolog yağ grefti uygulaması hızla popüler bir girişim olmaya başlamıştır (66,67). 1987 yılında Coleman yüze yağ transfer etmeye başlamış ve olumlu deneyimlerini aktarmıştır. Yağ greftinin sağladığı değişikliklerin uzun dönemde korunduğu ve yağ greftinin kalıcı olduğunu gözlemleyen Coleman kendine ait tekniği literatüre sunmuştur (68). Coleman'ın tekniğinde alınan yağ grefti santrifüj edilerek sıvı haldeki yağ, kan ve diğer sıvı bileşenler ayrıştırılarak, hem

greft sağkalım oranını arttırdığını hem de ön görülebilir sonuçlar elde edilebildiğini belirtmiştir (69).

Günümüzde otolog yağ grefti kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Kolay uygulanabilir olması, istenilen miktarda elde edilebilme olanağı, immunojenik olmaması, yabancı cisim reaksiyonuna yol açmaması, aşırı duyarlılık reaksiyonuna yol açmaması, hacim artışı yanında deri kalitesinde düzelleme sağlayabilmesi, doğal görünüm ve doku yapısına yüksek uyum sağlayabilmesi yağ grefti uygulamasının en önemli avantajlardır. Otolog yağ greftinin en büyük dezavantajı ise greft rezorpsiyonunun tahmin edilememesidir. Literatür incelendiğinde otolog yağ grefti yaşayabilirlik oranları %20-90 arasında çok geniş bir dağılım göstermektedir (70).

Yağ greftinin klinikte kullanım alanı çok geniştir. Özellikle otolog yağ enjeksiyonu plastik cerrahide çok yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Estetik cerrahide hem kontur restorasyonu hem de gençleştirmede çok sık kullanılmakta olup yumuşak doku defektlerinde, radyoterapi ya da yanık skarlarının kalitesini arttırmada, kronik ülserler, faringoplasti hatta dupuytren kontraktüründe dahi kullanımı mevcuttur (71-75). Literatürde rastladığımız kemik iyileşmesinde yağ grefti uygulaması ile ilgili yapılan çalışmalarda yağ greftinin çoğunlukla çeşitli implantlar veya osteojenik materyallerle birlikte uygulandığı görülmektedir (76,77). Kemik greft uygulamasıyla ilgili ise daha çok greft üzerine adipoz kaynaklı kök hücrelerin uygulanması ile ilgili çalışmalara rastlanmaktadır (78-82). Literatürde kemik greft uygulamasının yağ grefti uygulaması ile kombine yapıldığı çalışmalar yetersiz olup genellikle kemik defektlerin üzerine yağ grefti uygulaması yapıp kemik iyileşme süreci izlenmiştir. Oliveira'nın yaptığı bir deneysel çalışmada tavşanlarda oluşturduğu kritik boyutta kemik defekt bölgesine fragmente yağ grefti yerleştirmesi sonucu 15. ve 40. gün kontrol grubuna göre kemik matriks depositlerin artmış olduğunu göstermiştir (83). Juhani E. Merikanto tarafından yapılan başka bir çalışmada ise kranial kemik defekti oluşturulan tavşanlarda, yağ dokusunun osteogenezisi olumsuz etkilediği gösterilmiştir (84). Maksilla rekonstrüksiyonu yapılan ve kemik greft ile pediküllü yağ flebinin kombine uygulandığı hastalarda ise yağ dokusunun kemik iyileşmesi üzerine olan etkisinden çok fasyal simetri ve estetik

sonuçlar üzerine olan olumlu etkilerin değerlendirildiğini görüyoruz (85,86). Sonuç olarak görülmektedir ki kemik greft iyileşmesi üzerine yağ greftinin işlevselliği konusunda literatürde yeterli çalışma mevcut değildir.

### **2.3.2. Yağ Grefti Elde Etme ve Uygulama**

Yağ grefti elde etmede birden fazla farklı yöntem mevcuttur. İlk uygulanan yöntemde alınan yağ grefti herhangi bir işleml uygulamadan doğrudan alıcı alana yerleştirilmiştir. Fakat bu yöntemde görülen yağ grefti vaskülarizasyon sürecinde, damarlanma periferden başlar ve santralde vaskülarizasyon yetersiz kaldığı için nekroza gitme ihtimali yüksektir. Yağ greftinin kesici alet yardımıyla kıyılması tekniği ise yağ dokusunda yüzey alanını arttırıp vaskülarizasyon sürecinin daha hızlı gelişmesini ve rezorpsiyonun azalmasını amaçlamıştır. Günümüzde kullanılan yöntem ise vakum yardımıyla yağ greftinin alınması ve çeşitli santrifüj ya da süzme işlemlerinden geçirildikten sonra alıcı alana enjeksiyon uygulamasıdır (87).

Yapılan çalışmalarda cerrahi olarak alınan yağ dokusunun sağ kalımı vakum ile elde edilen yağ dokusunun sağ kalımına göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Günümüzde yağ greftlerinin ne kadar miktarda rezorpsiyona uğrayacağının bilinmemesi en önemli dezavantajlarıdır. Güncel çalışmalarda yağ grefti rezorpsiyon oranı %20-90 gibi geniş bir aralıktadır olduğu bildirilmektedir. Yağ greftinin kalıcılık süresi ise 3 ay ile 8 yıl arasında değişmektedir (88).

### **2.3.3. Yağ Greftin İyileşmesi**

Alınan yağ greftinin alıcı sahaya aktarılması ile tüm greftlerde de görüldüğü gibi damarlanması kesintiye uğrar. 24 saat sonra alıcı alana makrofaj, histiyosit, multinükleer dev hücrelerin ve nötrofillerin gelmesi ile hücresel debris temizlenir. Tıpkı deri greftlerinde olduğu gibi yağ greftlerinde de ilk 3 gün beslenmenin plazmatik imbibisyon ile gerçekleştiği düşünülür. Çalışmalarda yağ greftinde anjiogenezin alıcı alana aktarıldıktan 2-4 gün sonra başladığı, bazı çalışmalarda ise

vaskülarizasyon sürecinin 7-21 gün sürdüğü gösterilmiştir (88). Adipositler bu ara dönemde değişen oranda iskemiye maruz kalmakta ve bu iskemi sonucu oluşan inflamatuvar süreçte yağ greftinde nekroz, fibrozis veya yağ kistleri oluşmaktadır.

Yağ greftlerinde sağ kalım erken vaskülarizasyonun gerçekleşmesine bağlıdır. Erken dönemde görülen rezopsiyon nedeni iskemi sonucu gelişen nekroz iken, geç dönemde kayıpların sebebi apoptoza bağlı adipositlerin azalmasıdır (89). Yağ greftlerinin küçük boyutlarda nakledilmesi iskemi süresini kısaltıp, vaskülarizasyon sürecini hızlandırdığı için inflamatuvar süreci de azaltmaktadır (90). H. Suga ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada ratların inguinal yağ yastıkçıkları çevre dokulardan ve femoral arterden disekt edilerek ayrıştırılmış ve parsiyel oksijen basıncı %20'ye kadar düşürülmüştür, sonuç olarak 28. günde yağ dokuda iskemiye bağlı fibrozis ve atrofi ile karşılaşmıştır. İskemiye bağlı hasar gören hücreler çoğunlukla adipositler, vasküler endotelial hücreler ve kan hücreleri olmuştur. Fakat bunlara rağmen iskemi altında yağ doku kökenli kök hücrelerin ise canlı kaldığı ve doku onarımı için sayılarının arttığı gösterilmiştir (91).

#### **2.4. TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA**

Trombositten zengin plazma (TZP) otolog kandan elde edilen ve trombositlerin konsantre halde bulunduğu küçük hacimde bir plazmadır. Trombositler aktive olduğunda alfa granüllerinde depolanmış biyomoleküller degranüle olup ortama temel büyüme faktörleri salgılanır. Bu biyomoleküllerden başlıcaları; adeziv proteinler, pıhtılaşma faktörleri ve ilişkili proteinler, fibrinolitik faktörler ve ilişkili proteinler, proteaz ve antiproteazlar, büyüme faktörleri, sitokin ve kemokinler, antimikrobial moleküller ve membran glikoproteinleridir (91).

Salgılanan büyüme faktörleri yara iyileşme ve doku onarımı sürecinde etkin rol oynarlar. Bunlardan başlıcaları; trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet derived growth factor: PDGF), doku büyüme faktörü (Tissue growth factor  $\beta$ : TGF- $\beta$ ), vasküler endotelial büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor: VEGF) ve epitelial büyüme faktörü (Epithelial growth factor: EGF)'dür. Bu faktörler doku rejenerasyonunu, neoanjiogenezisi ve hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu uyarırlar (92,93).

Ayrıca TZP invitro ortamda fetal osteoblast benzeri hücrelerin rejenerasyon ve fonksiyonelliğini arttırıp, mezenkimal kök hücrelerin ortama göçünü sağlamaktadır.

PDGF hücre proliferasyonunu uyarır ve güçlü bir kemoataktandır. TGF- $\beta$  kemik iyileşmesinde rolü olan iki halkalı bir polipeptittir. VEGF ve EGF güçlü anjiogenik faktörler olup endotelial hücre proliferatörleridirler. Trombosit içerisindeki büyüme faktörlerinin yara iyileşmesi ve kemik iyileşmesi üzerine etkileri 1990'lı yıllarda keşfedilmiş ve yapılan deneysel çalışmalarda olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (94-97).

#### **2.4.1. Trombositten Zengin Plazma Elde Etme ve Uygulama:**

Trombositten zengin plazma elde etmek için alınan kan örneği santrifüj edilmelidir. Bunun için farklı santrifüj hızları tanımlanmıştır ki buradaki amaç kan bileşenlerini ayırtmaktır. Santrifüj sonrası en altta kırmızı kan hücreleri ve onun üstünde lökositlerin olduğu tabaka, onun da üstünde ise 'buffy coat' denilen ve trombositten zengin olan katman bulunur (98). TZP elde edilirken donörden alınan antikoagüle edilmiş kan santrifüj edildiğinde 3 tabaka ortaya çıkmaktadır. En altta kırmızı kan hücrelerinden zengin tabaka, en üstte plazma (trombositten fakir plazma) ve ortada trombosit ve lökositlerden oluşan katman bulunur. Ortada yer alan bu katman dikkatli şekilde enjektörle çekilip uygulama için hazır hale gelir. Pek çok çalışmada TZP'ye eklenen çeşitli aktivatör maddeler sayesinde trombositlerin aktivasyonu yapılarak uygulama yapılmıştır. Bazı çalışmalarda ise aktivatöre gerek olmadığı ve travma alanında trombositlerin aktive oldukları belirtilmiştir (99).

TZP alıcı sahaya enjekte edilerek veya direkt olarak uygulanabilir. Trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde depolanmış halde bulunan büyüme faktörleri, trombositlerin aktivasyonu ile degranüle olur. İlk 1 saat içinde büyüme faktörlerinin %95'i ortama salınır. Bu ilk salınım sonrasında trombositler hayat döngüleri olan 7-10 gün boyunca büyüme faktörü ve diğer proteinlerin salınımına devam ederler. TZP içindeki büyüme faktörleri metabolik olayların akışını hızlandırır, kök hücrelerde farklılaşmayı tetikler ve iyileşmeyi hızlandırır (100,101).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayının alınmasını takiben 2016 HADYEK-40 nolu proje altında yürütüldü (Ek-1,2). Deney hayvanlarının kullanımında Helsinki Deklarasyonu'na ve Avrupa Konseyi'nin önerdiği şartlara uyuldu.

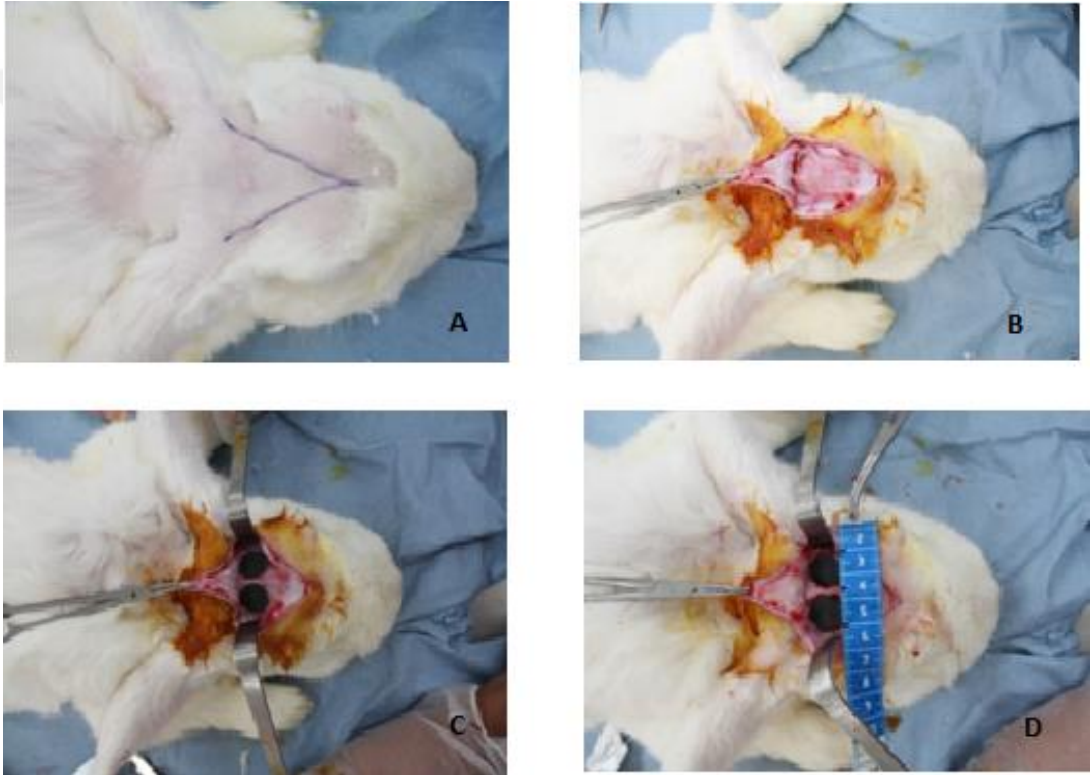
Deney hayvanlarının üretimi, temini, bakımı ve çalışmanın cerrahi bölümü Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Birimi Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma için 4000-4500 gr ağırlığında 27 adet erkek Yeni Zelanda tavşan kullanıldı (Resim 3). Tavşanlar her birine uygun, ayrı kafeslerde,  $23 \pm 1$  °C sıcaklıkta, 12 saat karanlık/12 saat aydınlık ortam şartlarında barındırıldı. Çalışma esnasında deney hayvan sarfını azaltmak amacıyla tavşanların sağ ve sol parietal kemikleri kullanılmak üzere her hayvandan 2 adet örneklem elde edilecek şekilde planlama yapıldı.



**Resim 3:** Yeni zellanda tavşanı

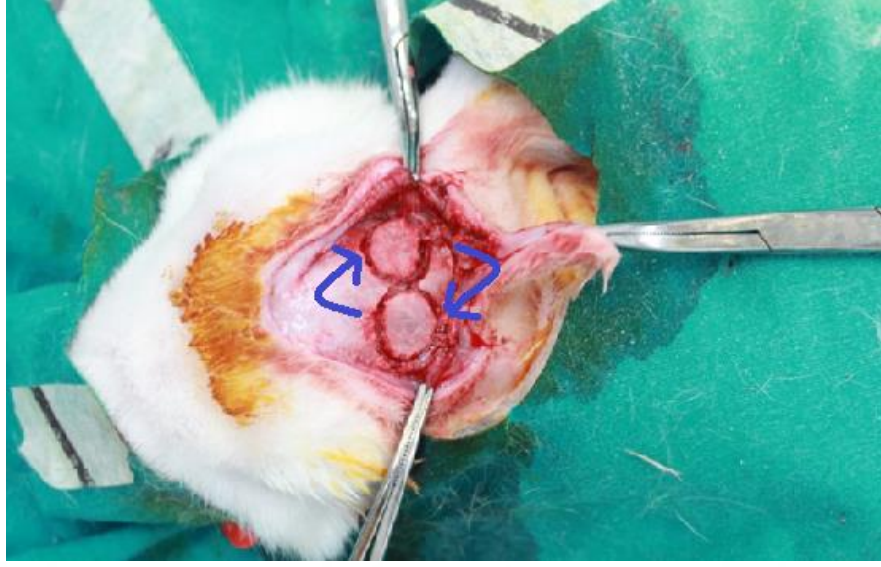
### 3.1. DENEY MODELİ VE GRUPLAR

Çalışma içerisinde yer alan bütün tavşanlarda parietal kemikte kritik büyüklükte (15 mm) kranial kemik defekt modeli oluşturuldu (Resim 4). Bunun için parietal kemik tamamen ortaya koyulduktan sonra sagittal sütür hattın sağ ve sol tarafından 15 mm çapında yuvarlak kemik segment çıkartıldı. Çıkartılan kemik segmentler kemik greft olarak hazırlandı; sağ parietal bölgeden çıkartılan kemik segment sol taraf defektin onarımı için, sol parietal bölgeden çıkartılan kemik segment sağ taraf defektin onarımı için kullanıldı (Resim 5).



**Resim 4:** Tavşan kraniumunda kemik defekt oluşturulması.

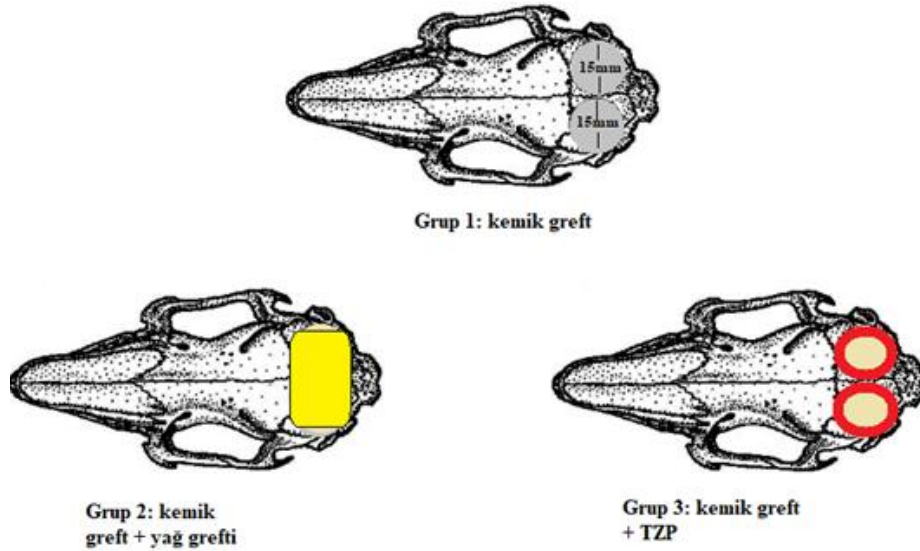
**A:** İnsizyonun çizimi **B:** Parietal kemiğin eksplere edilmesi **C:** Kemik defekti oluşturulacak alanın 15mm çapında 2 adet yuvarlak siyah karton kalıp ile gösterilmesi. **D:** Oluşturulan kemik defekt boyutlarınının 15 mm çapında siyah karton kalıplar ile doldurularak gösterilmesi.



**Resim 5:** Grup 1'de kemik defekt alanların otolog kemik greft ile onarımı.

Cerrahi aşamada ek olarak grup 2 içerisinde yer alan 9 tavşanda sağ ve sol parietal kemik greft ile onarım yapılan alan üzerine yağ grefti uygulaması ve grup 3'teki 9 tavşanda kemik greft ile onarım yapılan sağ ve sol parietal kemik alan bölgesine TZP uygulaması yapılmıştır.

Grupların sınıflandırılması cerrahi aşamada kemik greft uygulaması ardından uygulanan veya uygulanmayan işlemler doğrultusunda yapıldı (Resim 6).

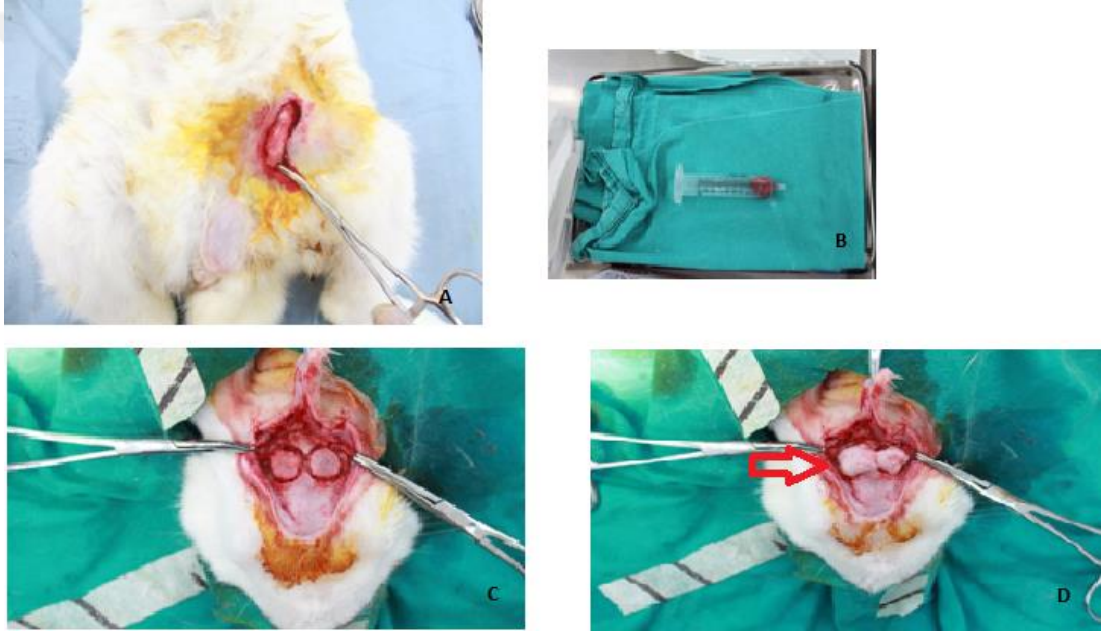


**Resim 6:** Grupların oluşturulması.

**Grup 1:** sadece kemik greft ile defekt onarımı (n:9). **Grup 2:** kemik greft + yağ grefti ile defekt onarımı (n:9). **Grup 3:** kemik greft + TZP ile defekt onarımı (n:9)

**Grup 1:** Tavşanların sağ ve sol parietal bölgelerinden alınan 15 mm'lik kemik greftleri ile kritik büyüklükte defekt alanları oluşturuldu. Alınan kemik greftlerin karşılıklı olarak yer değiştirilmesi ile defekt alanda otolog kemik grefti ile onarım sağlandı (Resim 5).

**Grup 2:** Tavşanların sağ ve sol parietal bölgelerinden alınan 15 mm'lik kemik greftleri ile kritik büyüklükte defekt alanlar, alınan kemik greftlerin karşılıklı olarak yer değiştirilmesi ile onarıldı. Ardından tavşanların inguinal bölgelerinden alınan ve 3000 RPM de santrifüj edilen 1cc yağ grefti ince bir tabaka halinde kemik greft üzerine yerleştirilerek kapatıldı (Resim 7).



**Resim 7:** Grup 2'de kemik defekt alanların onarımı + yağ grefti uygulaması.

A: İnguinal yağ yastıkçığının alınması. B: Santrifüj edilen yağ grefti. C: Tavşan kraniumunda kemik defektlerin otolog kemik greft ile onarılması D: Kemik greftleri üzerine yağ grefti uygulaması.

**Grup 3:** Tavşanların sağ ve sol parietal bölgelerinden alınan 15 mm'lik kemik greftleri ile kritik büyüklükte defekt alanlar, alınan kemik greftlerin karşılıklı olarak yer değiştirilmesi ile onarıldı. Ardından tavşanların otojen kanından hazırlanan 1cc TZP kemik grefti üzerine direk uygulanarak kapatıldı (Resim 8).



**Resim 8:** Grup 3’de kemik defekt alanların onarımı + TSP uygulaması.

**A:** Kemik greftlerin hazırlanması. **B:** TSP kiti (KFDA Class III Approved for PRP Collection, NeoGenesis.) **C:** elde edilen 1 cc TSP. **D:** TSP’nın uygulanmış hali.

### 3.2. OPERASYON TEKNİĞİ

Cerrahi işlemler genel anestezi ve steril şartlar altında gerçekleştirildi. Tavşanların genel anestezisi 0,5 ml/kg Ketamin (Ketalar, Parke-Davis, Morris Planis, NJ) ve 1ml/kg Ksilazin (Alfazyne, %2 solution, Woerden, Netherlands) kombinasyonu ile sağlandı. Anesteziyi takiben kranium bölgesi traş edilerek, batikon (%10 povidonyodin poliyot) ile cerrahi saha dezenfekte edildi ve steril örtüler ile kapatıldı. Cerrahi işlemde steril aletler kullanıldı. Kafa derisine yapılan yaklaşık 3 cm uzunluğundaki V şeklindeki insizyonla girilerek, subperiostal alanda uygulanan diseksiyonla tüm parietal bölge ortaya konuldu. Her iki parietal kemikte birbirine simetrik olacak şekilde 15 mm çaplı dairesel defektler oluşturuldu. Bu amaçla daha önceden planlanıp hazırlanmış olan 1 cm çaplı ve yaklaşık 3 mm yüksekliğe sahip el matkabı ile uyumlu olabilecek metal bir uç kullanıldı. Böylece el matkabı yardımıyla altta duramater zedelenmeyecek şekilde tam kat sirküler defektler meydana getirildi. Defektler oluşturulurken elde edilen parçalar otojen kemik grefti olarak çalışmada kullanıldı (105).

Grup 1’de oluşturulan kranium kemik defekti sadece otojen kemik grefti ile onarıldı. Sağ taraftan alınan kemik greft sol taraftaki defekte, sol taraftan çıkartılan

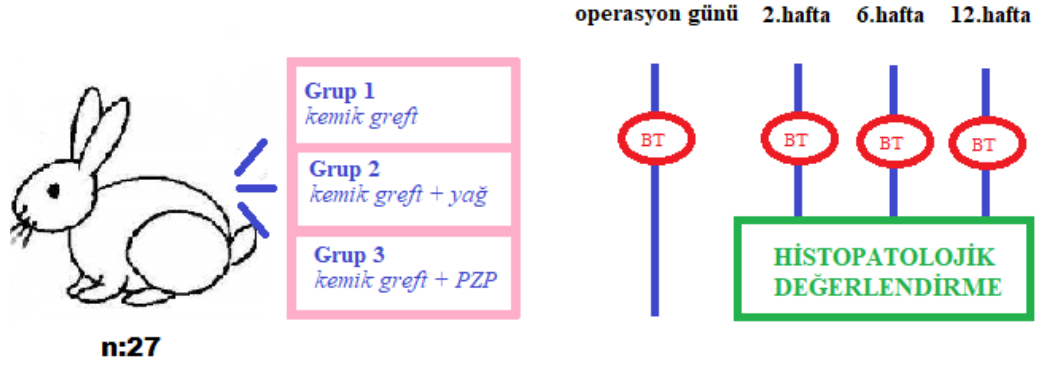
kemik greft sağ taraftaki kemik defekt alanına yerleştirildi. Ardından periost ve yumuşak doku 6/0 prolenle sütüre edilerek defekt bölgesi kapatıldı. Grup 2’de kranium kemik defekti otojen kemik grefti ile aynı teknikle onarıldıktan sonra tavşanların inguinal bölgelerinden yapılan 1 cm’lik insizyon ve ardından yapılan diseksiyonla eksplere edilen yağ dokusu greft amaçlı alındı ve 3000 RPM de santrifüj edilip 1cc yağ grefti ince bir tabaka halinde kemik greft üzerine yerleştirildi. Periost ve yumuşak doku kemik greft ve yağ greftin üzerine dikkatli şekilde örtülerek 6/0 prolenle sütüre edilip kapatıldı. Grup 3’te ise kranium kemik defekti otojen kemik grefti ile aynı teknikle onarıldıktan sonra tavşanların her iki kulak veni de kullanarak ve Ca-sitrat ile yıkanmış vakumlu enjektörler yardımıyla 6-8 cc otojen kan alındı. Kan alınma işlemi sonrası zaman kaybetmeden TZP kitinin içinde mevcut olan tüplerin her birine (BD Vacutainer® CPT™ Cell Preparation Tube) otojen kan atravmatik şekilde dolduruldu. Takiben santrifüj cihazına yerleştirilerek (Elektro-Mag M615E) 3200 RPM de 8 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj sonrası tüplerde oluşmuş olan TZP, TFP ve eritrosit tabakalarının birbirinden ayrıştığı gözlendi. Bunların içerisinde dumanlı görünüme sahip olan TZP tabakası spinal ponksiyon iğneleri ile ayrıştırıldı. 6-8 cc kana karşılık yaklaşık 1 cc TZP’nin elde edildiği gözlendi, daha sonra elde edilen bu miktar 1cc’lik enjektörlere aktararak uygulamaya uygun hale getirildi. Elde edilen 1cc TZP kemik grefti üzerine ve greft iyileşme hatlarına doğrudan uygulandı. TZP’nin greft iyileşme hatlarını doldurduğu izlendi. Dikkatli şekilde periost ve yumuşak doku 6/0 prolenle sütüre edilerek defekt bölgesi kapatıldı. Cilt sütürasyonu ve pansumanlarla operasyonlar sonlandırıldı.

### **3.3. DENEY PROTOKOLÜ**

Her gruptan 2., 6. ve 12. haftalarda üçer adet tavşan sakrifiye edilerek, sağ ve sol parietal kemiklerine uygulanan kemik greftleri histopatolojik incelemeye alındı.

Bu sayede her gruptaki tavşanlardan elde edilen altışar adet kemik grefti rneği histopatolojik olarak incelenebildi ve kemik iyileşmesinin 2., 6. ve 12. haftalardaki aşamaları gösterildi.

Ayrıca tüm gruplardaki tavşanlara 0. gün, 2. hafta, 6. hafta ve 12. haftalarda 3 boyutlu maksilofasyal BT (LightSpeed Ultra; GE, Milwaukee, USA) çekilip radyolojik olarak değerlendirme yapıldı (Şekil 1).



Şekil 1: Deney grupları ve değerlendirme takvimi.

### 3.4. DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

#### 3.4.1. Radyolojik değerlendirme

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Radyoloji AD'da gerçekleştirildi.

##### 3.4.1.1. Bilgisayarlı tomografi görüntülerin değerlendirilmesi:

0. gün, 2., 6. ve 12. haftalarda tüm tavşanlara 3 boyutlu maksilofasyal bilgisayarlı tomografi (LightSpeed Ultra; GE, Milwaukee, USA) görüntülemesi yapıldı. Tüm tetkikler denekler anestezi altında ve supin pozisyonda iken, sert damağa paralel olacak şekilde aksiyel planda, 120 kV ve 70 ma değerleri ile, 1 mm kesit kalınlığında, helikal modda taramayla yapıldı ve 8 kesitli multidedektör bilgisayarlı tomografi cihazı (LightSpeed Ultra; GE, Milwaukee, USA) kullanıldı. Üç boyutlu görüntüleme için "GE Advantage Windows Workstation 4.2" iş istasyonu kullanıldı.

Tavşanlara ait kemik greft kenarlarının periferik kemik doku ile yaptıkları füzyon ve kemik greft sınırlarında gerçekleşen osteogenezis 3 boyutlu görüntülerde görsel olarak analiz edildi. Deneyden bağımsız iki gözlemcinin yapmış olduğu görsel analizde kullanılan skorlama Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1:** Görsel analiz için uygulanan skorum. Modifiye Lane ve Sandhu radyolojik skorum kriterlerinden uyarlanmıştır.

Kemik greftin çevresindeki kranial kemiklerle hiçbir şekilde füzyon-kemikleşme yok	İYİLEŞME YOK – 0 PUAN
Kemik greftin, çevresindeki kranial kemiklerle sadece 1 kenardan füzyon yapmış - kemikleşmiş olması	KÖTÜ – 1 PUAN
Kemik greftin, çevresindeki kranial kemiklerle 2 farklı kenardan füzyon yapmış – kemikleşmiş olması	ORTA – 2 PUAN
Kemik greftin, çevresindeki kranial kemiklerle 3 farklı kenardan füzyon yapmış - kemikleşmiş olması	İYİ – 3 PUAN
Kemik greftin, çevresindeki kranial kemiklerle 4 farklı kenardan füzyon yapmış ve periferik kemik dokusu tüm kemik grefti ile bütünleşmiş, greft kenarlarının tamamen kemikleşmiş olması	TAM İYİLEŞME – 4 PUAN

#### **3.4.1.2. Bilgisayarlı tomografide kemik greft dansitelerin değerlendirilmesi**

Tomografi görüntüleri “GE Advantage Windows Workstation 4.2” programında, kemik greftin alanı manuel olarak ROI (region of interest) ile çevrelendi ve bu alandaki kemiğin dansitesi Hounsfield ünite (HU) değeri ile otomatik olarak ölçüldü.

Kemik iyileşme kalitesini gösteren kriterlerden biri olan kalsifikasyonunu yani kemik yoğunluğunu radyolojik görüntülerde, bilgisayar ortamında değerlendirmek mümkün olmaktadır. Bu amaçla yapılan ölçümler, bilgisayarlı tomografi için Hounsfield ünitesi (HU) olarak değerlendirilir. Hava -1000 HU, su 0 HU ve kemik 1000 HU olarak değerlendirilirken, ölçülen alanın yoğunluğu ise bu değerlere dayanarak nisbi bir değer olarak verilmektedir.

0. gün, 2., 6. ve 12. haftalarda tüm tavşanlara tomografi görüntülemesi yapılması ardından radyolog ve araştırmacı eşliğinde veriler değerlendirildi, istatistiksel analize sunuldu.



### 3.4.2. Histolojik değerlendirme

Histolojik değerlendirme Gaziosmanpaşa Üniversitesi Patoloji AD'da gerçekleştirildi. 2., 6. ve 12. Hafta sonlarında her gruptan 3'er adet tavşan sakrifiye edilerek, kranial kemik örnekleri alındı. Kranial kemik örnekleri sağlam kemik dokusunu da içerecek şekilde 6×5 cm boyutlarında alındı. Alınan örnekler asit (HCL-formik asit) ile dekalsifiye edildi. Ardından dekalsifiye edilmiş örneklerden sağ ve sol kemik greftin çevresel kemik doku ile yapmış olduğu iyileşme hattından 3 adet örnek alınarak standart olarak hematoxilen & eozin ile boyandı.

Her gruptan alınan 3 kranial kemik örneğinden sağ ve sol kemik greft değerlendirmeleri ayrı ayrı yapılarak toplam 6 örneklem elde edilmiş oldu. İyileşme bölgesi histolojik olarak incelendikten sonra, iyileşme durumu, incelenilen preparatın ait olduğu grup hakkında bilgilendirilmeyen tecrübeli bir histolog tarafından evrelendirildi (Tablo 2). Veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Tablo 2:** Histopatolojik evreleme kriterleri

Skor	Histopatolojik bulgu
1	Tamamen fibröz doku var
2	Fibröz doku baskın ancak az miktarda kıkırdak var
3	Fibröz doku ve kıkırdak eşit miktarda var
4	Kıkırdak oluşumu baskın ancak az miktarda fibröz doku var
5	Tamamen kıkırdak var
6	Ağırlıklı kıkırdak ve az miktarda immatür kemik dokusu var
7	Eşit miktarda kıkırdak ve immatür kemik dokusu var
8	Ağırlıklı immatür kemik ve az miktarda kıkırdak doku var
9	İmmatür kemik ile kemik iyileşmesi
10	Matür kemik ile kemik iyileşmesi

### 3.4.3. İstatiksel değerlendirme

Değerlendirmeler istatistik yazılım ile yapıldı (IBM SPSS Statistics 19, SPSS inc., an IBM Co., Somers, NY). Sürekli değişkenler ortalama ve stadandart sapma, nitel değişkenler sayı ve yüzde ile sunulmaktadır. Öncesi ve sonrası ölçümlerin gruplar yönünden farklılığı tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanılarak değerlendirildi. Herbir ölçümde gruplar arasındaki farklılık tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi.

Görsel analiz verileri sayı ve yüzde ile ifade edildi. Ki-kare testi kullanıldı.

Gruplara göre kemik dansitesi ve histopatolojik değerlendirmede Tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma için Tukey HSD testi kullanıldı. Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma için Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Ölçümlerin grup dağılımları çubuk grafik ile sunuldu. p değerleri 0.05'den küçük olarak hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. KLİNİK BULGULAR

Makroskopik değerlendirme ve örneklemelerin toplanması aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi.

1. haftanın sonunda grup 1 içerisinde yer alan tavşanların 1 tanesinde, cerrahi işlem sırasında kaldırılan V şeklindeki skalp deri flebin uç kısmında 0,5 cm genişliğinde nekroz ile karşılaşıldı. Diğer deneklerde normal yara iyileşme süreci izlendi. Grup 2 ve 3 içerisinde yer alan tavşanlarda normal yara iyileşme süreci izlendi.

2. haftanın sonunda gruplara anestezi eşliğinde tomografi çekimleri yapılmadan önce, grup 1'e ait parsiyel nekroz gelişen bu tavşanda nekrotik alanın eksizyonu ve resütürasyonu gerçekleştirildi. Ayrıca 2. hafta başlanan histopatolojik örneklemelerin alınması sırasında grup 2'de diğer gruplara kıyasla kemik greftlerin daha instabil olduğu gözlemlendi.

6. haftanın sonunda grup 2 içerisinde yer alan deneklerin cerrahi sahalarında V flebe ait skarın neredeyse kaybolduğu, traşlama yapılan alan üzerinde tüylerin uzadığı ve sağlıklı flep dokusunun varlığı izlendi. Grup 3'te benzer şekilde iyileşme süreci izlenirken, grup 2'ye ait deneklerde skalpte daha parlak tüylerin uzadığı gözlemlendi. Grup 1'de ise V fleplerin normal iyileşme sürecinin devam ettiği fakat insizyon skarlarının diğer gruplara göre daha belirgin olduğu ve yer yer tüylerin döküldüğü küçük alanlar olduğu gözlemlendi. 6.hafta sonunda alınan kemik greft örneklemelerin kemik greft sınırlarındaki "gap" 'in değerlendirilmesinde grup 3'te diğer gruplara kıyasla belirgin olarak azalmış olduğu ve kemik greftlerin stabil olduğu klinik olarak gözlemlendi.

12. haftanın sonunda tüm tavşanların yaşadığı görüldü. Hepsinde yara iyileşmesi tamamlandı ve nörolojik bir sekel izlenmedi. Alınan histopatolojik örneklerde grup 1 ve 3'e ait deneklerde kemik greftler stabil olarak izlenmiş olup, grup 2'de halen kemik greft sınırlarında kemikleşmenin olmadığı küçük alanlar gözlemlenmiştir.

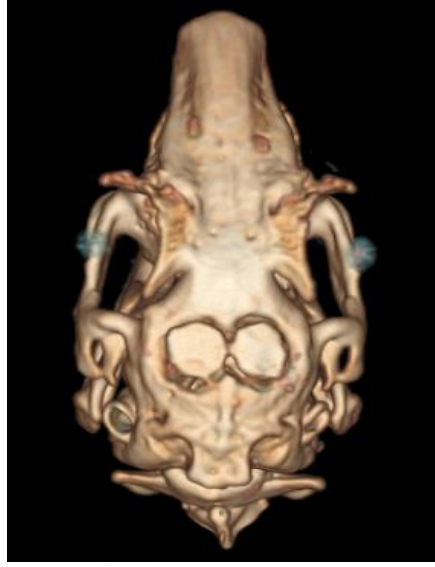
## 4.2. RADYOLOJİK BULGULAR

Tüm gruptaki tavşanların 0. gün, 2. hafta, 6. hafta ve 12. haftalarda çekilen 3 boyutlu maksilofasyal BT görüntülerinden kemik greft sınırlarının füzyonu değerlendirildi ve kemik grefte ait dansite ölçümü yapıldı. Elde edilen veriler sayı ve yüzde ile ifade edildi. Görsel değerlendirmede ki-kare testi kullanıldı. Kemik greftin dansite değerlendirmesinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma için Tukey HSD testi kullanıldı.

Grup 1, 2 ve 3'teki deneklerin 3 boyutlu maksilofasyal BT görüntülerinden yapılan görsel analiz değerlendirmesinde; 0. gün tüm gruplarda kemik greftlerinin komşu sağlam kemik dokusu ile hiçbir şekilde osteojenik bağlantı kuramadığı radyolojik olarak gözlemlendi (Resim 9). 2. haftada yapılan değerlendirmede görsel olarak en yüksek skora sahip olan PRP uygulanan grup 3 olmuş, grup 1 ve 3 arasında yapılan kıyaslamada elde edilen verilerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir (Resim 10). Grup 2'deki denekler ise en düşük görsel skora sahiptir (Tablo 3).

6. haftada yapılan değerlendirmede görsel olarak puanlanan en iyi grup yine PRP uygulanan Grup 3 olmuştur (Resim 11). Grup 2 en düşük görsel skora sahiptir. Grup 1 ile 3 arasında ise istatistiksel fark yoktur (Tablo 3).

12. haftada yapılan değerlendirmede görsel olarak Grup 1 ve Grup 3'te tüm deneklerde kemik greftlerin sınırlarının osteogenezle kapandığı ve greftin perifer kemik dokuyla tam füzyon sağladığı görülmüştür. Fakat yağ grefti uygulanan Grup 2'de, 12. haftanın sonunda dahi 5 tavşanda tam iyileşme izlenmemiş olup (Resim 12), yapılan değerlendirmede en kötü iyileşmenin izlendiği grup olduğu istatistiksel olarak gösterildi (Tablo 3).



**Resim 9:** 0. gün tüm gruplarda kemik greftlerinin komşu sağlam kemik dokusu ile hiçbir şekilde osteojenik bağlantı kuramadığı radyolojik olarak gözlemlendi.



**Grup 3 "0.gün"**



**Grup 3 "2.hafta"**

**Resim 10:** PZP uygulanan grup 3'e ait bir tavşanın 3 boyutlu maksilofasyal BT görseli.

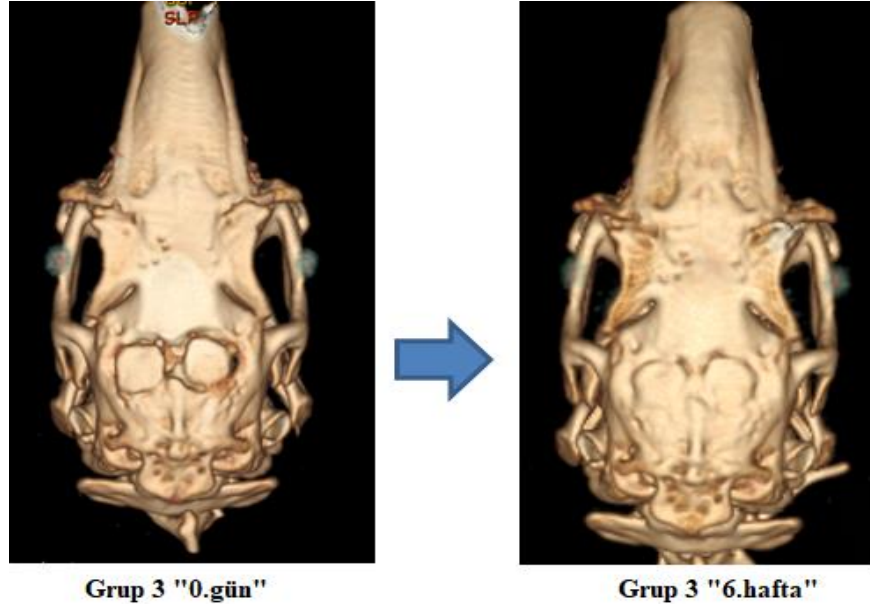
Cerrahi uygulamadan sonraki 2. haftada greft kenarlarında izlenen kemikleşme ve füzyon görülmektedir.

**Tablo 3:** Görsel analizinin istatistiksel değerlendirme tablosu.

		Grup 1	Grup 2	Grup 3	X <sup>2</sup>	p
Görsel 0. gün	Kötü	18(100)	18(100)	18(100)	-	-
	Orta	0(0)	0(0)	0(0)		
	İyi	0(0)	0(0)	0(0)		
	Çok iyi	0(0)	0(0)	0(0)		
	Tam iyileşme	0(0)	0(0)	0(0)		
Görsel 2. hafta	Kötü	0(0)	0(0)	0(0)	28,000	<0,001
	Orta	0(0)	0(0)	0(0)		
	İyi	11(61,1)a	5(27,8)a	8(44,4)a		
	Çok iyi	3(16,7)ab	0(0)b	5(27,8)a		
	Tam iyileşme	0(0)a	0(0)a	4(22,2)a		
Görsel 6. hafta	Kötü	0(0)	0(0)	0(0)	19,009	0,001
	Orta	0(0)	0(0)	0(0)		
	İyi	2(16,7)a	8(66,7)b	1(8,3)a		
	Çok iyi	9(75)a	4(33,3)a	5(41,7)a		
	Tam iyileşme	1(8,3)ab	0(0)b	6(50)a		
Görsel 12. hafta	Kötü	0(0)	0(0)	0(0)	13,846	0,001
	Orta	0(0)	0(0)	0(0)		
	İyi	0(0)	0(0)	0(0)		
	Çok iyi	0(0)a	5(83,3)b	0(0)a		
	Tam iyileşme	6(100)a	1(16,7)b	6(100)a		

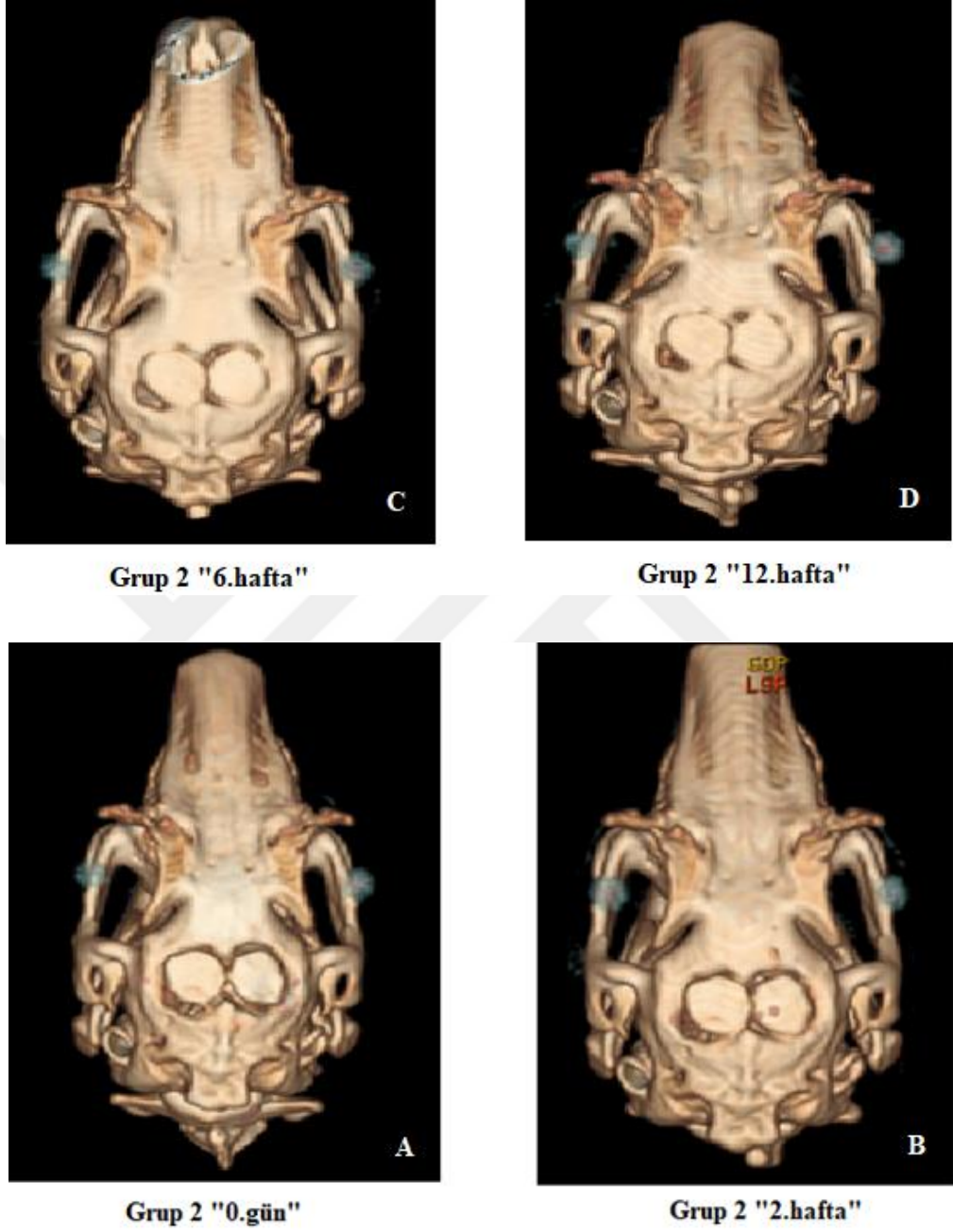
Veri sayı ve yüzde ile ifade edildi. Ki-kare testi kullanıldı. Farklı harfler istatistiksel anlamlılığı göstermektedir.

**Kırmızı renk belirteçler:** Radyolojik olarak görsel analizde en iyi iyileşme sonuçlarının PRP uygulanan grup 3'de olduğu görüldü. **Mavi renk belirteçler:** 12. haftada yağ grefti uygulanan grup 2, istatistiksel olarak en kötü iyileşmenin izlendiği gruptur.



**Resim 11:** PZP uygulanan grup 3'e ait bir tavşanın 3 boyutlu maksilofasyal BT görseli.

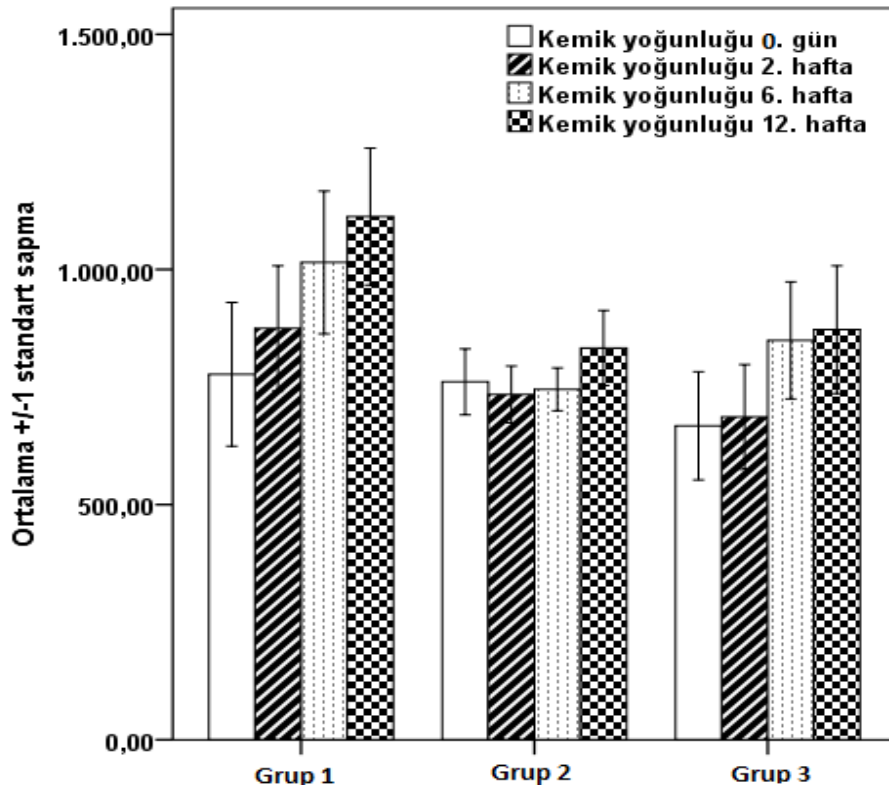
Cerrahi uygulamadan sonraki 6. haftada greft kenarlarında izlenen kemikleşme ve füzyon görülmektedir.



**Resim 12:** Yağ grefti uygulanan grup 2'ye ait bir tavşanın 3 boyutlu maksilofasyal BT çekimlerinin görüntüleri.

**A:** 0.gün diğer gruplarda da olduğu gibi hiçbir kemikleşme ve greft kenarlarında füzyon izlenmemektedir. **B:** 2. haftada greft kenarlarında kemikleşme ve yer yer füzyon alanları izlenmekte olup bu iyileşme diğer gruplara göre yetersiz kalmıştır. **C:** 6. haftada greft kenarlarında kemikleşme ve yer yer füzyon alanları 2. haftaya göre artmış olduğu izlense de, bu iyileşme diğer gruplara göre yine yetersiz kalmıştır. **D:** 12. haftaya gelindiğinde halen iyileşmenin tamamlanmadığı ve yer yer kemikleşmeyen alanların olduğunu görmekteyiz.

Bütün tavşanların 0. gün, 2. hafta, 6. hafta ve 12. haftada tomografi çekimlerinde kemik greft alanların radyolojik olarak kemik dansitesi hesaplandı; Grup 1 'de tüm deneklerdeki kemik greftlerin dansitesinin zamanla doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Grup 2'deki deneklerin kemik greftlerinde 2. ve 6. haftalarda dansitede azalma izlendi, yalnızca 12. haftada dansitede artış gözlemlendi. Grup 3'te zamanla kemik dansitelerinde artış izlenmiştir. Grup 3'te kemik dansitesinin en fazla arttığı zaman 6. haftada olup, bu artışın diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (Grafik 1).



**Grafik 1:** Gruplara göre kemik dansitesi dağılımı. Tek yönlü varyans analizi ( $p < 0.05$ ).

### 4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Her gruptan 3'er tavşan 2. hafta, 6. hafta ve 12. haftada sakrifiye edilip, dikkatli şekilde kranium kemiği total çıkartıldı ve beyin dokusundan sıyrıldı. Her bir tavşandan 2 adet kemik greft uygulanmış sağ ve sol parietel kemik materyali elde

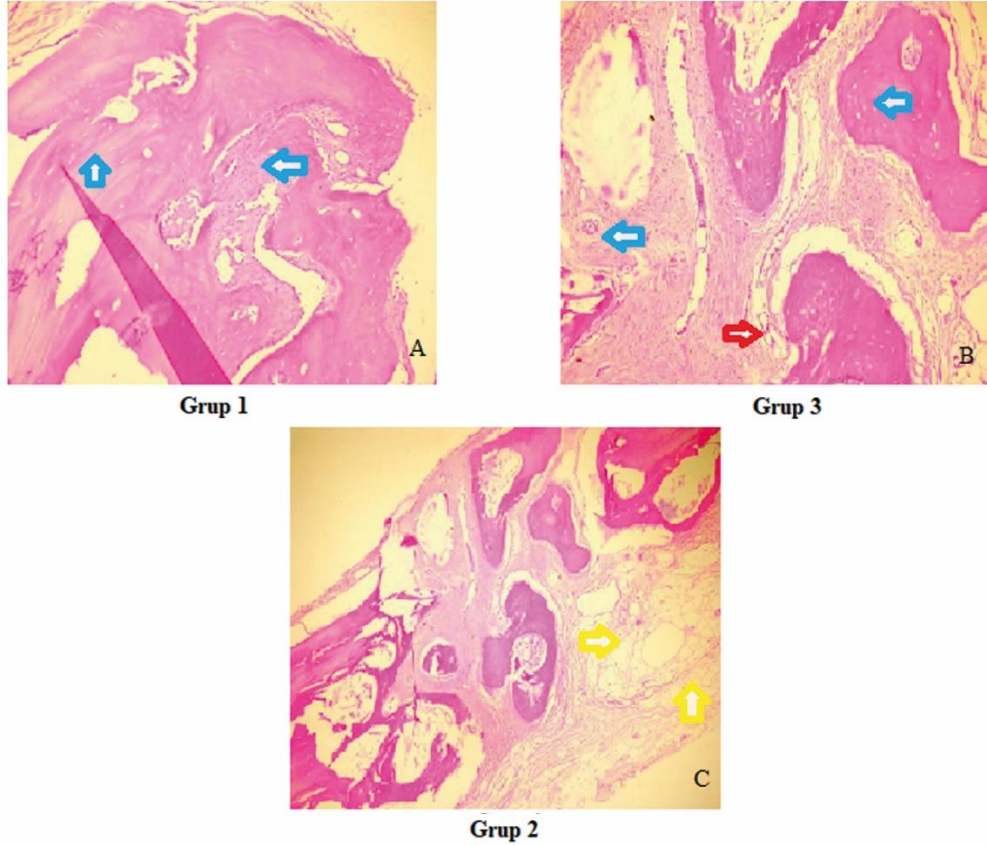


edildi. Böylece her gruptan ayrı ayrı 2. 6. ve 12. haftalarda değerlendirilmiş toplamda 6 adet örnekleme ulaşıldı.

Bu materyaller patoloji tarafından değerlendirilmek üzere her bir kemik greftin komşu parietal kemikle yapmış olduğu iyileşme hattından alınan kesit, 3 parçaya ayrılarak histopatolojik olarak analiz edilmiştir (Resim 12).

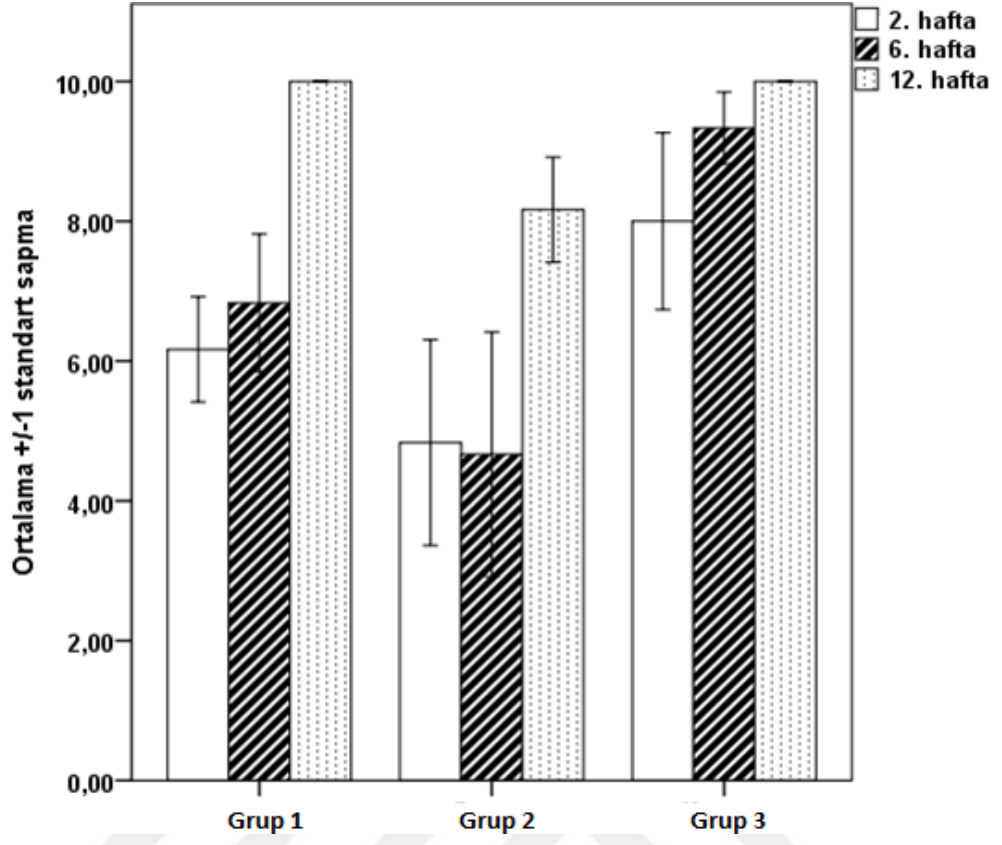
Değerlendirmede 2. hafta ve 6. haftada en iyi histopatolojik iyileşmenin TZP uygulanan 3. grupta olduğu ve bu haftalarda grup 3'ün diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

12. haftada ise hem grup 3 hem de grup 1'de matür kemik dokusunun izlendiği görüldü, bu iki grubun, yağ grefti uygulanan grup 2'ye göre istatistiksel olarak daha iyi iyileşme gösterdiği bulunmuştur (Grafik 2).



**Resim 13:** Gruplara göre histopatolojik kesitler.

**A:** mavi oklarda lamellar kemik dokusu ve çekirdekli osteositler görünmektedir. **B:** mavi oklar lamellar kemik dokusu ve osteonu göstermektedir. Kırmızı ok vasküler yapıları göstermektedir. **C:** sarı oklar nekrotik yağ dokularının varlığını göstermektedir.



**Grafik 2:** Histopatolojik analizlerin gruplara göre dağılımı. Tek yönlü varyans analizi ( $p < 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Otojen kemik greftleri, kemik defektlerin onarımında uzun süredir kullanılmakla beraber, rezorpsiyon sebebiyle hacim kaybına uğramaları ya da yeterli vaskülarizasyonun olmadığı bölgelerde tercih edilememesi gibi dezavantajları vardır. Bu noktalar göz önüne alındığında otojen kemik greftlerin iyileşme süreci üzerine olumlu etkiler oluşturacak uygulamaların tedavideki önemi artmaktadır.

Kemik greftlerin iyileşmesi sürecinde revaskülarizasyonun önemli bir basamak olduğu düşünülmekte olup greft iyileşmesi üzerine literatürde pek çok çalışma yapılmıştır (6,7,102,103). Anjiogenezin inhibe edildiği deneysel çalışmalarda kemik iyileşme sürecinde duraklama izlendiği, stimüle edildiği durumlarda ise iyileşmenin hızlandığı gözlemlenmiştir (106). Angiogenезin greft inkorporasyonu üzerine olan olumlu etkilerinden yola çıkarak kemik greft uygulamalarında plateletten zengin plazmanın kombine edilerek uygulandığı çalışmalar yapılmıştır (100,101).

Yağ dokusu; içerdiği kök hücre miktarının fazla olması, kolay elde edilebilir olması ve vücutta yağ dokusu miktarının yeterli olması gibi avantajları nedeniyle araştırmacılar için ilgi odağı olmuştur. Zuk ve ark. yaptığı çalışmalarda yağ dokusu kök hücrelerin kemik, kartilaj ve kasa farklılaştığını göstermişlerdir (11). Yağ dokusundan elde edilen kök hücrelerin uygulanmasının kemik oluşumunda olumlu sonuçlar sağladığı literatürde gösterilmiştir (107-111). Yağ greftinin içerdiği kök hücreler ve yağ dokusunda canlı kalan adipositler sayesinde hem hacim hem de daha hızlı iyileşme istenilen bölgelerde kolay uygulanabilir olması büyük avantajlarıdır. Bu sayede pek çok merkezde kök hücre izolasyonu yapmadan klinik uygulamalar kolaylıkla yapılabilmekte ve olumlu sonuçlar bildirilmektedir. Literatürde yağ grefti uygulamalarıyla ilgili pek çok çalışma olmasına rağmen kemik greftle kombine uygulamalarıyla ilgili yeterli çalışma yoktur. Hatta yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin osteogenez üzerine olumlu etkileri kanıtlanmış olmasına rağmen Juhani E. Merikanto ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kranial kemik defekti oluşturulan tavşanlarda, kök hücre izolasyonu yapmadan sadece yağ dokusu ile uygulama yapıldığında osteogenezisi olumsuz etkileyebildiği gösterilmiştir (84). Bu durum yağ

dokusundan elde edilen kök hücre uygulamaları ile yağ grefti uygulamalarından elde edilecek sonuçların farklı olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda tavşan kraniumunda, kritik boyutta kemik defektlerin kemik greft ile onarımında, yağ greftinin kemik greft iyileşmesi üzerine etkinliğini inceledik. Bu amaçla literatürde farklı hayvan modellerinde “kritik boyutta kemik defekti” olarak adlandırılan, dairesel, tam kat ve hayvanın yaşamı boyunca kendiliğinden kapanma şansı olmayan en küçük boyutta kemik defektleri tariflenmiştir. Farklı kaynaklarda değişik rakamlar verilse de, kraniumda kritik boyutta kemik defekti çapı sıçan için 8 mm, tavşan için 15 mm, köpek ve maymun için 20 mm olarak genel geçerlilik kazanmıştır (112-119).

Grup 1’de kranial kemik defekti, kemik greft ile onarılrken, Grup 2’de kemik greft, yağ grefti ile kombine edilerek defekt onarımı gerçekleştirildi. Bunun yanında daha önce kemik greft iyileşmesi üzerine olumlu sonuçlar (119) bildirilmiş olan trombositen zengin plazma uygulamasıyla da 3. bir grupta kemik grefti ile birlikte uygulanarak kıyaslamaya ve değerlendirmeye gidilmiştir.

Bu çalışmada deney modeli olarak tavşanda kritik büyüklükte kranial kemik defekti seçilmiştir. Kemik defekti modeli olarak kranial yassı kemik tercih etmemizin nedeni; lokalizasyonları gereği oldukça osteoindüktif bir ortam sağlamaları sayesinde kombine ettiğimiz yağ grefti veya TZP’nın osteojenik potansiyellerini kıyaslamamıza katkı sağlamasıdır. Kranial kemik iyileşmesinde duramaterin korunmasının önemli olduğu vurgulanmaktadır. Kemik defekti oluşturulurken duramater ve altındaki sagittal sinüs korunmuştur.

Bizim yaptığımız çalışmada yağ greftinin kemik greft iyileşmesi üzerine olumlu etkisi gözlemlenmemiştir. Elde edilen histopatolojik ve radyolojik bulgularda yağ grefti uygulanan kranial kemik greftlerde, yağ grefti uygulanmayan grup 1’e ve kemik greft ile birlikte TZP uygulanan grup 3’e göre kötü iyileşme izlenmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunup hem histopatolojik hem de radyolojik olarak en kötü iyileşme yağ grefti ile kemik greftinin kombine uygulandığı grup 2’de görülmüştür.

Çalışmada kranial kemik greftlerin perifer kemik dokusuyla osteojenik bağlantılarla gerçekleştirdiği füzyon oranı, üç boyutlu maksilofasiyal BT görüntüleri ile değerlendirildi. Yapılan görsel analizde; 2. ve 6. haftada kemik greftin perifer kemik dokusuyla en fazla füzyonu TZP uygulanan grup 3'te olduğu ve yağ grefti uygulanan grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. 12. Haftada yapılan değerlendirmede görsel olarak grup 1 ve 3'teki tüm tavşanlarda tam füzyon izlenmiştir. Fakat yağ grefti uygulanan grup 3'teki bazı deneklerde kemik greftlerin periferle tam füzyonun tamamlanmadığı görülmüş ve yapılan değerlendirmede en kötü iyileşmenin gözlemlendiği grup olmuştur. Bu bulgular doğrultusunda yağ grefti uygulanan grup 3'te yağ dokusunun, kemik greftin perifer dokuyla füzyonunu engelleyen nekrotik bir bariyer gibi işlev gördüğünü düşündürmüştür. Yağ greftinin içerdiği mezenkimal kaynaklı kök hücrelerin osteogenezisi indükleyerek iyileşmeyi hızlandıracağı ön görülse de, çalışmamızda yağ dokusu, kemik iyileşmesinde görülen periferel vasküler penetrasyona engel olduğu düşünülmektedir. Nitekim normalde hiçbir kombinasyonun uygulanmadığı ve sadece kemik greft ile 12. haftada tam iyileşme izlenmesi beklenen kontrol grubu 1'de tüm tavşanlarda tomografi görüntülerinde tam füzyon izlenmiş, fakat grup 2'de 5 tavşanda kemik greftin perifer kemik dokusuyla füzyonunun tamamlanmadığı alanlar ile karşılaşmıştır.

Maksilofasiyal BT değerlendirmelerinde tavşanların 0. gün, 2., 6., ve 12. haftalarda kranium kemik greftlerinin radyolojik olarak dansitesi hesaplanmıştır. Grup 1'de kemik greft dansite değerlerinin ilerleyen haftalarda orantılı olarak arttığı izlenmiştir. Grup 2'de 2. ve 6. haftalarda kemik dansite değerleri azalırken 12. haftada artışa geçtiği gözlemlenmiştir. Grup 3'te kemik greft dansite değerleri ilerleyen haftalarda sürekli artmış olup, bu artış oranı grup 1'de izlenildiği gibi orantılı ve sabit izlenen bir artış şeklinde olmamıştır. Grup 3'te 6. haftada gözlemlenen kemik dansite artış oranı en yüksek olup, diğer gruplara göre anlamlı derecede farklı olduğu istatistiksel olarak gösterilmiştir. Bu bulgular eşliğinde TZP uygulanan grup 3'de kemik greft dansitesinin erken dönemde artmış olduğu ve TZP uygulamasının erken dönemde osteogenez üzerine pozitif etki ettiğini düşündürmektedir. Nitekim grup 1 de kemik greft dansitesi haftalara göre orantılı olarak artmış olup, TZP uygulandığında ise bu etkinin 6. haftada belirgin bir ivme ile artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Literatür değerlendirmemizde TZP'nin benzer

sonuçları ile karşılaşmaktayız. Marx ve ark. yaptıkları bir çalışmada tek başına kemik grefti uygulaması ile kemik grefti + TZP uygulamasını karşılaştırmış ve TZP uygulamasının kemik dansitesinde, kemik biçimlenmesinin hız ve derecesinde daha çok arttırdığını ve bunun PDGF ve TGF- $\beta$  sayesinde olduğunu belirtmiştir (119).

Yağ grefti uygulanan grup 2’de ise 2. ve 6. haftalarda kemik yoğunluğunda azalma ile karşılaştık. Bu bulgular eşliğinde yağ greftinin kemik greft iyileşme sürecinde, özellikle erken dönemde gerekli olan anjiogenez sürecine olumsuz bir etkisi olduğunu ve kemik greftte rezorpsiyona neden olduğunu düşünmekteyiz. Literatürde osteogenez üzerine yapılan deneysel çalışmalarda adipoz kaynaklı kök hücrelerin anjiogenezisi indükleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (89,90,91). Fakat çalışmamızda gösterdiğimiz doğrudan yağ grefti uygulaması yapıldığında, kök hücrelerin bu rejeneratif etkisinin geri planda kaldığını ve kemik greftin iyileşme hatlarında periferden ilerleyecek olan vasküler bağlantıların yağ dokusu bariyeriyle engellendiği düşünülebilir (84).

Histopatolojik değerlendirmede kemik greft iyileşme hatları incelenmiş olup 2. ve 6. haftalarda en iyi skor grup 1 ve 3’te izlenmiştir. 12. haftaya gelindiğinde grup 1 ve 3’te artık matür kemik dokusu izlenirken grup 2’de greft iyileşme hatlarında immatür kemik dokusu ile karşılaşmıştır ve skorlamada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tavşanda izlenen normal kemik greft iyileşme sürecinde 12. haftada matür kemik dokusu oluşması beklenir (25) ve çalışmamızda kontrol grubu olan grup 1’de bunu görmekteyiz. Fakat grup 2’de 12. haftanın sonuna gelindiğinde, halen immatür kemik dokusuyla karşılaşılmasının nedeni olarak; yağ dokunun, immatur kemik dokunun ‘creeping substitution’ yoluyla matür hale dönmesine engel olması, bunu da mekanik bir bariyer görevi görerek gerçekleştirdiği düşünülebilir.

## 6. SONUÇ

Yağ dokusunun içerdiği kök hücreler sayesinde rejeneratif potansiyelinin olduğu gösterilmiş olsa da, çalışmamızda yağ grefti kemik greft uygulaması ile kombine uygulandığında, kemik iyileşmesi üzerinde rejeneratif bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Yağ greftinin kemik greft iyileşme sürecinde nekrotik bir bariyer gibi işlev görerek osteogenezisi olumsuz etkilemiş olması mümkün olabilir.

TZP uygulamasının, kemik greftin iyileşme sürecinin özellikle erken döneminde olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular literatürde mevcut çalışmalar ile uyumlu olup, yağ grefti uygulaması ile ilgili ise daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Skowronski PP, An YH. Bone graft materials in orthopaedics. *Musc Orthopaed J* 2003; 6:58-66.
2. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*. 2001;22 (19):2581-93.
3. Webb J, Tricker J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics*. 2000;14 (6):457-63.
4. Schmitz JP, Hollinger JO: The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. (205):299-308, 1986.
5. Laurencin C, Khan Y, El Amin SF. Bone graft substitutes. *Expert Rev Med Devices* 2006; 3: 49-57.
6. Peker E, Karaca İR. Oral ve Maksillofasial Cerrahide Doku Mühendisliği. *Türkiye Klinikleri Journal of Oral and Maxillofacial Surgery-Special Topics*. 2016;2 (2):42-7.
7. Gomez G, Korkiakoski S, Gonzalez MM, Lansman S, Ella V, Salo T, et al. Effect of FGF and polylactide scaffolds on calvarial bone healing with growth factor on biodegradable polymer scaffolds. *J Craniofac Surg*. 2006;17 (5):935-42.
8. Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, Pell CL, Johnstone BH, Consideine RV, March KL. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*. 2004; 109:1292–1298.
9. Mojallal A, Foyatier JL. Historical review of use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery. *Ann Chir Plast. Esthet* 2004; 49: 419–425.
10. Mazzola RF. The Evolution of Fat Grafting: From Soft Tissue Augmentation to Regenerative Medicine. Ed: Sydney C, Mazzola RF. *Fat injection from filling to regeneration*. St. Louis: Quality medical publishing, 2009, pp. XIXXXXVIII.
11. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell*. 2002;13:4279-95.



12. Yoshimura K, Shiguera T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J. Cell Physiol* 2006;208: 64-76.
13. Iain H, Kalfas MD. F.A.C.S. *Neurosurg Focus* 2001; 10 (4):Article 1.
14. Junquera LC, Carnerio J, Kelley RO. *Basic Histology*. Appleton & Lange Company, 1989:136-153.
15. Recker RR. Embryology, Anatomy and Microstructure of Bone. In Coe FI, Favus MJ, eds. *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. New York: Raven, 1992: 219-240.
16. Ruimerman R. *Modeling and remodeling in bone tissue*. Eindhoven: University Press Facilities, 2005: 1-8.
17. Sanan A., Haines SJ. Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. *Neurosurgery*. 40 (3), 588-603, 1997.
18. Ruggi PS., Sykes PJ. *A history of plastic surgery*. Springer-Verlag, New York, 141-151, 2007.
19. Plemister DB. The fate of transplanted bone and regeneration of its various constituents. *Surg Gynecol Obstet*. 19, 303-333, 1914.
20. Mowlem R. Bone grafting. *Br J Plast Surg*. 16, 293-304, 1963.
21. Mowlem R. Cancellous chip bone grafts: report on 75 cases. *Lancet*. 2, 746-754, 1944.
22. Sandy C. Marks, J.R. and Steven N. Popoff: *Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton*. *The American Journal Of Anatomy* 1988; 1 83: 1-44.
23. Cowin, S. C. *Bone Mechanics Handbook*. 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Ch 1: 1-68, Ch 2: 1-24.
24. Reece WO. *Dukes' physiology of domestic animals* 12th ed. Yıldız S. *Dukes Veteriner Fizyoloji, Okumuş Z. Kıkırdak, Kemikler ve Eklemler*. Malatya, Medipres, 2004:591-602.
25. Weisman, B. N. W., Sledge, C. B.: *Orthopedic Radiology*. Philadelphia, W. B. Saunders Company, Page: 1-70, 1986.

26. Bayram N. Histoloji. Anadolu Üniv. Yayınları 1995;125-132 69.
27. Kotan LD. Silika metodu ile kemikten DNA ekstraksiyonu. Tez çalışması. Çukurova Üniversitesi 2010, Adana.
28. Reece WO. Dukes' physiology of domestic animals 12th ed. Yıldız S. Dukes Veteriner Fizyoloji, Okumuş Z. Kıkırdak, Kemikler ve Eklemler. Malatya, Medipres, 2004:591-602.
29. Soydan N. Genel histoloji. İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, 1985:100-119.
30. Erdoğan D. Hatiboğlu M, Görgün M, Ilgaz C. Genel Histoloji. Ankara, Hatiboğlu yayınevi, 1999:107-117.
31. Marieb EN. Human anatomy and physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 1998:6.
32. Işık D. ER,CR:YSGG Lazer ve cerrahi frezle oluşturulan kemik defektlerinde kemik morfogenetik protein (BMP) ve greft materyali (B-TCP+HA) uygulanarak kemik iyileşmesinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. İÜ Sağlık Bilimleri Ens. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul, 2008.
33. Einhorn TA. Current concepts review: enhancement of fracture healing. J Bone Joint Surg 1995; 77 (A): 940-956.
34. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. Ankara Üniv Tıp Fak Mecm 2002; 55 (2): 143-150.
35. Brond AR. Rubin TC. Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. New York: Churchill Livingstone, 1990: 93-114.
36. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. J Orthop Sci 2000; 5 (1): 64-70.
37. Kalfas IH. Principles of bone healing. Neurosurg Focus. 2001;10 (4):1-4.
38. Petrovich YA, Podorozhnaya R, Kichenko S, Kozlova M. Effects of selenium-containing compounds and their metabolism in intact rats and in animals with bone fractures. Bulletin of experimental biology and medicine. 2004;137 (1):74-7.

39. Samartzis D., Shen FH., Goldberg EJ., An HS. Is autograft the gold standard in achieving radiographic fusion in one-level anterior cervical discectomy and fusion with rigid anterior plate fixation? *Spine*. 30 (15), 1756-1761, 2005.
40. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am*. 84A (3), 454-64, 2002.
41. Putzier M., Strube P., Funk JF., ve ark. Allogenic versus autologous cancellous bone in lumbar segmental spondylodesis: a randomized prospective study. *Eur Spine J*. 18 (5), 687-95, 2009.
42. Gazdag AR., Lane JM., Glaser D., Forster RA. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. *J Am Acad Orthop Surg*. 3 (1), 1-8, 1995.
43. Khan SN., Cammisa FP. Jr, Sandhu HS., ve ark. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg*. 13 (1), 77-86, 2005.
44. Dell PC., Burchardt H., Glowczewskie FP. A roentgenographic, biomechanical and histological evaluation of vascularized and non-vascularized segmental fibular canine autografts. *J Bone Joint Surg Am*. 67 (1), 105-12, 1985.
45. Doi K., Tominaga S., Shibata T. Bone grafts with microvascular anastomoses of vascular pedicles: an experimental study in dogs. *J Bone Joint Surg Am*. 59 (6), 809-824, 1977.
46. Kökden A., Türker M. Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller. *Cumhuriyet Üni. Diş Hek. Fak. Dergisi*. 2,134-140, 1999.
47. Mehrara BJ., McCarty JG. Repair and Grafting of Bone. In: Mathes SJ, ed. *Plastic Surgery 2th ed, Vol. 1*. Saunders Elsevier, Philedelphia, 639-718, 2006.
48. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop*. 174, 28-42, 1983.
49. Weiland A., Phillips T., Randolph M. Bone grafts: a radiologic, histologic, and biomechanical model comparing autografts, allografts, and free vascularized bone grafts. *Plast Reconstr Surg*. 74, 368-379, 1984.
50. Enneking WF., Burchardt H., Puhl JJ., ve ark. Physical and biological aspectsof repair in dog cortical-bone transplants. *J Bone Joint Surg Am*. 57, 237-252, 1975.

51. Reddi AH., Wientroub S., Muthukumar N. Biologic principles of bone induction. *Orthopaedic Clinics of North America.* 18, 207, 1987.
52. La Trenta GS., McCarthy JG., Breitbart AS., ve ark. The role of rigid skeletal fixation in bone-graft augmentation of the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg.* 84, 578-588, 1989.
53. Phillips J., Rahn B. Fixation effects on membranous and endochondral onlay bone-graft resorption. *Plast Reconstr Surg.* 82, 872-877, 1988.
54. Burstein F., Ariyan S., Chicarilli Z., ve ark. The effect of periosteal preservation on osteogenesis in a canine rib autograft model: tetracycline fluorescence incident photometry. *J Craniofac Surg.* 5, 161-171, 1994.
55. Kusiak JF., Zins JE., Whitaker LA. The early revascularization of membranous bone. *Plast Reconstr Surg.* 76, 510-516, 1985.
56. Thompson N., Casson J. Experimental onlay bone grafts to the jaws: a preliminary study in dogs. *Plast Reconstr Surg.* 46, 341, 1970.
57. Knize DM. The influence of periosteum and calcitonin on onlay bone graft survival: A roentgenographic study. *Plast Reconstr Surg.* 53, 190-109, 1974.
58. Peer L. The fate of autogenous human bone grafts. *Br J Plast Surg.* 3, 233, 1951.
59. Chen CH., Shih CH. Acetabular allograft reconstruction in total hip arthroplasty: preliminary report with clinical, roentgenographic and scintigraphic analyses. *J Formos Med Assoc.* 93, 781-787, 1994. 105.
60. Pinholt EM., Solheim E., Talsnes O., ve ark. Revascularization of calvarial, mandibular, tibial, and iliac bone grafts in rats. *Ann Plast Surg.* 33, 193-197, 1994.
61. Sezgin B. ve Özmen S., Alici Sahaya Preoperatif Uygulanacak Mikroporasyon Tekniğinin Yağ Grefti Sağ Kalımına Etkisi, Gazi Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2013.
62. Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, Pell CL, Johnstone BH, Considine RV, March KL. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation.* 2004; 109:1292–1298.

63. Mojallal A, Foyatier JL. Historical review of use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery. *Ann Chir Plast. Esthet* 2004; 49: 419–425.
64. Marra KG, Rubin JP. Adipose-derived stem cells, preadipocytes, and tissue engineering to Regenerative Medicine. Ed: Sydney C, Mazzola RF. *Fat injection from filling to regeneration*. St. Louis: Quality medical publishing, 2009, pp. 3–14.
65. Neuber G.. Über die Wiederanheilung vollständig von Körper getrennter, die ganze Fettschicht enthaltender Hautstücke. *Zbl f Chir* 1893; 30: 16-7
66. Illouz Y.G.. The fat cell “graft”: a new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg* 1986; 78: 122-3.
67. Fournier P.F.. Microlipoextraction et microlipoinjection. *Rev Cir Esthét Langue* 1985; 10: 36-40.
68. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REH, Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg* 2008;122:932-7.
69. Coleman SR. Structural fat grafting. In: Thorne CH (ed). *Grabb & Smith Plastic Surgery*. 6th edition. LWW; 2007. 480-5.
70. Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesth Plast Surg* 1995;19:421-425.
71. De Blacam C, Momoh AO, Colakoglu S, Tobias AM, Lee BT. Evaluation of Clinical Outcomes and Aesthetic Results after Autologous Fat Grafting for Contour Deformities of the Reconstructed Breast *Plast Reconstr Surg*. 2011 Nov;128 (5):4118.
72. Caviggioli F, Maione L, Forcellini D, Klinger F, Klinger M. Autologous Fat Graft in Postmastectomy Pain Syndrome, *Plast Reconstr Surg*. 2011 Aug;128 (2):34952.
73. Sultan SM, Barr JS, Butala P, Davidson EH, Weinstein AL, Knobel D, Saadeh PB, Warren SM, Coleman SR, Hazen A. Fat grafting accelerates revascularisation and decreases fibrosis following thermal injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012 Feb;65 (2):219-27.
74. Impelmans B.E, Miles J, Burke F.D. The use of free fat grafts in recalcitrant carpal tunnel: a retrospective study, *Eur J Plast Surg* (2001) 24:12–7.

75. Perén PA, Gómez JB, Guerrerosantos J, Salazar CA. Gluteus augmentation with fat grafting. *Aesthetic Plast Surg.* 2000 Nov-Dec;24 (6):412-7.
76. Kablan F, The use of Buccal fat pad free graft in regenerative treatment of peri-implantitis: A new and predictable technique. *Ann Maxillofac Surg.* 2016 Jul-Dec; 6 (2): 241–245.
77. Altman JI, Eloy JA, Hoch BL, Munoz CM, Shohet MR. Demineralized bone matrix and fat autograft in a rabbit model of frontal sinus obliteration. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007 Aug;137 (2):264-8.
78. Shi Y, Niedzinski JR, Samaniego A, Bogdansky S, Atkinson BL. Adipose-derived stem cells combined with a demineralized cancellous bone substrate for bone regeneration. *Tissue Eng Part A.* 2012 Jul;18 (13-14):1313-21.
79. Mehrabani D, Khodakaram-Tafti A, Shaterzadeh-Yazdi H, Zamiri B, Omid M. Comparison of the regenerative effect of adipose-derived stem cells, fibrin glue scaffold and autologous bone graft in experimental mandibular defect in rabbit. *Dent Traumatol.* 2018 Sep 6.
80. Follmar KE, Prichard HL, DeCroos FC, Wang HT, Levin LS, Klitzman B, Olbrich KC, Erdmann D. Combined bone allograft and adipose-derived stem cell autograft in a rabbit model. *Ann Plast Surg.* 2007 May;58 (5):561-5.
81. Zou XH, Cai HX, Yin Z, Chen X, Jiang YZ, Hu H, Ouyang HW. A novel strategy incorporated the power of mesenchymal stem cells to allografts for segmental bone tissue engineering. *Cell Transplant.* 2009;18 (4):433-41.
82. Tohma Y, Ohgushi H, Morishita T, Dohi Y, Tadokoro M, Tanaka Y, Takakura Y. Bone marrow-derived mesenchymal cells can rescue osteogenic capacity of devitalized autologous bone. *J Tissue Eng Regen Med.* 2008 Jan;2 (1):61-8.
83. Oliveira LD, Giovanini AF, Abuabara A, Klug LG, Gonzaga CC, Zielak JC, Urban CD, Deliberador TM. Fragmented adipose tissue graft for bone healing: histological and histometric study in rabbits' calvaria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013 May 1;18 (3):e510-5.
84. Merikanto JE, Alhopuro S, Ritsilä VA. Free fat transplant prevents osseous reunion of skull defects. A new approach in the treatment of craniosynostosis. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1987;21 (2):183-8.
85. Yan JL, Chen GF, Liu YM, Zhang WM, Zhao S, Jiang C, Chen L. [Reconstruction of maxillary defect by prefabricated titanium mesh combined

with pedicled buccal fat pad flap and bone autograft]. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi*. 2007 Nov;23 (6):469-72.

86. Liu YM<sup>1</sup>, Chen GF, Yan JL, Zhao SF, Zhang WM, Zhao S, Chen L. Functional reconstruction of maxilla with pedicled buccal fat pad flap, prefabricated titanium mesh and autologous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2006 Dec;35 (12):1108-13. Epub 2006 Nov 9.
87. Minn K.W. ve ark., Effects Of fat preparation methods on the viabilities of autologous fat grafts, *Aesthetic Plastic Surgery*, 2010, 34:626631.
88. Nishimura T. ve ark., Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts, *Laryngoscope*, 2000, 110 (8): 1333-8.
89. Langer S. ve ark., Revascularization of transplanted adipose tissue: A study in the dorsal skinfold chambers of hamsters, *Ann Plastic Surgery*, 2002, 48 (1): 53-9.
90. Locke M.B. ve de Chalain T.M., Current practice in autologous fat transplantation: suggested clinical guidelines based on a review of recent literature, *Ann Plastic Surgery*, 2008, 60 (1):98-102.
91. Suga H. ve ark., Adipose tissue remodeling under ischemia: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2010, 126 (6):1911-23.
92. Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br*. 2009;91 (8):987-96
93. Wu PI, Diaz R, Borg-Stein J. Platelet-Rich Plasma. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*. 2016;27 (4):825-53.
94. Jalaluddin M, Mahesh J, Mahesh R, Jayanti I, Faizuddin M, Kripal K, Nazeer N. Effectiveness of Platelet Rich Plasma and Bone Graft in the Treatment of Intra-bony Defects: A Clinico-radiographic Study. *Open Dent J*. 2018 Feb 12;12:133-154.
95. Marcazzan S, Taschieri S, Weinstein RL, Del Fabbro M. Efficacy of platelet concentrates in bone healing: A systematic review on animal studies - Part B: Large-size animal models. *Platelets*. 2018 Jun;29 (4):338-346.

96. Castillo-Cardiel G. ve ark. Platelet-rich plasma and its effect in bone regeneration in mandibular fractures. Controlled clinical trial. *Gac Med Mex.* 2017;153 (4):459-465.
97. Marcazzan S, Weinstein RL, Del Fabbro M. Efficacy of platelets in bone healing: A systematic review on animal studies. *Platelets.* 2018 Jun;29 (4):326-337.
98. Fu W, Li Q, Li J. [Research progress of preparation and components of platelet rich plasma]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2014 Dec;28 (12):1560-4.
99. Kececi Y, Ozsu S, Bilgir O. A cost-effective method for obtaining standard platelet-rich plasma. *Wounds.* 2014 Aug;26 (8):232-8.
100. Zimmermann R. ve ark. Preparation of highly concentrated and white cell-poor platelet-rich plasma by plateletpheresis. *Vox Sang.* 2008 Jul;95 (1):20-5.
101. Leitner L. ve ark. Clinical administration of platelet-rich plasma and growth factors to the musculoskeletal system. *Orthopade.* 2018 Sep 26.
102. Lu C., Marcucio R., Miclau T. Assessing angiogenesis during fracture healing. *Iowa Orthop J.* 26, 17-26, 2006.
103. Stevenson S., Emery S., Goldberg V. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res.* 324, 66-74, 1996.
104. Habal MB. Different forms of bone grafts. In: Habal MB, Reddi AH, eds. *Bone Grafts and Bone Substitutes.* WB Saunders, Philadelphia, 6-8, 1992.
105. Fındıkçioğlu K. ve Yavuzer R. Trombositlen zengin ve fakir plazmanın kritik boyutta kemik defekti iyileşmesine etkisi. *Gazi Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi,* Ankara, 2006.
106. Hausman MR., Schaffler MB., Majeska RJ. Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. *Bone.* 29, 560-564, 2001.
107. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999; 284 (5411):143-147.
108. Siemionow Maria Z., Ozmen S: *The Role of The Stem Cells in Plastic Surgery.* Tissue Surgery Maria Z. Siemionow (ed.), Springer-Verlag London Limited 2006, page:143-157.



109. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG: Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells*. 2001; 19 (3):180-92, Review.
110. Yoo JU, Barthel TS, Nishimura K, Solchaga L, Caplan AI, Goldberg VM, Johnstone B: The chondrogenic potential of human bone-marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *J Bone Joint Surg Am*. 1998; 80 (12):1745-1757
111. Akita S, Fukui M, Nakagawa H, Fujii T, Akino K: Cranial bone defect healing is accelerated by mesenchymal stem cells induced by coadministration of bone morphogenetic protein-2 and basic fibroblast growth factor. *Wound Repair Regen*. 2004; 12 (2):252-259.
112. Aybar Odstreil A, Territoriale E, Missana L: An experimental model in calvaria to evaluate bone therapies. *Acta Odontol Latinoam*. 18: 63-7, 2005.
113. Bosch C, Melsen B, Vargervik K: Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *J Craniofac Surg*. 9: 310-6, 1998.
114. Dodde R 2nd, Yavuzer R, Bier UC, Alkadri A, Jackson IT: Spontaneous bone healing in the rabbit. *J Craniofac Surg*. 11: 346-9, 2000.
115. Frame JW: A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J Oral Surg*. 38: 176-80, 1980.
116. Gosain AK, Song L, Yu P, Mehrara BJ, Maeda CY, Gold LI, Longaker MT: Osteogenesis in cranial defects: reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF-beta isoforms. *Plast Reconstr Surg*. 106: 360-71, 2000.
117. Hollinger JO, Kleinschmidt JC: The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg*. 1: 60-8. 1990.
118. Schmitz JP, Hollinger JO: The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 205: 299-308, 1986.
119. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endod* 85: 638-646, 1998.
120. Can A. Kök Hücre, Biyolojisi Türleri ve Tedavide Kullanımları. Ankara: Akademisyen Kitapevi; 2014.s.327-426.

## ÖZGEÇMİŞ

### **Dr. Deniz Uyanık**

1985 Samsun doğdumuyum.

1992 – 2000 Toplu Konut İlköğretim Okulunda eğitim

2000 – 2004 Batıkent Anadolu Lisesi’nde eğitim

2004 – 2010 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde eğitim

2010 Van Başkale Devlet Hastanesi’nde mecburi hizmet

2012 – 2017 Gaziosmapaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği’nde eğitim

2017-2019 halen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği’nde eğitimime devam etmekteyim.