



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RİFAMİSİN İLE DEKONTAMİNE EDİLEN OTOJEN BLOK KEMİĞİN ONLEY
GREFT OLARAK KULLANIMININ DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

OSMAN UFUK TAŞDEMİR

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

SİVAS
2011

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RİFAMİSİN İLE DEKONTAMİNE EDİLEN OTOJEN BLOK KEMİĞİN ONLEY
GREFT OLARAK KULLANIMININ DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

OSMAN UFUK TAŞDEMİR

DOKTORA TEZİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

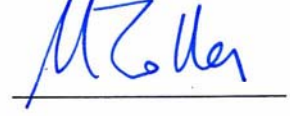
TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. İLKER ÖZEÇ

SİVAS
2011

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

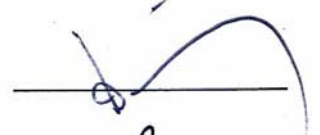
Başkan

Prof. Dr. Melahat ÖĞÜTCEN TOLLER



Üye

Prof. Dr. Suphi MÜDERRİS



Üye

Prof. Dr. Mustafa Cihat AVUNDUK



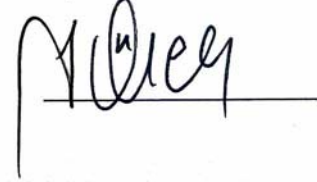
Üye

Doç. Dr. Hasan YELER



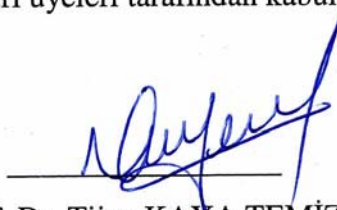
Üye (Danışman)

Yrd. Doç. Dr. İlker ÖZEÇ



ONAY

Bu tez çalışması, 22/02/2011 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Çalışma sırasında bana destek olan eşim ve aileme...

ÖZET

RİFAMİSİN İLE DEKONTAMİNE EDİLEN OTOJEN BLOK KEMİĞİN ONLEY GREFT OLARAK KULLANIMININ DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

Osman Ufuk TAŞDEMİR

Doktora Tezi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İlker ÖZEÇ

2011, 77 Sayfa

Otojen kemik greftler oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında rekonstrüktif uygulamalarda kullanılmaktadır. Otojen kemik greftler steril olmayan alanlarla temas ederek kontamine olabilmektedir. Dekontaminasyon için birçok solüsyon kullanılmıştır ve rifamisin dekontaminasyon için etkili bir ajandır. Rifamisin ile yapılan dekontaminasyon işleminin yeni kemik oluşumu üzerine etkisi konusunda yeterli bilgi mevcut değildir.

Bu çalışmanın amacı rifamisin ile dekontaminasyon işleminin greft ile alıcı bölgesi arasındaki kemikleşmeye olan etkisini incelemektir.

Deney grubunda 30 adet rat kullanılmıştır. 5mm çapında standart kemik grefti sağ mandibula angulus bölgesinden alınıp, tükrükle kontamine edildikten sonra rifamisin ile dekontamine edilip onley greft olarak sol mandibulaya uygulanmıştır. Deney grubundaki ratlar herbirinde 10 rat olacak şekilde operasyondan sonraki 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilmiştir. Kontrol grubunda da 10 rat vardır ve onley greftlere kontaminasyon ya da dekontaminasyon işlemi yapılmamıştır ve ratlar 21.gün sakrifiye edilmiştir. Histolojik kesitler onley olarak uygulanan greft ile alıcı bölge arasında oluşan alandan elde edilmiştir, immünohistokimyasal (bone morfogenetic protein-2 ve vascular endotelial growth factor anti-bodies) ve histomorfometrik değerlendirme yapılmıştır. İstatistiksel yöntem olarak Varyans analizi ve Tukey testi kullanılmıştır.

Histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak yapılan değerlendirme sonuçlarına göre rifamisin ile dekontaminasyon işleminin greft ile alıcı doku arasında oluşan kemik üzerine zarar verici bir etkisi yoktur

Sonuç olarak kontamine otojen kemik grefti rifamisin kullanılarak dekontamine edildikten sonra güvenle kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Otojen kemik grefti, dekontaminasyon, rifamisin, histomorfometri.

ABSTRACT

AN EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF RIFAMYCIN DECONTAMINATION EFFECTS ON INCORPORATION OF AUTOLOGOUS ONLAY BLOCK GRAFTS

Osman Ufuk TAŞDEMİR

Doctorate Thesis, Department of Oral and Maxillofacial Surgery

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. İlker ÖZEÇ

2011, 77 pages

Bone grafts are used in oral and maxillofacial surgery for reconstructive procedures. Autologous bone grafts may come into contact with nonsterile surfaces. Solutions were used for decontamination of bone grafts and rifamycin was an effective agent for decontamination. However there is no enough information about the influence of rifamycin decontamination on bone regeneration.

In this study, we aimed to study rifamycin decontamination effects on incorporation of autologous onlay bone grafts and recipient bed.

30 adult Wistar Albino rats were used in experimental group. Standardized 5.0 mm diameter autologous mandibular onlay grafts were harvested from right mandibular angle, contaminated in saliva, decontaminated with rifamycin solution and were fixed to the left as an onlay grafts. Rats were sacrificed at 7th, 14th and 21th days after surgery in the experimental group. In the control group 10 rats were used, onlay grafts were either contaminated nor decontaminated and the rats were sacrificed 21th days after surgery. Histomorphometric and immunohistochemistry analysis [bone morphogenetic protein-2 and vascular endothelial growth factor ani-bodies] were applied from each grafted site. Data were analysed using Variance analysis and Tukey's test.

According to the histometric and immunohistochemical findings, rifamycin decontamination has no detrimental effect of on graft incorporation.

In conclusion contaminated autogenous bone grafts are used safely after decontamination with rifamycin in reconstructive procedures.

Key words: Autogenous bone graft, decontamination, rifamycin, histomorphometry.

TEŞEKKÜR

Bu proje, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi (CÜBAP) tarafından DİŞ-074 No'lu proje olarak desteklenmiştir. Maddi desteğinden dolayı CÜBAP'a teşekkür ederim

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. İlker ÖZEÇ'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr.Cihat AVUNDUK ve Yrd. Doç. Dr. Hasan ESEN 'e teşekkür ederim.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesine katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Ziyinet Çınar'a teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteklerinden ve teze katkılarından dolayı Dt. Mustafa KIRTAY ve Dt. Emin ÜN'e teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim ve benim bu günlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER DİZİNİ.....	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kemik.....	3
2.1.1 Kemik Hücreleri.....	4
2.1.1.1 Osteoblastlar.....	4
2.1.1.2 Osteositler.....	4
2.1.1.3 Osteoklastlar.....	5
2.1.1.4 Osteoprogenitör hücreler.....	5
2.1.2 Kemik Matriks.....	6
2.1.3 Kemik Türleri.....	7
2.1.3.1 Birincil kemik dokusu.....	7
2.1.3.2 İkincil kemik dokusu.....	7
2.1.4 Kemik Oluşumu.....	8
2.1.4.1 İntramembranöz kemikleşme.....	8
2.1.4.2 Endokondral kemikleşme.....	9
2.2 Otojen Kemik Greftler.....	9
2.2.1 Otojen kemik greftin avantaj ve dezavantajları.....	10
2.2.2 Otojen kemik greftin komplikasyonları.....	11
2.2.3 Otojen kemik donör bölgeleri.....	11
2.3 Otojen Kemik Greftte Yeni Kemik Oluşum Mekanizmaları.....	12
2.3.1 Direk osteogenez.....	13
2.3.2 Osteokondüksiyon.....	13
2.3.3 Osteoindüksiyon.....	13
2.3.4 Otojen kemik greftte yeni kemik oluşumu.....	14
2.3.5 Greft konak doku birleşmesi.....	15
2.3.6 Greft başarısını etkileyen faktörler.....	16
2.4 Bone Morphogenetic Protein.....	16
2.5 Vascular Endotelial Growth Factor.....	18
2.6 Kontaminasyon ve Dekontaminasyon.....	21
2.6.1 Kontaminasyon.....	21
2.6.2 Dekontaminasyon.....	22
2.6.3 Rifamisin.....	25

3 MATERYAL VE METOD	27
3.1 Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	27
3.2 Cerrahi Teknik	29
3.3 Ramların bakımı ve deneyin sonlandırılması	30
3.4 Histopatolojik Değerlendirme	37
3.5 İmmünohistokimyasal Değerlendirme	38
3.6 İstatistiksel Değerlendirme	39
4 BULGULAR	40
4.1 Klinik Bulgular	40
4.2 Histomorfometrik Bulgular	40
4.2.1 Osteoblastların değerlendirilmesi	43
4.2.2 Osteoklastların değerlendirilmesi	44
4.2.3 Yeni kemik alanının değerlendirilmesi	45
4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular	47
4.3.1 AntiVEGF ile boyanan hücre sayısı	48
4.3.2 AntiBMP-2 ile boyanan hücre sayısı	49
5 TARTIŞMA	53
6 SONUÇLAR	61
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Greft almak için donör olarak kullanılan anatomik bölgeler	12
Şekil 3.1	Çalışma gruplarının şematik gösterimi	28
Şekil 3.2	Dekontaminasyon için kullanılan rifamisın solusyonu	29
Şekil 3.3	Alınan kemik greft bölgesinin şematik görüntüsü	30
Şekil 3.4	Greft alınan bölgedeki deri ve deri altı insizyonu	31
Şekil 3.5	5mm çapında trefin frezle kemik osteotomisi	31
Şekil 3.6	Otojen kemik greftin blok şekilde çıkarılması	32
Şekil 3.7	Çıkarılan blok otojen kemik greft	32
Şekil 3.8	Kemik grefte alev uçlu frezle ortasından açılan delik	33
Şekil 3.9	Otojen kemik greftin rat tükrüğü ile kontamine edilmesi	33
Şekil 3.10	Otojen kemik greftin 5ml rifamisın ile dekontamine edilmesi	34
Şekil 3.11	Alıcı bölgede greftin fiksasyonu için alev uçlu frezle delik açılması	34
Şekil 3.12	İpek suturun açılan delikten geçirilmesi	35
Şekil 3.13	Kemik greftin alıcı bölgeye fiksasyonu	35
Şekil 3.14	Otojen blok kemik greftin onlay olarak fikse edilmesi	36
Şekil 3.15	Cilt ve cilt altı dokuların suture edilmesi	36
Şekil 3.16	Örneklere ait resimlerin Clemex PE 3.5 görüntü analiz programına aktarılması	37
Şekil 4.1	Hematoksilen eozin boyama ile hücrelerin gösterilmesi	40
Şekil 4.2	Greft ve alıcı bölge arasında oluşan kemiğin histolojik görüntüsü	41
Şekil 4.3	Kontrol grubuna ait histolojik görüntü	41
Şekil 4.4	Birinci deney grubuna ait histolojik görüntü	42
Şekil 4.5	İkinci deney grubuna ait histolojik görüntü	42
Şekil 4.6	Üçüncü deney grubuna ait histolojik görüntü	43
Şekil 4.7	Osteoblast sayısını gösteren grafik	44
Şekil 4.8	Osteoklast sayısını gösteren grafik	45
Şekil 4.9	Yeni kemik oluşumunu gösteren grafik	46
Şekil 4.10	AntiVEGF boyama ile hücrelerin gösterilmesi	48
Şekil 4.11	AntiVEGF ile boyanan hücrelerin dağılımını gösteren grafik	49
Şekil 4.12	AntiBMP-2 boyama ile boyanan hücrelerin gösterilmesi	50
Şekil 4.13	AntiBMP-2 ile boyanan hücre sayısının dağılımını gösteren grafik	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1. Histomorfometrik sonuçları gösteren çizelge.....	47
Tablo 2. İmmunhistokimyasal sonuçları gösteren çizelge.....	52

SİMGELER DİZİNİ

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: Hidroksi apatit kristalinin kimyasal yapısı
cm	: Santimetre
gr	: Gram
μg	: Bir gramın binde biri.
ml	: Mililitre
mm^2	: Milimetrekare
ph	: Bir sıvının ya da ortamın asit veya bazlık derecesini gösteren değer

KISALTMALAR DİZİNİ

BMP	Bone Morphogenetic Protein
Ark	Arkadaşları
rhBMP	Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein
VEGF	Vaskular Endotelial Growth Factor
DBM	Demineralize Bone Matriks
OP	Osteojenik Protein
TGF- β	Transforming growth factor beta
VPF	Vaskuler permability faktör
cAMP	Siklik adenosine monofosfat
IGF	Insülin growth factor
IL-I	Interleukin-1
PDGF	Platelet derived growth factor
PLGF	Plasental growth factor

1. GİRİŞ

Otojen kemik grefti; aynı kişide bir yerden alınarak başka bir yere transplante edilen kemik dokusuna denir. Çene ve yüz cerrahisinde oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda sıklıkla otojen kemik greftleri kullanılmaktadır.¹

Kemik greft materyalleri otojenik, allogreft ve alloplastlar olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır. Bu greft materyalleri içerisinde, otojen kemik osteoindüktif, osteokondüktif ve direk osteogenez özellikleriyle ideal bir kemik greft materyalidir ve kemik greft materyalleri içerisinde “altın standart” olarak tanımlanmaktadır.¹⁻⁶ Bununla birlikte otojen kemik, diğer greft materyallerinde ortaya çıkabilecek immünolojik reaksiyon veya çapraz enfeksiyon gibi risklere sahip değildir. Otojen kemik greftinin başarısı; hastanın yaş ve sağlık durumu, seçilen kemik greftinin tipi ve büyüklüğü, greftin stabilitesi, alıcı bölgenin vaskülarizasyonu ve enfeksiyon varlığı gibi faktörlere bağlıdır.⁷⁻⁹

Çene ve yüz cerrahisinde enfeksiyon, operasyonun başarısını etkileyen önemli bir faktördür. Çünkü enfeksiyon varlığında ortamın asit ve bazlık derecesi (Ph) 2'nin altına düşmektedir. Tüm greft materyalleri düşük Ph'da hızlı rezorbsiyon gösterirler. Bakteriler greft içerisine girerek lokal enflamasyona ve kemik oluşumunun azalmasına neden olurlar. Bundan dolayı greftlenecek bölgede oluşan enfeksiyon, operasyonda ya da operasyondan sonra greftin enfekte olmasına, yetersiz hacimde kemik formasyonunun oluşmasına ve kemik kaybına neden olur.¹⁰

Operasyon boyunca ve operasyondan sonra sterilizasyon kurallarına dikkat edilmelidir. Ancak bazen istemeden operasyon sahası, operasyonda kullanılan cerrahi aletler ve kullanılan rekonstrüktif materyaller mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide greft kontaminasyonu; greftin yere düşmesi, steril olmayan alanlarla ya da tükrükle temas ederek oluşmaktadır.¹¹ Tükrükte 109 adet bakteriyel koloni ve 350 çeşit bakteri vardır ve greftin tükrük ile kontaminasyonunun enfeksiyona ve buna bağlı olarak ameliyatın başarısızlığına neden olabileceği düşünülmektedir.¹

Misch'e¹⁰ göre greft materyallerinin kontaminasyonu; aseptik tekniklerin eksikliği, yumuşak dokunun primer olarak kapatılmaması ya da greft materyalinin oral kaviteye düşerek tükrükle temas etmesiyle meydana gelmektedir. Centeno ve arkadaşlarının¹¹ (ark.) yaptıkları çalışmada 223 plastik cerrahın 157'sinin (% 70) en az bir kez greft

kontaminasyon kazasına maruz kaldığı ve kontaminasyonun %75 oranında greftin yere düşmesi şeklinde olduğu belirtilmektedir. Kang ve ark.¹² yaptıkları çalışmada ise 104 ortopedik cerrahın 40'nın (% 38) grefti steril olmayan bir alana düşürdükleri rapor edilmektedir. Graft kontaminasyonu meydana geldiğinde takip edilmesi gereken belirlenmiş bir protokol günümüzde mevcut değildir. Literatürde greft dekontaminasyon metodları üzerine yapılmış çalışmalar bulunmaktadır.^{1,13,14} Bu konuda yapılmış çalışmaların bir kısmında greft kontamine olduktan sonra greftin kullanımından vazgeçilmiştir. Ancak operasyonda kemik greftinin kesinlikle kullanılması gerekli ise ya hastanın başka bir donör bölgeden tekrar greft alınmış ya da otojen kemik grefti dekontamine edilip kullanılmıştır.¹¹ Hastanın başka bir donör bölgesinden greft alınması morbidite ve mortalite oranını artırmaktadır ve bu durum hekim ve hasta açısından oldukça sıkıntılı bir durumdur.

Graft uygulamalarının erken dönemlerinde mevcut greft materyalindeki vaskülarizasyonun yeterli olmamasından dolayı parenteral antibiyotik kullanımı kontaminasyon sonrası enfeksiyon tedavisi için yeterli olmamaktadır.¹⁰ Bu nedenden dolayı kemik greftleri kontamine olduktan sonra kullanılacaksa, işlemde önce dekontamine edilmesi gerekir. Otojen kemik greftin dekontaminasyonu için serum fizyolojik, kimyasal solüsyonlar ve antibiyotik içerikli solüsyonlar kullanılmaktadır.^{1,12-}

16

Dekontaminasyon için povidon iyot, rifamisin, klorheksidin ağız gargaraları, klindamisin, neomisin, tetrasiklin, sefazolin sodyum, hidrojen klorid, etil alkol, hidrojen peroksit gibi solüsyonlar kullanılmıştır.^{1,13,14} Bu çalışmaların çoğunda bu solüsyonların genellikle mikrobiyal etkinliğine bakılmıştır. Bu solüsyonların kemik üzerine etkileri konusunda yapılmış çok az sayıda çalışma vardır. Bu az sayıda yapılan çalışmaya göre de etkili ve uygun dekontaminantın rifamisin olduğu düşünülmektedir.¹³ Ancak bu dekontaminasyon işleminin otojen kemik greft uygulamalarında oluşan yeni kemik üzerine etkileri konusunda yeterli bilgi mevcut değildir.

Bu çalışmanın amacı rifamisin ile yapılan dekontaminasyon işleminin onley olarak uygulanan otojen kemik grefti ile konak doku arasında oluşan kemik üzerine etkisini histomorfometrik ve immünhistokimyasal olarak değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik

Yetişkin iskeletinin ana yapısını oluşturan kemik dokusu, yumuşak yapıları destekler, kafatasının üst kısmı ve göğüs kafesi boşluklarında olduğu gibi, hayati önem taşıyan organları korur ve kan hücrelerini yapan kemik iliğini barındırır.¹⁷ Yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökeldiği ve bu sayede sağlamlık ve esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış ileri derecede özelleşmiş olan bir bağ dokusudur.^{18,19} Kemik ayrıca kalsiyum, fosfat ve diğer iyonlara ait bir depo olarak işlev görür ve bu önemli iyonların vücut sıvılarındaki derişimlerini sabit tutabilmek için, kontrollü olarak salıverilmesini ya da tutulmasını sağlar. Buna ek olarak kemikler, iskelet kası kasılmaları ile oluşan kuvvetleri çoğaltarak, bunları vücut hareketlerine dönüştüren bir kaldıraç sistemi oluştururlar. Bu mineralleşmiş doku, iskelete mekanik ve metabolik işlevler yükler.¹⁷

Kemik dokusu kortikal (kompakt) ve kansellöz (süngerimsi, spongioz, trabeküller) olmak üzere ikiye ayrılır. Kortikal kemik yassı kemiklerin iç ve dış yüzeylerini, uzun kemiklerin ise dış yüzeylerini oluşturur. Kortikal kemik çok serttir ve dış kuvvetlere dayanıklıdır. Kansellöz kemik daha yumuşaktır ve içinde kemik iliği mevcuttur. Kortikal kemiğe göre daha zayıf olmakla birlikte strese ve gerilimlere karşı kortikal kemiğe göre daha dayanıklıdır.²⁰

Kemiğin mekanik özelliklerini belirleyici unsurlar arasında kemiğin gözenekli yapısı, mineral içeriği ve kemiğin kollajen dokusu önemlidir.²¹ Oldukça sert ve dayanıklı bir yapıya sahip olan kemik dokusunun % 70'i inorganik, % 30'u organik yapıdadır. Organik kısım çoğunlukla Tip I kollajenden ve daha az oranda glikoproteinler ve glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. İnorganik kısmının çoğunluğunu kalsiyum ve fosfat oluşturmakla birlikte, bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da inorganik kısmında bulunmaktadır.^{17,22}

Bütün kemiklerin iç ve dış yüzeyleri, kemik yapan ve tamir eden hücreleri içeren, iç yüzeylerde endosteum, dış yüzeylerde periostun oluşturduğu doku tabakaları ile örtülüdür.¹⁷ Kemiğin hücresel elemanları, osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve mezenkimal osteoprogenitör hücrelerdir.²³

2.1.1 Kemik Hücreleri

2.1.1.1 Osteoblastlar

Osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenlerinin (Tip I kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinler) sentezinden sorumludurlar. Kemik inorganik kısımlarının çökebilmesi, yaşayabilecek durumda olan osteoblastların varlığına bağlıdır. Osteoblastlar özellikle kemik yüzeylerinde, yan yana, tek katlı epiteli andıracak şekilde bulunurlar. Aktif olarak matriks sentezi ile uğraşırken osteoblastlar kübik şekilden prizmatığe kadar değişen şekle ve bazofilik sitoplazmaya sahiptirler. Üretim işlevleri azalmaya başladığında, yassılaşırlar ve sitoplazmalarındaki bazofilik özellik azalmaya başlar.¹⁷

Osteoblastlar kutuplaşmış hücrelerdir. Osteoid daha eski kemik matriksi ile teması olan osteoblastlar tarafından oluşturulur ve henüz kireçlenmemiş matriks tabakasıdır. Bu tabaka daha önce meydana getirilen kemik arasında oluşturulur. Bu yöntem, kemik apozisyonu (mevcut kemik dokusu üzerine depolanma) henüz meydana gelmiş matriks üzerine kalsiyum tuzlarının tortulanmasının ardından tamamlanır.¹⁷

Osteoblastlar kemik yapıcı hücreler olup, osteoid dokuyu, kemik matriksini oluşturan Tip I kollajeni, glikoproteinleri, proteoglikanları, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi bazı proteinleri salgırlar. Kemik yapıcı görevleri sona erdiğinde oluşturdukları matriks içerisinde osteositlere dönüşürler. Ayrıca kemik rejenerasyonundaki görevleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmeye devam eden, bone morphogenetic protein (BMP), transforming growth factor (TGF- β), insülin growth factor (IGF-I) ve (IGF-II), interleukin-I (IL-I), platelet derived growth factor (PDGF) gibi sinyal proteinlerini salgırlar. Osteoblastların yüzeyinde çeşitli hormonlar, vitaminler ve sitokinler için reseptörler de bulunur.²⁴⁻²⁸

2.1.1.2 Osteositler

Osteoblastlardan türeyen osteositler matriksin kanalcıkları arasındaki boşluklarda (laküna) bulunurlar. Her boşluk (laküna) içinde bir osteosit bulunur. İnce silindirik matriks kanalcıkları, osteosit uzantılarını barındırır. Komşu hücre uzantıları hücreler arası bağlantılarla, birbirleri ile ilişkiyi sağlar ve bu yapılar aracılığı ile moleküller hücreden hücreye geçer. Osteositler ile kan damarları arasındaki bazı moleküllerin değişimi, osteositler (ve uzantıları) ile kemik matriksi arasında bulunan az miktardaki

hücreler arası madde aracılığı ile de yapılır. Osteositler aktif olarak kemik matriksinin bakımından sorumludurlar ve ölümlerini takiben matriks erimesi görülür.¹⁷

Osteositler içinde buldukları lakün ile aynı şekilde olup, çekirdekleri yassılaştırmıştır. Kemiğe etki eden kuvvetler karşısında osteositler siklik adenozin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve IGF salgırlarlar. Bu faktörlerin salgılanmasını takiben pre-osteoblastların sayısı artarak kemikte remodelasyon ve yeni kemik apozisyonu görülür.^{24,27}

2.1.1.3 Osteoklastlar

Osteoklastlar çok büyük, dallanmış, hareket edebilen hücrelerdir. Genişlemiş hücre gövdesinde 5 ila 50 (veya daha fazla) çekirdeği vardır. Osteoklastlar, kemiğin eritilerek emildiği yerlerde “Howship lakünası” adı verilen, enzimler ile oyulmuş, çukurlara yayılırlar. Osteoklastlar kemik iliğinden elde edilen hücrelerin kaynaşması ile ortaya çıkarlar.¹⁷

Aktif osteoklastlarda, kemik matrikse bakan yüzey, çoğu kez tekrar bölünen uzantılı kıvrımlar ile düzensiz katlanarak büzgülü kenarı meydana getirir. Büzgülü kenarı, hücre organlarını içermeyen, aktin filamanlarından zengin bir sitoplazma kuşağı saydam kuşak çevreler. Bu kuşak osteoklastların kemik matriksine yapıştığı yerdir ve kemik erimesinin meydana geldiği mikro çevreyi yaratır.

Osteoklastlar bölgesel kollajen sindirimini ve kalsiyum tuz kristallerinin eritilerek emilmesini başlatan kollajenaz ve diğer enzimleri salgırlarlar ve protonları hücre altındaki cebe pompalar. Osteoklast işlevi sitokinler (yerel arabuluculuk rolünü yapan küçük sinyal proteinleri) ve hormonlar ile kontrol edilir. Osteoklastların tiroitten salgılanan bir hormon olan kalsitonin için reseptörleri vardır, ancak paratiroid hormonu reseptörlerine sahip değildirler. Bununla birlikte, osteoblastlarda paratiroid hormon reseptörü vardır ve bu hormon ile uyarıldıklarında osteoklast uyarıcı faktör denen sitokini üretirler.¹⁷

2.1.1.4 Osteoprogenitör hücre

Mitozla çoğalabilen kemik yapıcı öncü hücreler olup, periostun iç tabakasında, havers kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Embriyonik mezenkimden köken alan bu hücreler ve osteoblastlara farklılaşabilirler. Düşük oksijen konsantrasyonlarında kondrojenik hücrelere de dönüşebilirler.^{26,27,29} Osteoprogenitör hücreler iğ şeklinde ve oval çekirdeklidirler.²² Sitoplazma açık renk boyanır ve soluk boyanan tek bir

çekirdekleri vardır. Kemikte büyümenin yoğun olduğu dönemlerde daha aktiftirler.^{26,27,29}

2.2.1 Kemik Matriksi

İnorganik madde kemik matriksinin kuru ağırlığının % 50' sini oluşturur. Özellikle kalsiyum ve fosfor boldur, ancak bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyumda bulunur. Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmaları kalsiyum ve fosfor $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ bileşiminde hidroksiapatit kristallerinin oluştuğunu göstermektedir. Bununla birlikte bu kristaller eksiklikler gösterir ve kaya minerallerindeki hidroksiapatit kristalleri ile özdeş değildirler. Yapılarında önemli miktarlarda şekilsiz (kristal olmayan) kalsiyum fosfat da mevcuttur. Elektron mikroskop şekillerinde, hidroksiapatit kristaller kolajen lifçiklerin yanına yatmış tabakalar halinde ancak etrafları ara madde ile sarılı halde görülürler.¹⁷ Minerallerin kolajen liflerle ilişkisi, kemik dokusunun sertliği ve direncinden sorumludur. Kemiğin kalsiyumu ortadan kaldırıldığında, şeklini korur, ancak tendon kadar esnek bir hale gelir. Çoğu kolajenden oluşan matriksin organik kısımları çıkarıldığında, kemik yine orijinal şeklini korur, ama kırılgan hale gelir, dokunulduğunda kırılır ve ufalanır.¹⁷

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri, periyost ve endosteum diye adlandırılan, tabakalar halinde, kemik yapan hücreler ve bağ dokusu ile örtülüdür. Dıştakine periyost içtekinde endosteum denir. Periyost kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşan dış tabakaya sahiptir. Periyostun kolajen lif demetlerinden oluşan, Sharpey lifleri, matriks içine girerek periyostu kemiğe bağlar. Periyostun içteki, hücreden daha zengin tabakası, fibroblastlara benzeyen, bölünüp farklılaşarak osteoblastları meydana getirme potansiyeline sahip, osteoprogenitör hücrelerden oluşmaktadır.¹⁷ Endosteum kemik içindeki bütün boşlukları astarlar ve tek tabaka halinde yassılaşmış osteoprogenitör hücreler ile çok az miktardaki bağ dokusundan oluşur. Periyostun ve endosteumun, kemiksi dokunun beslenmesi ve devamlı olarak yeni osteoblastlar sağlayıp, kemik büyüme ve onarımı için önlem alması ana işlevleridir.¹⁷

2.2.2 Kemik Türleri

Mikroskopik olarak yapılan incelemeler sonucunda iki farklı kemik bulunduğu ortaya çıkmıştır: Primer (birincil olgunlaşmamış veya örgün kemik) ve sekonder (ikincil, yetişkin, olgun veya lamelli kemik) olmak üzere iki kısımda incelenir.³⁰⁻³²

Birincil kemik, embriyonun gelişiminde ve kırık iyileşmesi ve diğer onarım aşamalarında beliren ilk kemik dokusudur. İkincil kemiğin düzgün lameller halinde düzenlemiş kolajenin aksine rastgele dağılmış ince kolajen lifleri vardır.

2.2.2.1 Birincil kemik dokusu

Primer kemik, embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer nedenlerle ilişkili onarım işlemlerinde ilk ortaya çıkan kemik dokudur.³³ Geçici bir kemik yapısı olup yetişkinlerde, kafatasındaki yassı kemik eklemlerinde, diş alveollerinde ve tendonların kemiğe tutunduğu bölgeler gibi birkaç yer dışında yerini 3 yaşından sonra lameller kemiğe bırakır.³⁰ Primer kemik oldukça az mineral içerir ve mekanik direnci azdır. Lameller kemiğe oranla daha kısa ömürlüdür.³⁴ Kollajen liflerin düzensiz sıralanışına ilave olarak, daha az mineral içerir (X ışınları daha kolay geçer).¹⁷ Lamel içermez ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit içerir.^{30,33,34}

2.2.2.2 İkincil kemik dokusu

Sekonder kemik (ikincil kemik), genellikle yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. Kortikal ve kansellöz olmak üzere iki farklı yapıdadır. Lamel adı verilen ve ancak mikroskopik olarak görülebilen matriks tabakaları içerir. İç içe geçmiş halkalar gibi konumlanan bu lameller, kemiğin uzun eksenine paralel olarak dizilen Havers Kanallarının etrafında bulunurlar. Belirli bir bölgedeki kanallar ile onu çevreleyen lamellere “Havers Sistemi” ya da “Osteon” adı verilir. Bu kanalların içinde damar ve sinir paketi vardır. Kemik yüzeyine dik olarak konumlanan diğer kanal sistemine ise “Volkman Kanalları” adı verilir. Bu kanallar kemiğin iç ve dış yüzeylerinin birbiriyle iletişimini sağlarlar. Volkman kanalları içindeki damarlar Havers Kanallarının içindekilerle bağlantılıdır.^{29,35,36}

Kansellöz kemik, kompakt kemikten mikroskopik olarak farklılıklar gösterir. Kansellöz kemikte osteon bulunmaz. Makroskopik olarak trabekül adı verilen plaklar ve gözeneklerden oluşur. Bunların içinde kan damarları ve kemik iliği bulunur ve kemik iliğinde bol olarak bulunan kan damarlarından, sitoplazma uzantıları aracılığıyla besin maddelerini alırlar.^{29,35,37-39}

2.2.3 Kemik Oluşumu

Kemik iki yolla oluşmaktadır. Bu yollar intramembranöz ve endokondral kemikleşmedir. İntramembranöz kemikleşme osteoblastların salgıladıkları matrikse doğrudan minerallerin çökmesiyle oluşmaktadır. Endokondral kemikleşmede ise önceden mevcut kıkırdak matriks üzerine minerallerin çökmesiyle oluşur. Her iki yolda da, meydana çıkan ilk kemik, birincil veya örgü kemiktir. Birincil kemik geçici bir dokudur ve kısa sürede tam lameller veya ikincil kemikle yer değiştirir. Kemik büyümesi esnasında, birincil kemik alanları, rezorbsiyon alanları ve ikincil kemik sahaları yan yana görülürler. Bu kemik yapımı ve ortadan kaldırılış (yeniden modellenme) bileşimi, büyüyen kemiklerin yanısıra yetişkinlerde de hayat boyu meydana gelir ama yetişkinlerdeki değişim hızı oldukça yavaştır.¹⁷

2.2.3.1 İntramembranöz kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme, çoğu yassı kemiğin kaynağıdır ve mezenkim dokusu yoğunlaşması içinde yer aldığından dolayı böyle adlandırılmıştır. Kafatasının frontal ve pariyetal kemikleri yanı sıra oksipital, temporal, mandibula ve maksilladaki kemiklerin bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Bu yöntemin, kısa kemiklerin büyümesinde ve kemik kalınlaşmasında da katkısı vardır.¹⁷

Mezenkimal doku yoğunlaşma tabakasında, başlangıç noktasına birincil kemikleşme merkezi denir. Kemikleşme bir grup hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile başlar. Osteoblastlar kemik matriksini yaparlar ve bunu kireçlenme izler, sonuçta bazı osteoblastlar kireçlenmiş matriks ile kuşatılarak osteosit olur. Gelişen bu kemik adacıkları kılcal kan damarları, kemik iliği hücreleri ve farklılaşmamış hücreleri içeren uzamış boşlukların duvarlarını oluşturur. Böyle birkaç grup, kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanda ortaya çıkar, bunların duvarları kaynaştığında kemik süngerimsi yapıya kavuşur. Büyüyen kan damarları ve ek farklılaşmamış mezenkim hücreleri, kemik duvarları arasında kalan bağ dokusu içine girerek kemik iliği hücrelerini ortaya çıkarır.¹⁷

Kafatasının üst kısmını oluşturan düz kemiklerin gerek iç ve gerekse dış yüzeylerinde kemik yapımının belirgin üstünlüğü vardır. Böylece iki tabaka kompakt kemik (iç ve dış plakalar) belirirken merkezdeki kısım süngerimsi özelliğini korur. Bağ dokusu tabakasının kemikleşmeyen kısımları zar içinde gelişen kemiğin iç ve dış zarlarını (endosteum ve periyost) yapar.¹⁷

2.2.3.2 Endokondral kemikleşme

Endokondral (Yunanca. endon, içinde, + chondros, kıkırdak) kemikleşme meydana getirilecek kemiğin şeklini andıran küçük bir hiyalin kıkırdak model içinde meydana gelir. Bu tür kemikleşme daha çok kısa ve uzun kemiklerin meydana getirilmelerinden sorumludur.¹⁷

Bir uzun kemiğin endokondral kemikleşme ile meydana gelişinde şu olaylar birbirini izler. Başlangıçta ilk beliren kemik dokusu kıkırdak modelin orta kısmını saran içi boş kemik silindridir. Kemik halkası adı verilen bu yapı, o bölgedeki perikondriumun içinde intramembranöz kemikleşme ile meydana getirilir. Bir sonraki aşamada, bu bölgedeki kıkırdak, hücre büyümesi (hipertrofi) ve matriks kireçlenmesi gibi programlanmış hücre ölümleri ile yıkım sürecine girer, sonuçta kireçlenmiş kıkırdak matriksinden oluşan üç boyutlu yapı açığa çıkar. Daha sonra, osteoblastlar kireçlenmiş kemik matriksine yapışır ve devamlı birincil kemik tabakalarını yaparak kıkırdağımsı kireçlenmiş matriksi sararlar. Bu aşamada, kireçlenmiş kıkırdak bazofilik görünür. Birincil kemik ise eozinofiliktir. Bu şekilde birincil kemikleşme merkezi ortaya çıkar. Sonra ikincil kemikleşme merkezleri kıkırdak modelin uçlarındaki şişkinliklerde (epifizler) ortaya çıkar. Bunların genişlemesi ve yeniden biçimlenmesi esnasında, birincil ve ikincil kemikleşme merkezleri giderek kemik iliği ile dolan boşluklar yaratır. Kemik yapının aralarında osteoklastlar sayesinde periosteal delikler açılır ve bu delikler osteoprogenitör hücreler, hemtopoetik hücreler ve kan damarları ile kıkırdak modele gerekli besin ve oksijeni sağlarlar. Damarlarla gelen kalsiyum ve fosfor iyonları, alkalin fosfataz aracılığı ile birleşerek kıkırdak matrikse çöker ve böylece diyafizde bir kemikleşme merkezi ortaya çıkar. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara farklılaşarak kalsifiye kıkırdak / kalsifiye kemik kompleksi haline gelir.¹⁷

2.3 Otojen Kemik Greftler

Otojen kemik grefti terimi, aynı kişide bir yerden alınarak başka bir yere transfer edilen kemik dokusuna denir. Çene ve yüz cerrahisindeki kist ve tümör operasyonlarında, konjenital alveol yarıklarda, implant uygulamalarında, alveoler yetersizlik durumlarında ve kanser cerrahisi sonrası oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda en sık otojen kemik greftleri kullanılmaktadır ve 'altın standart' teknik olarak tanımlanmaktadır.¹⁻⁶ Çünkü otojen kemik greftlerdeki kemik oluşum hızı, kemik kalitesi ve iyileşme kullanılan diğer rekonstrüktif materyallere göre daha iyidir.

İçerdiği kemik tipine göre otojen kemik greftleri kortikal, kansellöz ve kortiko-kansellöz olmak üzere üç tiptir. Otojen kemik greft tipi yapılacak rekonstrüktif işlem için önemlilik arz etmektedir çünkü bazı işlemlerde stabilizasyon ve temel desteklik görevi en önemli unsur iken bazı işlemlerde kemik oluşumu, hızı, miktarı ve kalitesi en önemli unsur olabilmektedir. Alınacak kemik greftinin tipini; rekonstrüksiyon yapılacak alan, oluşan defektin büyüklüğü, kemik greftin rezorbsiyon miktarı, greft alınacak bölgenin durumu ve bölgedeki önemli anatomik oluşumlar, hasta morbidite ve mortalitesi etkilemektedir.⁷⁻⁹

Kortikal kemikler, form sağlayıp dayanıklı ve sert bir yapı oluştururken osteogenezi artırıcı yetenekleri yoktur.⁴⁰ Kansellöz kemik ve kemik iliğinin primer avantajı, belirgin bir şekilde osteogenezi artırma yetenekleridir.⁴⁰ Bu yetenekleri, osteogeniteyi indükleme kapasitelerinin olması kadar, osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere sahip olmalarına bağlıdır. Bu greftlerin bilinen tek dezavantajı; mekanik sağlamlığı sağlayamamalarıdır.⁴⁰

Kortikal ve kansellöz kemik greftlerde kemik oluşumu ve vaskülarizasyon farklılık oluşturmaktadır. Bu farklar bu greftlerin sahip olduğu hücrelerden ve yapısal farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Kortikal greftler kansellöz greftlere göre daha az canlı osteojenik hücre içermektedir. Ayrıca kortikal greftlerde vaskülarizasyon kansellöz kemiklere göre daha geç olmaktadır. Kansellöz greftlerde önce osteoblastik aktivite daha sonra osteoklastik aktivite meydana gelirken kortikal greftlerde ise önce osteoklastik aktivite daha sonra osteoblastik aktivite meydana gelmektedir.⁷

2.3.1 Otojen kemik greftlerin avantaj ve dezavantajları

Otojen kemik greftlerinin en büyük avantajı sahip olduğu canlı osteoblastlar ve kemik iliğindeki osteoprogenitör hücreler ile direkt osteogenez, sahip olduğu hidroksiapatit kollajen matriks ile osteokondüksiyon ve sahip oldukları BMP gibi büyüme faktörleriyle osteoindüksiyon yapabilmeleridir.⁴¹ Ayrıca kısa sürede mükemmel damarlanma, primer kallus oluşumu, immünolojik reaksiyona sebep olmama (minimal antikor cevabı), çapraz enfeksiyon riskinin olmaması ve maliyetlerinin diğer greft türlerine göre ucuz olması gibi avantajlarını sayabiliriz.³⁻⁵

Otojen kemik greftleri en iyi seçenek olarak kabul edilmesine rağmen bazı dezavantajları da mevcuttur. Bu dezavantajlar: verici bölgede ikinci bir operasyona ihtiyaç olması, bazen genel anesteziye ihtiyaç duyulması, kemik alınan bölgede postoperatif komplikasyonların oluşabilmesi, elde edilen kemik boyutlarının sınırlı

olması, büyük defektlerin onarımında yetersiz kalabilmesi, uzun süreli postoperatif ağrı ve hareket kısıtlılığının görülebilmesi ve postoperatif bakım süresinin uzamasıdır.³⁻⁵

2.3.2 Otojen kemik greft komplikasyonları

Otojen kemik grefti alınırken operasyon sırasında ve operasyon sonrasında bazı komplikasyonlar meydana gelebilmektedir. Bu komplikasyonlar otojen iliak kemik greft operasyonlarında süperfisiyal ve derin infeksiyonlara, hematomlara, damarsal ve sinirsel yaralanmalara, iliak kemik kanat kırıklarına, abdominal herni, kronik ağrı, skar dokusu ve postoperatif deformitelere, kostal greft operasyonlarında kontur defektine, plevral yırtılmaya ve uzun süreli ağrılara, kalvarial greft operasyonlarında ise dural yırtılmalara, intrakranial yaralanmalara ve skar dokusu oluşmasına neden olabilmektedir. Ayrıca kemik grefti alınması kan kaybını ve postoperatif infeksiyon riskini artırmakta ve operasyon zamanının uzamasına neden olmaktadır.⁴²⁻⁴⁹

2.3.3 Otojen kemik greft donör bölgeleri

Otojen kemik greftleri vücuttaki belli bazı verici bölgelerden alınarak kullanılabilir. Bu alınan bölgeler:

1. Kranium
2. Tibia
3. Fibula
4. İliak krest
5. Kaburga
6. Mandibula simfiz
7. Mandibula korpus
8. Maksilla tüber bölgesinden blok şekilde elde edilebilmektedir.²⁻⁶ (Bakınız [bkz.]Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Greft almak için donör olarak kullanılan anatomik bölgeler (Kahnberg KE.(2005) Bone Grafting Techniques for Maxillary Implants, Blackwell Munksgaard, Blackwell Publishing, Sweden, p-11.)

2.4 Otojen Kemik Greftte Yeni Kemik Oluşum Mekanizmaları

Kemik dokusu, tamir olayları sırasında skar dokusu oluşumundan çok, yeniden yapılanma ve yer değiştirme olaylarının rol oynadığı tek dokudur.⁵⁰ Otojen kemik greftte yeni kemik oluşumu ve rejenerasyonu üç önemli etki mekanizması ile oluşmaktadır. Bunlar: direkt osteogenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon etki mekanizmasıdır.⁷

2.4.1 Direkt osteogenez

Osteoblastlar tarafından oluşturulan osteoid formasyonudur. Bu mekanizma genellikle çocuklarda greftleme olmaksızın meydana gelmektedir. Bu duruma 'spontan osteogenez' denilmektedir. Otojen kemik greftte ise direkt osteogenez kemik greftteki endosteum, periosteum ve kansellöz kemikteki hayatta kalan osteoblast ve osteoblasta dönüşebilen hücreler tarafından meydana getirilmektedir. Bu osteogenez ise 'transplantasyon osteogenez'i olarak adlandırılmaktadır. Bu mekanizmada yaşamlarını devam ettiren endosteal osteoblast ve kansellöz kemik iliği kök hücrelerinin miktarı önemlilik arz etmektedir.⁷

2.4.2 Osteokondüksiyon

Osteokondüksiyon, greftin kendi yüzeyi üzerine yeni kemiğin büyümesini destekleme potansiyelidir. Osteokondüksiyon temel olarak pasif bir kemikleşme anlamında olup, transplante edilen greft materyali içerisine doğru kapillerlerin çoğalmasını ve mezenşimal hücrelerin alıcı yatağından grefte doğru yönlendirilmelerini tanımlamaktadır.^{50,51}

Osteokondüktif mekanizmada kemik ve greft materyali sahip olduğu hidroksiapatitin inorganik matriksi ile osteogeneze rehberlik etmekte, yönlendirmekte ve matriks görevi görmektedir.^{7,47,52-54} Bu matriks hücre adezyon molekülleri olan fibrin, fibronektin ve vitronektine ya da onun kollajen içeren şekline bağlanmalıdır. Diş çekim socketinin iyileşmesi osteokondüksiyona bir örnektir.⁷

2.4.3 Osteoindüksiyon

Osteoindüksiyon, çevre dokulardaki birçok hücre tipine dönüşebilme yeteneğine sahip olan kök hücrelerin, indüklenerek osteoblastik fenotipe dönüşebilme potansiyelidir. Osteoindüksiyon, alıcı yatağından transplante edilen greft materyali içerisine kapillerlerin, perivasküler yapıların ve osteoprogenitör hücrelerin ilerlemesi olarak da tanımlanabilmektedir.⁵⁰

Osteoindüktif mekanizma da greft içerdiği matriks proteinleri ile yerleştirildiği alanda osteogenezi stimüle etmektedir. Bu proteinler büyüme faktörleri ya da diferansiyasyon faktörleri olarak adlandırılmaktadır. Bu büyüme faktörleri arasında BMP kemik indüksiyonunda önemli bir yer tutmaktadır.^{47,52,53}

2.4.4 Otojen kemik greft uygulamalarında yeni kemik oluşumu

Otojen kemik greft osteogenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon mekanizmalarının birini, ikisini ya da her üçünü de değişik derecelerde içerebilmektedir.⁷ Otojen kemik greftte kemik oluşumu bu mekanizmalarla gerçekleşmektedir ve bu oluşum safhaları birbirlerinden kesin sınırlarla ayrılmamakla birlikte birbirleriyle iç içe geçmiş bir şekilde kemik oluşturmaktadır.⁵⁴

Kemik greftleri yerleştirildikleri bölgede, sahip oldukları yaşamlarını sürdürebilen hücreler (osteoblastlar) tarafından direkt osteogenez mekanizması ile osteoid üretebilmektedir. Bu nedenle hücrelerin yerleştirildikleri alanda canlı olarak hayatta kalmaları için başlangıç vaskülarizasyonu önemlilik arz etmektedir. Greft yerleştirildikten sonra alıcı bölgesinden grefte vasküler ve hücrel invazyon olmaktadır. İnvazyon miktarı greftteki boşlukların miktarı ve büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir.^{47,52,53}

Özellikle greftin kansellöz bölümünde bulunan transplante edilmiş canlı hücreler ilk 3-5 gün içinde çevredeki besleyici maddelerin plazmatik sirkulasyonu⁵⁵ ve vasküler dokulardan sağlanan beslenmeyle yaşamlarını devam ettirirler. Trasplantasyon işleminden sonra kemik trabekülünde canlı olarak kalan osteositler yeni osteoid dokunun oluşmasını ve proliferasyonunu sağlarlar. Buna rağmen sadece kanlanmanın 300µm yakınında bulunan osteositler ilk 1-2 haftada canlı olarak kalır ve diğer hücrelerin hepsi difüzyon yoluyla yeterli derecede beslenemedikleri için ölürlür.⁵⁴ Bu nedenle greftin başarısı sahip olduğu canlı hücre sayısına, greftin stabilitesine ve erken vaskülarizasyona bağlıdır.⁷ Bu nedenle kemik greftlerde direkt osteogenez ile kemik oluşumu osteokondüksiyon ve osteoindüksiyona göre sınırlı miktarda gerçekleşmektedir.⁷

İndüktif proteinlerin ve büyüme faktörlerinin transplante kemikten salgılanmasıyla osteoindüktif safha başlamış olur. Bu safhada bir yandan osteoklastlar eski kemiği ve ölü kemiği rezorbe eder ve diferansiyasyon olmamış mezenşimal hücreler ile preosteoblastlar BMP gibi diferansiyasyon faktörlerinin etkisiyle yeni kemiği oluşturacak olan osteoblastlara dönüştürülür ve yeni kemik sentezi yapılır. Yeni kemik oluşumu sırasında otojen greftin iskeletini oluşturan hidroksiapatitin inorganik matriksi, osteokondüktif etkiye sahiptir. Böylelikle osteokondüksiyon ve osteoindüksiyonla yeni kemik oluşumu hızlandırılmış olur. Blok kemik greftlerde yeni kemik oluşumu daha

çok osteokondüksiyon ve osteoindüksiyonun etkisiyle ve çok az miktarda da yaşayan osteoblast ve osteoprogenitör hücreleri tarafından yapılan direk osteogenez ile oluşur.⁷

Bu durumda yeni oluşan kemik, alınan otojen kemik greftin tipine, sahip olduğu osteojenik hücrelerin sayına, rekonstrüksiyon metoduna ve greftin vasküler beslenmesine bağlı olarak bu mekanizmalarla oluşmaktadır.^{7,47,52,53}

2.4.5 Greftin konak doku ile birleşmesi

Greft alıcı kemik doku ile birleşirken bazı aşamalardan geçmektedir.⁵⁶ Greftle konak doku arasındaki iyileşme kırık iyileşme sürecine benzemektedir. Kemik transplantasyonunda lokal damarlar yaralanmakta ve kanama meydana gelmektedir. Bu lokal kanama ile hematom formasyonu oluşmakta daha sonra ise fibrin aktivasyonu meydana gelmektedir. Hematomu takip eden ilk yedi günde, çeşitli nötrofil, lenfosit ve plazma hücrelerinin invazyonu ile akut enflamatuvar cevap meydana gelmektedir. Henüz gelişmemiş yeni damarlarda gözlemlenebilir.

İlk haftanın bitimiyle paralel bir süreç başlayacaktır. Bu süreçte fibrin pıhtı organize olarak kemik greftle konak doku arasında granülasyon dokusuna dönüşecektir. Granülasyon dokudaki makrofaj, multinükleer dev hücreler gibi enflamatuvar fagositik hücreler atağa geçerek osteoklastlarla birlikte ölü kemik ve kemik debrislerini uzaklaştırmaktadırlar. İki haftadan sonra genellikle revaskülarizasyonla birlikte eski kemik ve osteoid yıkılarak yeni kemik oluşumu ve remodelasyonu başlamaktadır. Revaskülarizasyon ile yeni kemik oluşum süreci kemik greftin tipine göre farklılıklar içermektedir. Kortikal ve kansellöz kemik greftlerindeki süreç farklılığı yapı farklılığından kaynaklanmaktadır. Spongiöz kemiğin açık ve boşluğu yapısı revaskülarizasyon fazında yeni oluşan damarların difüzyonuna daha kolay izin verir ve mikroanastomozlar daha kolay gelişerek greftin kanlanması erken dönemde başlar. Ayrıca spongiöz kemiğin geniş olan yüzey alanı çok daha fazla osteoprogenitör hücre içerdiğinden osteogenez ve takiben kallus oluşumu daha kolaydır. Kompakt kemikte ise greft, damar invazyonuna bir bariyer oluşturur.^{9,57} Bu nedenle kortikal kemik greftlerde revaskülarizasyon kanselöz greftlere göre daha geç olmaktadır. Kanselöz kemik greftlerde revaskülarizasyon yerleştirildikten bir kaç saat sonra başlayıp iki haftada tamamlanabilirken kortikal greftlerde bu durum çok yavaştır.⁶ Bunun nedeni kortikal tabaka damar invazyonuna bir engel oluşturmaktadır. Kortikal greftlerde osteoklastlar 6 hafta içinde yeni damarların invazyonu için kanallar oluşturmaktadır. Bu nedenle kortikal kemik greftlerin dayanıklılıkları ilk yıl normale göre % 50 daha zayıftır.

Spongiyöz greftlerde tamir tam ve zamanında olurken, kortikal greftlerde nekrotik ve canlı kemik dokusu bir arada bulunur.^{9,57} Kortikal kemik greftlerde alıcı bölge ile bir yılda bile tam bir replasman sağlanamazken kanselöz kemik greftler ilk yılda tam replasman sağlayabilmektedir.⁶ Ayrıca kortikal kemik greftlerde histolojik olarak önce osteoklastik aktivite daha sonra osteoblastik aktivite olurken spongiyöz kemik greftlerde ise tam tersi olmaktadır.^{9,57}

Böylelikle “creeping substitution” yani transplante edilen kemik greftinin yerini yeni kemik dokunun alması gerçekleştirilmiş olur. Oluşan bu yeni kemik fonksiyon altında maturasyonunu tamamlar ve 1-2 yılda mekanik sağlamlılığı normal kemiğe eşitlenir.⁵⁵

2.4.6 Greft başarısını etkileyen faktörler

Greftin yerleştirildiği bölgedeki iyileşme, dokuya uyum sağlaması, final kemik formasyonu ve rezorbsiyonu çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler kemik greftin tipi, büyüklüğü, alıcı doku bölgesi ve vaskülaritesi, greft stabilitesi, hastanın yaş ve sağlık durumudur.⁷⁻⁹

Greftin tipi, kemik oluşum ve revaskülarizasyonunu etkilemektedir. Kortikal greftler kanselöz kemik greftlere göre daha az yaşayabilen transplante osteoblast ve ilik hücresi içerdiğinden yeni kemik oluşumu bu tip blok kemik greftlerde komşu kemik marjinlerinde daha çok osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon işbirliği ile oluşmaktadır. Çok az miktarda ise direkt osteogenez ile oluşmaktadır. Ayrıca embriyolojik olarak birbirlerine benzeyen kemiklerde kontur ayarlanması daha kolay olmakta ve rezorbsiyon daha az olmaktadır.⁷ Alınan kemik greftin vasküler olup olmaması da greft uyumu açısından önemlidir çünkü nonvaskülarize otojen kemik greftler sadece çevresindeki alıcı bölgeden gelen damarlarla revaskülarize olmaktadır. Yeni damarlar çevre kas ve yumuşak dokulardan gelmektedir.⁹

2.5 Bone Morphogenetic Protein (BMP)

BMP, TGF- β (transforming growth factor- β) büyüme faktörleri üst familyası üyeleri içinde bulunan büyüme ve diferansiyasyon faktörleridir. Kemik indüksiyonunu sağlayan maddenin izolasyonu bazı proteinlerin bu olaylardan sorumlu olduğunu belirlemiştir. BMP ilk olarak 1979 yılında Urist tarafından elde edilmiştir ve bu ürünün kemik morfogenetik aktivitesinin demineralize kemikten daha fazla olduğu görülmüştür.⁴⁷ Bu proteinler Urist tarafından BMP olarak veya Osteogenic Protein (OP) olarak adlandırılmışlardır.

BMP'ler 7 adet disülfid bağ ile bağlanmış dimerler içerirler. BMP'ler iki benzer zincir içeren homodimer olarak veya farklı zincirler içeren heterodimer olarak iki şekilde de aktiftir. Günümüzde 15 adet BMP tanımlanmıştır. Aminoasit diziliş benzerliklerine göre altgruplara ayrılmışlardır. BMP-2 ve 4 birinci altgrubu, BMP-5 ve 8 ikinci bir altgrubu oluşturmaktadır. BMP-4, BMP-5, BMP-6 ve BMP-7 de BMP-2 ye benzer yolla kemik indüksiyonu yapabilmektedir. Bu proteinler arasında BMP-2'nin osteoindüktif özelliği en fazla olan protein olduğu görülmüştür.⁵⁸⁻⁶⁶

Uyarana karşı cevap olarak, hücreler proliferere ve diferansiye olmakta ve uzaysal dizilişte sıralanmaktadır. BMP'ler hücreler tarafından salınan proteinler olup değişik tipteki hücrelerin plazma membranlarındaki reseptörlere bağlanarak (otokrin ve parakrin etkilerle) hücre ve doku organizasyonunu sağlamaktadırlar.⁶⁷

BMP'ler memelilerde bulunan gerçek morfogendirler. Embriyojenik ve doğum sonrası dönemde kemik ve birçok dokuda var oldukları belirlenmiştir. Yaşam sürecinde BMP'lerin hedef organı undiferansiye perivasküler bağ dokusu hücreleriyken, büyüme faktörlerinin hedefi diferansiye olmuş hücrelerdir. BMP kemik gelişimi için bazı genleri aktive etmekte ve kırık iyileşmesinde indüksiyon ile yeni kemik formasyonunu sağlamaktadır.⁶⁸

BMP genellikle endokondral yol ile yeni kemik oluşturmaktadır.⁶⁹ BMP'nin osteojenik etkisi direkt olarak olgun olmayan, primitif hücreler üzerinedir. Olgun osteoblastların BMP'ye cevap verme yeteneğini kayb ettikleri tespit edilmiştir.^{59,70}

Yapılan çalışmalar; BMP'lerin birçok doku ve organın oluşumunda erken morfogeneze sırasında epitelyal mezenşimal etkileşimlerde morfogenler olarak rol oynadıklarını göstermiştir. Suzuki ve ark⁶⁸ tarafından yapılan çalışmada insan embriyosundaki oral ve maksillofasiyal dokularda bulunan BMP-2'nin gösterilmesi amaçlanmıştır. BMP-2'nin gelişmekte olan diş germelerinde, çene kemiğinde, çizgili ve düz kaslarda, spinal kord, nasal, tracheal ve özefegal epitelde lokalize olduğu belirlenmiştir.⁶⁸

Embriyojenik hücrelerin BMP'lere cevap vererek kartilaj ve kemik hücrelerine diferansiye olmaları da, BMP'lerin embriyojenik iskelet sisteminin oluşmasında rol aldıklarını göstermektedir.⁶⁵

Çok sayıda primitif hücrenin bölgede bulunduğu iyileşen fraktürlerde doğal olarak BMP'lerin salgılandığı gösterilmiştir. Kırık iyileşmesi sırasında bu proteinlerin lokal olarak düzenleyici rol oynadığı düşünülmektedir. İyileşme olmayan fraktürlerden elde edilen hücrelerinde BMP'ye karşı osteogenik cevap verdikleri tespit edilmiştir. Bu

da kırık iyileşmesinin olmamasının yeterli BMP'nin sağlanamadığından dolayı olabileceğini göstermektedir.^{42,59}

Demineralize kemiğin osteogenetik potansiyelinin temelinde kemik matriks proteinleri özellikle de BMP yer almaktadır. Demineralize kemik bütün BMP türlerini bilinmeyen oranda içerisinde bulundurmaktadır. Bu kemik indüksiyon süreci üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Histolojik ve biyokimyasal analizler ile demineralize bone matriksin implantasyonundan 5-10 gün sonra kartilaj dokunun oluşmaya başladığı ve 7-14 günlük sürede bu kartilajın mineralize olmasını takiben bunun yerini kemiğin aldığı belirlenmiştir.^{47,59,66,71-73}

Erişkin memelilerde BMP, osteoblastlar ve osteositler tarafından sentez edilmekte ve primer olarak kemik ve dentinde bulunmaktadır. BMP'nin kemikte az bulunmasından dolayı, biyolojik uygulamalar için yeterli miktarda elde edilebilmesi için çok fazla miktarda kemiğe ihtiyaç duyulmaktadır. BMP'ler yeterli derecede isole edilip pürüfiye edildikten sonra aminoasit diziliş sıraları (DNA kodları) belirlenmiştir.1988 yılında Wozney⁶⁵ BMP'nin DNA zincirinin klonlanmasını başarmış ve bu işlemde rekombinant olarak BMP'lerin istenilen miktarda üretilebilmesini sağlamıştır.⁶⁵

Klinikte BMP'nin rekombinant formunun pürüfiye olarak elde edilen formundan daha güvenli olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. Günümüzde recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) hamster over hücreleri kullanılarak elde edilmektedir. Esheria coli kullanılarak elde edilen rhBMP-2'nin kemik indüklemeye özelliklerinin karşılaştırılması sonucunda iki proteinin indüktif aktivitelerinin benzer olduğu görülmüştür.⁷⁴

Yapılan çalışmalar ile 0,5-115 mikrogram rhBMP-2 implantasyonunun 7 günde kartilaj formasyonu ve 14 günde kemik formasyonu oluşturduğu görülmüştür. rhBMP-2 dozuna bağımlı olarak kemik indüksiyonunda artış olduğu tespit edilmiştir.^{66,75-77} İmplant edilen rhBMP-2'nin optimal konsantrasyonu uygulanacak olan bölgeye ve deneğin cinsine göre farklılık göstermektedir.⁷⁸

2.6 Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF)

Anjiyogenez kemik iyileşmesi ve yeni kemik oluşumunda en önemli unsurlardan bir tanesidir. Çünkü ilgili dokunun yaşamını sürdürebilmesi vaskülarizasyonuna bağlıdır. Anjiyogenez iyileşen ya da oluşan yeni dokuya beslenmesini sağlayacak yeni damarların oluşturulmasıdır. Vasküler endotelial hücreler için oldukça spesifik, mitojenik bir faktör olan VEGF⁷⁹⁻⁸², anjiyogenez ve vaskülogenezin doku gelişimi ve

organ tamir işlemlerinde de rol oynayan hayati bir moleküldür.^{82,83} Başka bir deyişle VEGF endotel hücreleri için bir sağ kalım faktörüdür. Mikrovasküler geçirgenliği artmasına sebep olan bu faktör, aynı zamanda güçlü bir vazodilatördür.⁸¹⁻⁸³

Bu prosedür VEGF ve anjiyopoetin olarak adlandırılan iki ana hormonal yol ile kontrol edilmektedir. VEGF ilk olarak vascular permeability factor (VPF) olarak 1983' de tanımlanmıştır ancak tam olarak 1989' da anlaşılmış ve nitelendirilmiştir. VEGF, homodimerik, heparin-bağlayan glukoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır.^{80,84} Üzerinde çok fazla sayıda çalışma yapılmış temel büyüme faktörü olan VEGF-A; VEGF-A,B,C,D,E ve plasental büyüme faktörünü (PLGF) içeren ailenin bir parçasıdır. VEGF-A,B,D,E ve PLGF anjiyogenezi etkilerken, VEGF-C lenfatik damarları etkiler. VEGF olarak adlandırdığımız VEGF-A'nın çeşitli insan izoformları vardır.⁸³ Aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 ve VEGF206 gibi izoformları bulunan^{84,85} VEGF, biyolojik aktivitesini endotel hücreleri üzerindeki VEGF-R1 ve VEGF-R2 ile lenf damarları üzerindeki VEGF-R3 adlı üç reseptörü ile gerçekleştirir.⁸²⁻⁸⁴ VEGF reseptörlerinin aktivasyonu bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu sağlar.⁸⁴

VEGF, endotelyal hücreler, kondrositler⁸⁶, trombositler, megakaryositler, lenfositler ve plazma hücrelerinden salındığı, hedef hücrelerinin osteoblastlar ve endotelal hücreler olduğu, biyolojik fonksiyonlarının anjiyogenez^{87,88}, neovaskülarizasyon, kartilaj ve kemik büyümesi ve tamiri olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.⁸⁹ Endotelyal hücrelerin mitojenik aktivitesi ile vasküler geçirgenlik ve doku oksijenasyonu artırılmaktadır.⁹⁰

VEGF'nin kritik kemik defektlerin tedavisinde önemli olabileceği ve osteoprogenitör hücrelere direk etkisi olabileceği, osteoblast diferansiyasyonunu destekleyebileceği ve rejenere kemiğin minerilizasyonunu artırabileceği söylenmektedir.⁹¹ VEGF vasküler endotelyal hücrelerin gelişmesine öncülük etmekte, arter, ven ve lenfatik damarlara dönüşmesini sağlamaktadır.^{92,93}

Anjiyogenez kemik oluşumu ve tamirinde meydana gelen endokondral ossifikasyonda en önemli noktalardan birtanesidir çünkü avasküler kartilajen doku vaskularize osseöz dokuya dönüşmektedir.⁹² Epifizyel büyüme plaklarının içindeki hipertrofik kondrositler VEGF salınımını sağlamakta, metafizyel damarların kartilaja invazyonuna öncülük etmekte ve bu süreç yeni kemik formasyonu ile sonuçlanmaktadır.⁸⁶

Yapılan başka çalışmalarda ise VEGF'nin sadece endokondral ossifikasyonda değil aynı zamanda intramembranöz ossifiakasyonda da önemli olduğu⁹⁴⁻⁹⁶ ve hipertrofik kartilaj henüz görülmezken bile VEGF'nin salgılandığı, bu durumda VEGF'nin kırık bölgesindeki hematoma alanında var olabileceği rapor edilmektedir.⁹⁷ Aynı şekilde bir başka çalışmada VEGF salınımının yeni olgunlaşmamış kemikte osteoblastların yanında gözlemlendiği ve anjiyogenezin osteogenezden önce indüklendiği rapor edilmektedir.⁹⁸

VEGF'nin kemik oluşumu ve tamiri üzerine etkileri günümüzde araştırılan popüler konulardandır. Güncel çalışmalar VEGF'nin kemik hücreleri üzerine etkisi üzerine yoğunlaşmaktadır. Yapılan çalışmalarda VEGF'nin osteoblast diferansiyasyonu üzerinde direkt otokrin etkisi olduğu ve VEGF inhibisyonu ile kortikal kemik defektlerinde iyileşmenin olumsuz etkilendiği⁸⁷, VEGF'nin kemik mineralizasyon ve kemik densitesinde artışa öncülük ettiği⁹⁹⁻¹⁰³ ve VEGF'nin azalmasıyla kemik mineral ve densitesinde azalma olabileceği, VEGF'nin endotelial hücrelerin osteojenik faktörleri sentezlemesini stimule ederek indirek olarak kemik formasyonuna katkıda bulunabileceği rapor edilmektedir.^{104,105}

Ayrıca yapılan çalışmada VEGF'nin kemik oluşumu ve tamirinde yalnız olmadığı, mezenşimal kök hücreleri üzerine BMP-4 ve BMP-2 gibi diğer büyüme ve diferansiyasyon faktörleri ile işbirliği yaptığı ve sinerjistik etki gösterdiği, hücre yaşama ve kartilaj formasyonunda endokondral kemik formasyonunun erken döneminde bu etkileşimin olduğu rapor edilmektedir.¹⁰⁶

Yapılan başka çalışmalarda ise BMP ve VEGF arasında kırık iyileşme mekanizmalarında bir denge olduğu ve bu mekanizmalarda değişik faktörlerin etkileşimi olduğu rapor edilmektedir.^{107,108} BMP-2 osteoblast apoptozisini stimule ederken¹⁰⁹, VEGF inhibe etmekte¹¹⁰ ancak her iki faktör osteoblast diferansiyasyonunu stimule etmektedir. Her iki faktörün eksojen olarak kullanıldığı çalışmada kemik formasyonu ve induksiyonunu yalnız kullanımlarına göre daha fazla artırdığı gözlemlenmektedir.¹¹¹

2.7 Kontaminasyon ve Dekontaminasyon

2.7.1 Kontaminasyon

Modern cerrahinin gelişmesi, 19. Yüzyılın (yy) ortalarından itibaren anestezi ve bakterilerin bulunması, yara enfeksiyonuna bakterilerin neden olduğunun saptanması, antisepsi ve sterilizasyon tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur.¹¹²

Çene ve yüz cerrahisinde sterilizasyon, operasyonun başarısını etkileyen önemli bir faktördür. Ancak bazen istemeden operasyon sahası, operasyonda kullanılan cerrahi aletler ve kullanılan rekonstrüktif materyaller mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir. Çene ve yüz cerrahisinde greft kontaminasyonu, greftin yere düşmesi, steril olmayan alanlarla ya da tükürkle temas ederek oluşmaktadır.¹¹ Tükürkte 109 bakteriyel koloni ve 350 çeşit bakteri olduğu ve tükürük kontaminasyonunun enfeksiyon ve ameliyatın başarısızlığına neden olabileceği düşünülmektedir.¹

İmplant cerrahisinde kemik grefti toplanırken ya da intraoral blok greft uygulamalarında ilgili kemik grefti tükürkle kontamine olabilmektedir. Çünkü tükürük florası çeşitli mikroorganizmaları içermektedir. Bu mikroorganizmalar konuldukları alıcı bölgede periimplantitise ya da greftin iltihabi enfeksiyonlarına ve greft başarısızlığına yol açabilmektedir.

Yapılan çalışmada implant cerrahisinde kemik toplamak için kemik kolektörler kullanılırken çift tükürük emici kullanımının kontaminasyon oranını azalttığı gösterilmiştir.¹ Yine aynı çalışmaya göre implant öncesi antibiyotik profilaksisi ve ağzın gargara ile çalkalanması, sıkı sterilizasyon kurallarına uyulması durumunda kontaminasyon oranı azalmaktadır.¹

Kemik greftleri operasyon süresince alıcı bölgeye konulmadan steril olmayan çeşitli bölgelere temas edebilir. Yapılan çalışmalar cerrahların yaklaşık % 40-70'nin ameliyatlarda greft kontaminasyonu ile karşı karşıya geldiklerini rapor etmektedir.^{11,12}

Cerrahi alan enfeksiyonları sadece morbiditeyi arttırmaz, mortaliteyi de artırır; nitekim cerrahi hastaların ölümlerinin %77'si cerrahi alan enfeksiyonlarına bağlı olarak gerçekleşmektedir.¹¹²

Postoperatif yara enfeksiyonu, ani cerrahi alan enfeksiyonu, cerrahi işlemler sonrasında morbidite ve mortaliteye en sık yol açan, ama aynı zamanda kaçınılması da mümkün olan bir komplikasyondur.¹¹² Ameliyatlardan sonra gelişen enfeksiyonlar hastanın fazladan hastanede yatmasına, fazladan masraf yapılmasına, iş-güç kaybına ve belki gelişecek komplikasyonlar nedeniyle yeni ameliyatlara, yeni masraflara ve

yeniden iş-güç kayıplarına yol açmaktadır. Cerrahi alan infeksiyonları belli ilkelere ve protokollere uyulduğu zaman azaltılabilmektedir.¹¹²

2.7.2 Dekontaminasyon

Dekontaminasyon yaşayan doku ya da materyalden kontaminasyon sonrası yabancı maddenin, mikroorganizmaların ya da her ikisinin birlikte uzaklaştırılmasıdır. Çene ve yüz cerrahisinde yara bölgesi, greft, implant ya da cerrahi operasyonlarda kullanılan aletler mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir. Canlı ve cansız materyallerin dekontaminasyonları birbirlerine göre farklılık göstermektedir.

Cerrahi operasyon sırasında greftin kontamine olması cerrah için oldukça sıkıntılı bir durumdur ve eğer başka bir greft alma imkanı yoksa hastadan aldığı grefti mecburen dekontamine edip kullanması gerekecektir. Ancak cerrah otojen grefti dekontamine ettiğinde dekontaminasyon süresince de onun osteoindüktif ve yapısal kalitesini de devam ettirmeye çalışmalıdır.¹³

Yapılan çalışmalarda dekontaminasyon için kimyasal solüsyonlar ve antibiyotik içerikli solüsyonlar kullanılmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda genel olarak solüsyonların mikroorganizmalar üzerine yaptıkları etkiye bakılmış ancak kemik üzerine etkileri üzerine yeterince çalışma yapılmamıştır. Cerrahi operasyonlarda dekontaminasyon için povidon iyot, rifamisin, klorheksidin ağız gargaraları, klindamisin, neomisin, tetrasiklinler, sefazolin sodyum, hidrojen klorid, etil alkol, hidrojen peroksit gibi solüsyonlar kullanılmaktadır.^{12,13}

Yapılan çalışmada kontaminasyon kazasına uğramış 40 cerrahın en az bir ya da daha fazla dekontaminasyon metodunu takip ettiği ve bu metodların: düşük basınçlı salinle yıkamak (%90), basitrasin solüsyonu ile yıkamak (% 70), povidon iyot ile yıkamak (%65), otoklavda bekletmek (%18), hidrojen peroksitle yıkamak (%10) ve diğer spesifik olmayan metodlar olduğu söylenmektedir.¹²

Alanımızda sıklıkla ağız ve yara dekontaminasyonu için genellikle povidon iyot, klorheksidin içeren ağız gargaraları ve antibiyotik içeren solüsyonlar özellikle rifamisin kullanılmaktadır. Klorheksidin glukonat üzerine yapılan çalışmada ağız operasyon öncesi gargara edilmesiyle önemli ölçüde bakteriyel azalma tesbit edilmiştir.¹ Kürkçü ve ark⁵⁶ yaptıkları çalışmada ise klorheksidin ile operasyon öncesi ağız çalkalanması işlemi ile bakteriyel azalma sağlandığını ancak anaerob bazı bakteri türlerinin yaşamlarını devam ettirdiklerini ve enfeksiyon riskinin mevcut olduğunu söylemektedir.

Kuttenberger'in¹⁵ yapmış olduğu çalışmada ise 200 ml 0,1% klorheksidin solüsyonu ile filtreli kemik toplayıcı aperielerin kullanımında bakteriyel kontaminasyonun önemli ölçüde azaldığı rapor edilmektedir.

Tezulaş ve ark¹¹³ yaptıkları çalışmada klindamisin ve klorheksidin glukonatın etkili olduğu ancak her iki solüsyon arasında fark bulunmadığı söylenmektedir. Yine Tezulaş ve ark¹ yaptıkları başka bir derlemede toplanan kemik partiküllerini tamamen dekontamine eden bir metod bulunmadığını rapor etmişlerdir. Yapılan bu derlemede klorheksidin, rifamisin ve tetrasiklinin dekontaminasyon için kullanıldığını ancak kemiğin ekpoze olup ağzın klorheksidin ile çalkalandığı durumlarda operasyon sonrasında iyileşme bozukluğu ve yara iyileşmesi gecikmesi olduğu, bu nedenle klorheksidin yara iyileşmesi üzerine negatif bir etkisi olduğu yapılan çalışmada rapor edilmektedir.¹¹⁴

Povidon iyotta hekimler tarafından sıklıkla kullanılan önemli bir kimyasal solüsyondür. Ancak bu solüsyonun yara iyileşmesi, mikrobiyal etkinlik ve dokular üzerine etkileri konusunda çalışmalar tartışmalıdır.^{14,115,116}

Molina ve ark¹¹⁵ 10%'luk povidon iyot ile yapılan dekontaminasyon sonrası %24 pozitif kültür elde ettiklerini rapor etmektedirler. Cruz ve ark¹¹⁶ ise 10%'luk povidon iyotun mikroorganizmalar üzerine etkili olduğunu ve toksik olmadığını rapor etmektedir. Soyer ve ark¹⁴ 10%'luk povidon iyotun etkili bir dekontaminant olduğunu rapor etmektedir.

Severyns ve ark¹¹⁷ düşük konsantrasyonlu povidon iyotun arter ve ven endoteli üzerine toksik etkisi olduğunu ve mikroorganizmalar üzerine efektif olmadığını, Stanford ve ark¹¹⁸ ise 10%'luk povidon iyotun yetersiz sterilizasyon yaptığını, düşük patojenitede etkili olduğunu ancak yüksek patojenite durumunda yetersiz olduğunu rapor etmektedir.

Yaman ve ark¹³ yaptıkları çalışmada birçok solüsyon dekontaminasyon için karşılaştırılmalı olarak test edilmiştir. Bu çalışmada 4% klorheksidin solüsyonunun bakteri eliminasyonu yapmadığı, bu nedenle dekontaminasyon için uygun olmadığı rapor edilmektedir. 40 mg neomisin-polimiksin solüsyonunun etkili olduğu ve kemik histolojisinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı bildirilmiştir.

Sefazolin sodyumun ise bazı bakteri türlerine karşı etkili iken bazı türlere karşı etkili olmadığı ve kemik mikroskopik yapısının normal olduğu rapor edilmektedir. 2%'lik iyodin, 2.4%'lük sodyum iyodin ve 50% etanol solüsyonlarının bakterilere karşı etkili olduğu ancak histolojik olarak kemik trabeküllerinin organizasyonunu bozduğu,

duvar kalınlaşması ve bazı bölümlerde nekroz görüldüğünden dekontaminasyon için uygun olmadığı rapor edilmektedir.¹³

10%'luk benzalkonium ve 15%'lik setrimid +1,5%'luk klorheksidin solusyonlarının ve 3%'lük hidrojen peroksit solusyonunun bakteriyel eliminasyon yapmadığı rapor edilmektedir.¹³ Otoklav ve 10%'luk formaldehitin bakterilere karşı etkili olduğunu ancak histolojik olarak lenfosit infiltrasyonuna, kan damarlarının düzensizliğine ve havers kanallarının içinde ödem ve nekroza neden olduğu için dekontaminasyon için uygun olmadığı yapılan çalışmada rapor edilmektedir.¹³

Yine bu çalışma 10%'luk povidon iyotun bakterilere karşı etkili olduğu, Havers kanallarının düzenli, osteositlerin normal ve osteoblastların aktif olduğunu böylelikle bu solusyonun dekontaminasyon için uygun olduğunu ancak çeşitli araştırmacılar tarafından povidon iyotun toksik olup olmadığını ve bakterilere karşı etkisinin halen tartışmalı olduğunu rapor etmektedir.

Yaman¹³ ve ark yaptıkları çalışmada rifamisin bakterilere karşı etkili olduğunu ve histolojik olarak da kemik yapısına herhangi bir zarar vermediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada karşılaştırılan solüsyonlar arasında dekontaminasyon için en uygun ve etkili ajanın rifamisin olduğu rapor edilmektedir.

Yapılan bir çalışmada toplanan kemik partiküllerinin dekontaminasyonu için rifamisin seçilmiştir. Çalışmada dekontaminasyon için rifamisin seçilmesinin nedeni olarak; bakteriyel bir ilaç olması, çene ve yüz cerrahisinde abse kavitelerinin yıkanmasında, perikoronitis tedavisinde, diş çekimi sonrası oluşan enfektif alveolit ve travmatik lezyonlarda yaygın olarak kullanılması olarak açıklanmaktadır.¹⁶ Başka çalışmalarda da rifamisin topikal uygulamasının kemik doku tarafından iyi tolere edildiği ve enfeksiyona bağlı olarak gelişen komplikasyon insidansını sınırladığı için ortopedik cerrahide sıklıkla kullanıldığı rapor edilmektedir.^{119,120}

Ayrıca başka bir çalışmada da rifamisin tek ya da diğer ilaçlarla kombine olarak kemik dokusu üzerine direkt uygulanması ile kemik doku üzerine negatif bir etkisinin gözlemlenmediği rapor edilmektedir.¹²¹

2.7.3 Rifamisin

Rifamisinler *Streptomyces mediterranei*'den üretilmiştir ve Rifamisin A, B, C, D ve E diye adlandırılan beş antibiyotik elde edilmiştir. Rifamisin B' den de üç yarı-sentetik antibiyotik türetilmiştir. Rifamid, rifamisin sodyum ve rifampisin adı verilmiş olan bu antibiyotikler duyarlı bakterilerde DNA kontrolü altında yapılan mRNA sentezini RNA polimeraz enzimini inhibe ederek, bozarlar; bakterisid etki gösterirler. Rifamid kullanılması terk edilmiş bir ilaçtır; rifamisin sodyumda parenteral ve ya da topikal olarak seyrek kullanılan bir ilaçtır. Rifampisin ise özellikle tüberküloz tedavisinde, ayrıca antistafilokokal ilaç olarak ve diğer bazı endikasyonlarda yaygın olarak kullanılan önemli bir ilaçtır.

Rifamisinler, gram-pozitif kokuslara (streptokoklar, pnömokoklar ve özellikle *Stafilokokkus aureus*'a), gram-negatif kokuslara (özellikle *N.meningitidis*' e), gram-negatif basillere ve *Myobacterium tuberculosis* ve *M.Leprae* gibi aside-dayanıklı bakterilere karşı etkilidirler.¹²²

Rifamisin sodyum suda fazla çözünen kırmızı renkli bir maddedir. Gastrointestinal kanaldan çok az rezorbe edildiği için ağızdan kullanılmaz; sadece parenteral kullanılır. Buna karşılık, rifampin, gastrointestinal kanaldan iyi absorbe edilir ve esas olarak ağızdan kullanılır. Rifampin' in vücut sıvılarına dağılımı iyidir, serebrospinal sıvıya yeterli derecede geçer. Rifamisin serebrospinal sıvıya geçmez. Her iki ilaç da büyük kısımları itibariyle karaciğerden safra içine itrah edilir. Safradaki konsantrasyonları, plazmadakinden çok daha yüksektir.¹²²

Rifamisin 1963'den itibaren sıklıkla açık ve kapalı yaraların irrigasyonunda, enfekte olmuş cerrahi ya da kutanöz yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Rifamisinin ilk lokal kullanımının tüberkülozlu hastalarda akciğer kavitelerinin temizlenmesi olduğu söylenmektedir.¹²³ Rifamisinlerdeki yara iyileşmesi diğer lokal antibiyotiklere göre daha iyi olmakta ve bu nedenle enfekte kutanöz yaraların tedavisinde kullanılmaktadır.¹²⁴

Rifamisinin yan etkileri oldukça azdır. Genellikle ilacı aralıklı alan kişilerde grip benzeri semptomlar görülmektedir. Rapor edilen diğer yan etkiler interstisyel nefrit, trombositopeni ve hemolitik anemidir. Rifamisinin lokal uygulanmasıyla nadir olarak alerjik kontak dermatitis görüldüğü ve yine çok nadir olarak rifamisinin cerrahi yaralarda uygulanmasıyla anaflaktik reaksiyon geliştiği söylenmektedir.^{124,125,126}

İselin¹²⁷ el yaralanmalarında topikal rifamisin kullanımının yararlı olduğunu, Rifamisin'in hem enfeksiyonu kontrol altına aldığını hemde yara iyileşmesini kontrol

grubuna göre hızlandırdığını rapor etmektedir. Bir başka çalışmada da rifamisin'in yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisi olmadığı rapor edilmektedir.¹²⁸

Rifamisin'in gram (+) ve gram (-) patojenlere karşı etkili olduğu için polimikrobik enfeksiyonların tedavisinde etkili olduğu¹²⁹ ve ortopedik protezlerle ilişkili kemik doku içerisine yayılmış enfeksiyonlar ile osteomyelit tedavisinde sıklıkla kullanıldığı rapor edilmektedir.¹³⁰⁻¹³⁴

Yapılan başka bir çalışmada rifamisin ile dekontamine edilen örneklerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde bakteriyel azalma tesbit edilmiştir.¹⁶

3. MATERYAL ve METOD

Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (CÜBAP) tarafından desteklenen DİŞ-074 kodlu bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda ve Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmaya başlamadan önce, 04/06/2009 tarih ve 170 sayılı Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alındı ve çalışma sırasında Cumhuriyet Üniversitesi Etik Kurulu yönergelerinin 13. maddesinde belirtilen "Etik kurallara uygunluk esası" kararına uyuldu.

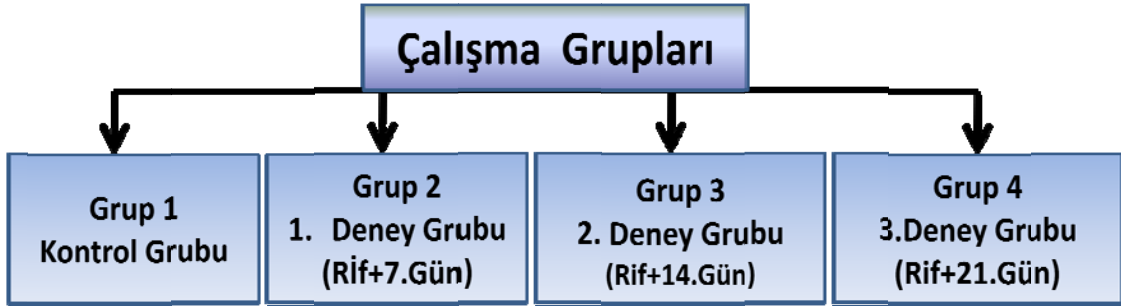
Çalışmanın deneysel kısmı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu 04/06/2009 tarih ve 170 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma veteriner kontrolü ile sağlıklı olduğu belirlenen ağırlıkları yaklaşık 250-300 gram olan, ortalama 12 haftalık yetişkin 40 adet Wistar cinsi albino rat üzerinde yapıldı.

Bu çalışma için kullanılacak olan ratlar, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Denekler, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusu sağlanacak şekilde tutularak, serbest diyet ve içme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Oda ısısı 22 ± 2 °C' de sabit tutuldu. Buldukları odanın nispi nem oranı % 30-45 arasında tutularak, odanın havalandırması filtre edilerek, kontaminasyon riski önlendi. Ratlar kafeslerde tek olarak ve altlarında talaş olacak şekilde barındırıldı.

3.1 Deney hayvanlarının gruplandırılması

Deney hayvanları 4 gruba ayrıldı ve her grup 10 deney hayvanından oluşturuldu (Bkz Şekil 3.1). Deney gruplarında sağ mandibula angulus bölgesinden alınan 5 mm çapında otojen kemik greft tükrükle 15 saniye kontamine edilip daha sonra 10 dakika %5'lik 5 ml rifamisin (RİF 250 mg, 3 ml ampul, Koçak Farma, Türkiye) solüsyonuyla dekontamine edilerek sol mandibula angulus bölgesine onley greft olarak yerleştirildi. (Bkz Şekil 3.2) Deney grupları onlay greft uygulamasının değerlendirilmesi için 7, 14. ve 21. günlerde sakrifiye edilecek şekilde 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubunda 5 mm çapında bikortikal otojen kemik greft deney hayvanının sağ mandibula angulus bölgesinden alınıp herhangi bir işlem yapılmadan sol mandibula angulus bölgesine

onley greft olarak fikse edildi (Bkz Şekil 3.3). Kontrol grubunda bulunan deney hayvanları 21. günde sakrifiye edildi.





Şekil 3.2 Dekontaminasyon için kullanılan rifamisin solüsyonu.

3.2 Cerrahi teknik

Deneklerin yiyecek ve içecek alımı operasyondan 24 saat önce kesildi. Deney hayvanlarının anestezisi intramusküler enjeksiyon yöntemi ile 3 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul, Turkey) ve 90 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Turkey) kullanılarak sağlandı. Yeterli bir anestezi derinliği için göz kapağı refleksinin kaybolması beklenildi ve betadin kullanılarak mandibula çevresi boyandı. Steril örtüler kullanılarak deneğin üstü ve yüzü örtülerek operasyona hazır hale getirildi. Kullanılacak olan el aletleri dahil olmak üzere bütün malzemeler otoklavda sterilize edildi. Operasyonda asepsi ve antisepsi kurallarına dikkat edilerek steril olarak çalışıldı.

Çift taraflı olarak mandibula angulus bölgesindeki deri traş edildi. Mandibula angulus bölgesinde bazis mandibulanın 1 cm altından olacak şekilde ve 1 cm uzunluğunda deri, subkutan doku ve periostu içine alacak şekilde insizyon yapıldı. Kemik yüzeyi açığa çıkacak şekilde flap kaldırıldı. (Bkz Şekil 3.4) Standart kritik boyutta 5 mm çapında bikortikal kemik grefti trefin frez kullanılarak irrigasyon altında alındı. (Bkz Şekil 3.5-3.6-3.7) Daha sonra deri flebi sırasıyla önce kas ve cilt altı fasyalar ve cilt 5-0 poliglaktin 910 (Vikril Jonson&Johnson/ethicon) sutur kullanılarak

orjinal pozisyonuna suture edildi. Takiben alınan kemik greftin merkezine 0.5 mm çapında elmas alev uçlu frezle irrigasyon altında delik açıldı (Bkz Şekil 3.8). Alınan kemik greft ratın ağız içinde tükrüğüyle 15 saniye kontamine edilip daha sonra % 5'lik 5 ml rifamisın (RİF 250 mg, 3 ml ampul, Koçak Farma, Türkiye) solusyonu ile 10 dk dekontamine edildi. (Bkz Şekil 3.9-3.10) Alıcı bölgenin hazırlanması için mandibula angulus bölgesinde bazis mandibulanın 1 cm altından olacak şekilde ve deri, derialtı dokular, periostu içeren 1 cm uzunluğunda insizyon yapıldı. Daha sonra mandibula yüzeyi açığa çıkarılacak şekilde flap kaldırıldı ve angulus mandibula bölgesine 0.5 mm çapında elmas alev uçlu frezle irrigasyon altında delik açıldı (Şekil 3.11) . Alınan otojen blok kemik grefti ipek 4-0 sutur (Doğsan, Türkiye) ile angulus mandibulaya fikse edildi (Bkz Şekil 3.12-3.13-3.14).

Takiben kaldırılan deri flebi sırasıyla kas, cilt altı fasya ve cilt 5-0 poliglaktin 910 (Vikril Jonson&Johnson/ethicon) sutur kullanılarak yerine dikildi.(Bkz Şekil 3.15)

3.3 Ratların bakımı ve deneyin sonlandırılması

Postoperatif olarak deney hayvanlarına analjezik olarak Carprofen 4mg/kg (Rimadyl, Pfizer) ve antibakteriyel olarak Ceftriaxon 25 mg/kg (Rocephin, Roche) 5 gün süre ile intramusküler yöntemle uygulandı. Deney sonunda ratlar 200mg/kg sodyum pentobarbital (Petotal, Abbot, ABD) kullanılarak sakrifiye edildi. Alıcı bölgesindeki rat mandibulaları diseksiyon yapılarak çevresindeki yumuşak dokuyla birlikte çıkarılarak %10'luk formol içine konuldu.



Şekil 3.3. Alınan kemik greft bölgesinin şematik görüntüsü



Şekil 3.4 Greft alınan bölgedeki deri ve deri altı insizyonu



Şekil 3.5 5mm çapında trefin frezle kemik osteotomisi.



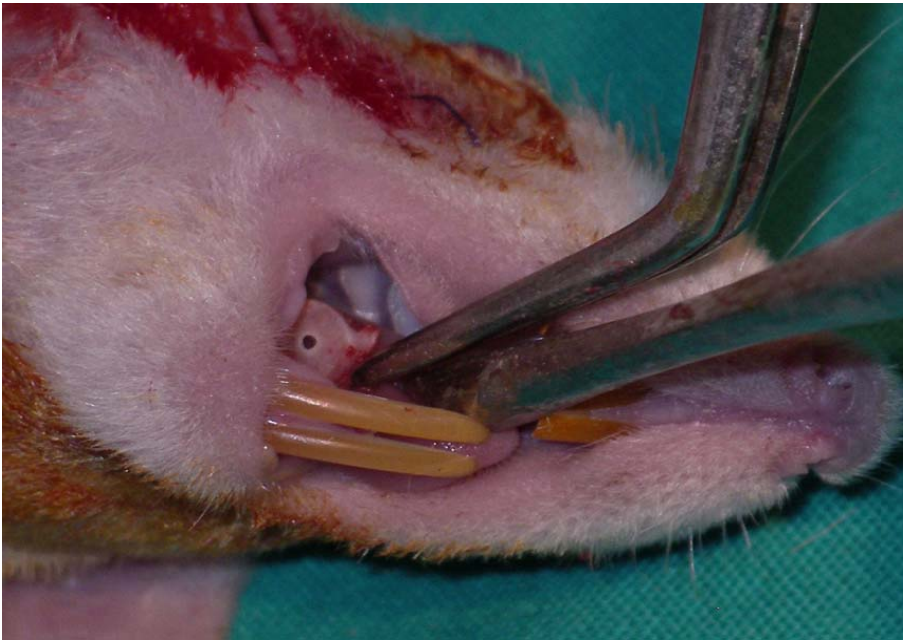
Şekil 3.6 Otojen kemik greftin bikortikal blok şekilde çıkarılması.



Şekil 3.7 Çıkarılan blok otojen kemik greft.



Şekil 3.8 Kemik grefte alev uçlu frezle ortasından açılan delik



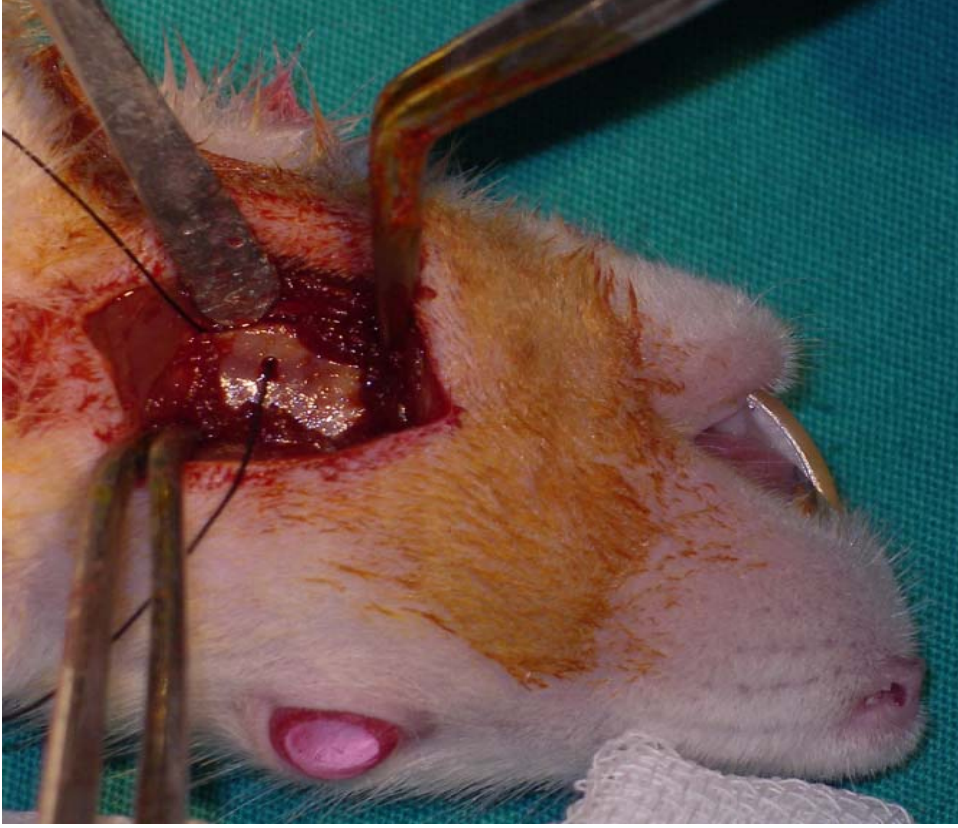
Şekil 3.9 Otojen kemik greftin rat tükürüğü ile kontamine edilmesi.



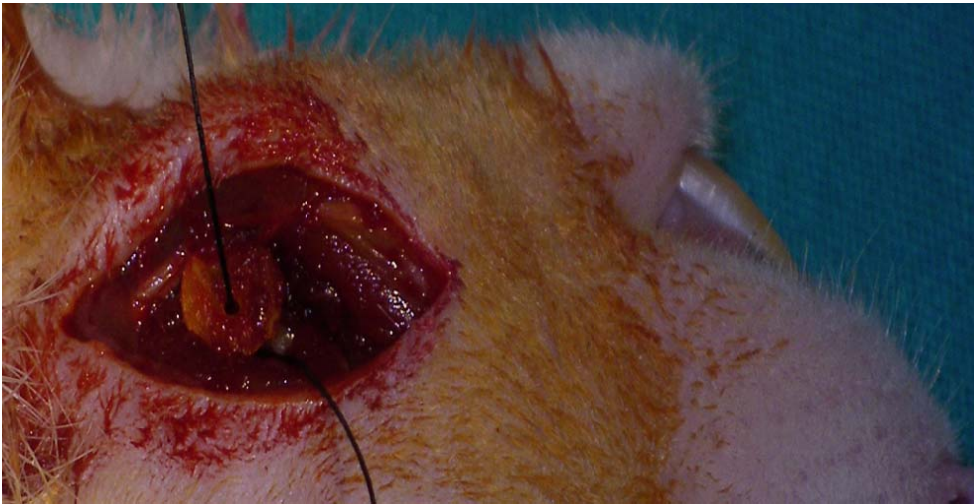
Şekil 3.10 Otojen kemik greftin 5ml rifamisin ile dekontamine edilmesi.



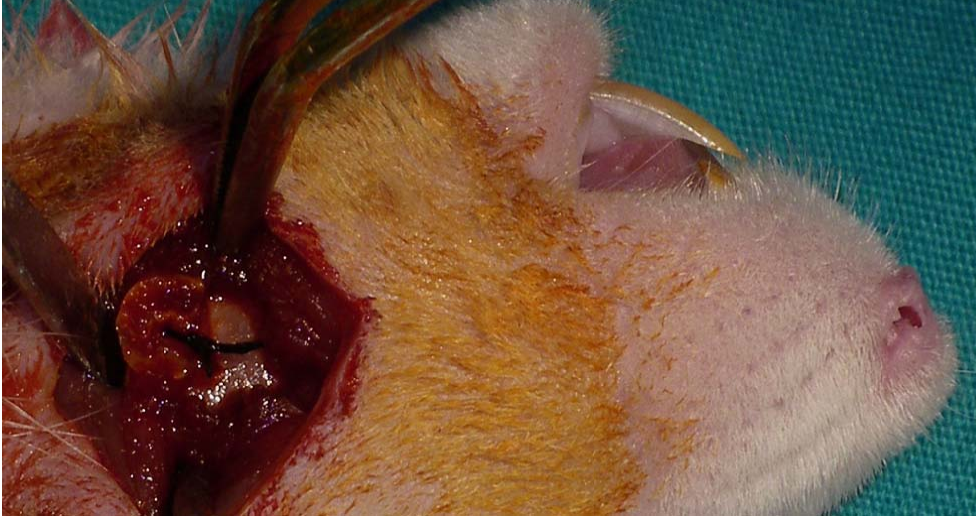
Şekil 3.11 Alıcı bölgede greftin fiksasyonu için alev uçlu frezle delik açılması.



Şekil 3.12 İpek suturun açılan delikten geçirilmesi



Şekil 3.13 Kemik greftin alıcı bölgeye fiksasyonu.



Şekil 3.14 Otojen blok kemik greftin onlay olarak fikse edilmesi.

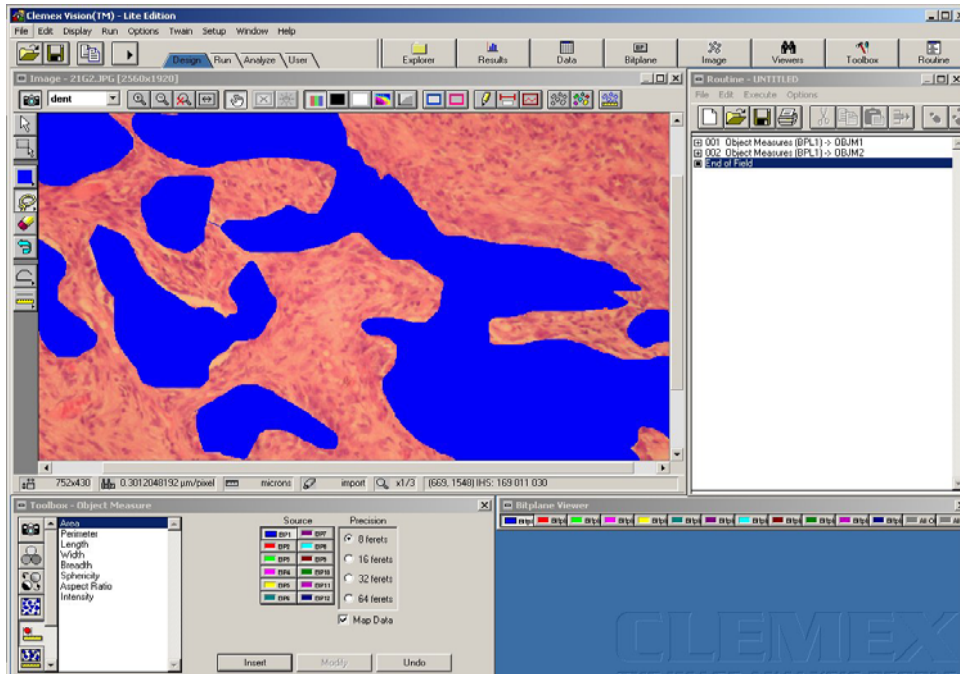


Şekil 3.15 Cilt ve cilt altı dokuların suture edilmesi.

3.4 Histomorfometrik Yöntem

Doku örnekleri %10'luk formik asit kullanılarak dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrasında örnekler defekt bölgesine komşu kemik fragmanlarını içine alacak şekilde defekt bölgesinin uzun aksına paralel parçalara ayrılarak, ototeknikon takibine alındı. Takip sırasında parafine gömülen doku örneklerinden mikrotom yardımı ile 5µm lik kesitler lama alınarak Hematoksilen Eozin ile boyandı. Boyanan preparatlar Nikon Eclipse E400 ışık mikroskopu ile değerlendirildi. Bu değerlendirme sırasında mümkün olduğunca aynı bölgeler seçilerek ışık mikroskobuna bağlı Nikon Coolpix 5000 dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı. Fotoğraflama esnasında kalibrasyon amacı ile Nikon Stage Micrometer TypcA (MBM 11100) görüntüsü de aynı mikroskobik büyütmelelerde alındı. Tüm görüntüler PC ortamına aktarıldı ve Clemex PE 3.5 görüntü analizi programı ile değerlendirildi.(Bkz Şekil 3.16) İlk olarak her olguda 0,4 mm²'lik alanlar görüntü analiz programı ile seçildi.

Seçilen alanlardaki osteoblastlar ve osteoklastlar işaretlenerek otomatik olarak saydırıldı. Ayrıca seçilen aynı 0,4mm² alandaki yeni kemik oluşum alanları da Hematoksilen Eozin ile boyalı preparatların dijital fotoğraflarından aynı görüntü analizi programı yardımı ile hesaplandı.



Şekil 3.16 Clemex PE 3.5 görüntü analiz programı ile yeni oluşan kemik bölgeleri mavi renkte gösterilmektedir.

3.5 İmmünohistokimyasal yöntem

İmmünohistokimyasal yöntem yazılı olan protokollere uyularak yapıldı. %10' luk formolle fikse edilip rutin takipten sonra parafin bloklara gömülen seçilmiş doku bloklarından poly-L lizin kaplı lamlara 5 µ kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 56°C' lik etüvde 16 saat bekletilerek deparafinize edildi. 30 dakika ksilolde bekletildi. %100, %95 ve %90' lık alkollerde sırasıyla 5'er dakika bekletilerek rehidrate edildi. Daha sonra distile suda hidrate edildi. 5 dakika Mikrodalga fırında Monoclonal Anti-human Pro-BMP-2 Antibody ve Anti-human VEGF Antibody yeterli ısıda, EDTA tampon solüsyonu bulunan şale içinde 3 kez, 5 dakika bekletildi. Dödüklü tencerede P53, P27, CerbB2, Survivin yüksek ısıda, sitrat buffer tampon solüsyonu içinde 20 dakika bekletildi. İşlem sonrası, oda ısısında 20 dakika buldukları solüsyon içerisinde soğumaya bırakıldı. Distile suda 5 dakika bekletildi. Dokuların etrafı Pappen kalem ile çizildi. PBS solüsyonunda (pH:7.6) 5 dakika yıkandı. Kesitler nemli ve kapaklı bir ortama yerleştirildi. Doku kesitleri üzerine Hidrojen Peroksit damlatıldı ve 20 dakika süre ile inkübe edildi. Distile su ile yıkandı. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Large Volume Ultra V Blok (Lab.Vision, Cat; TA-125-UB) solüsyonu damlatıldı ve 5-10 dakika inkübe edildi. PBS'ten hızlı geçirilerek lamlar silkelendi ve primer antikor (rhPro-BMP-2, clone: 253717, mouse monoclonal), (rhVEGF₁₆₅, clone AB-293-NA, Goats) damlatıldı. 60 dakika inkübe edildi. Distile su ile yıkandı. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Sekonder antikor Biotinli Goat Anti- Polyvalent (lab vision, kat: TP-125-BN) damlatıldı ve 20 dakika inkübe edildi. Distile su ile yıkandı. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Large Volume Streptavidin Peroxidase (Lab. Vision. Cat: TS-125-HR) damlatıldı ve 20 dakika inkübe edildi. Distile su ile yıkandı. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı. Kromogen uygulaması olarak Lab. Volume DAB substrade (lab Vision Kat: TA-012-HDC) damlatıldı ve 10-15 dakika inkübe edildi. Kesitler lam boyama kabına alındı ve distile suda yıkandı. Mayer Hematoksilen ile 2 dakika süre ile zıt boyama yapıldı. Çeşme altında 5 dakika süre ile yıkandı. Distile sudan geçirildi. Amonyaklı distile suda matlık giderildi. Distile suda 5 dakika yıkılarak amonyak giderildi. Su bazlı kapama malzemesi ile kapatıldı. Böylelikle kesitler fotoğraflamaya hazır hale getirildi.

AntiVEGF ve AntiBMP-2 ile boyalı preparatlarda 0,4 mm² lik alanlar seçildi. Bu alanlar seçilirken aynı bölgelerin seçimine dikkat edildi ve Işık mikroskobuna bağlı Nikon Coolpix 5000 dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflandırıldı. Fotoğraflama esnasında kalibrasyon amacı ile Nikon Stage Micrometer görüntüsü de aynı

mikroskopik büyütmelelerde alındı. Tüm görüntüler PC ortamına aktarıldı ve Clemex PE 3.5 görüntü analizi programı ile değerlendirildi.(Şekil 3.6)

VEGF ile immünohistokimyasal olarak boyanan preparatların fotoğraflarında aynı görüntü analizi sistemi ile 0,4mm²'lik alan seçilerek bu alanlardaki pozitif boyanan hücreler işaretlenerek otomatik olarak saydırıldı. Aynı bölgedeki 0,4mm²'lik alanda antiBMP-2 ile immünohistokimyasal olarak pozitif ekspresyon gösteren hücreler de işaretlenerek görüntü analizi programı ile otomatik olarak saydırıldı.

3.6 İstatistiksel yöntem

Çalışmanın verileri SPSS(Ver; 14.0 for Windows) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde Varyans analizi ve Tukey testi kullanıldı. Veriler tablolarda aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde belirtilip yanılma düzeyi 0.05 olarak alındı.

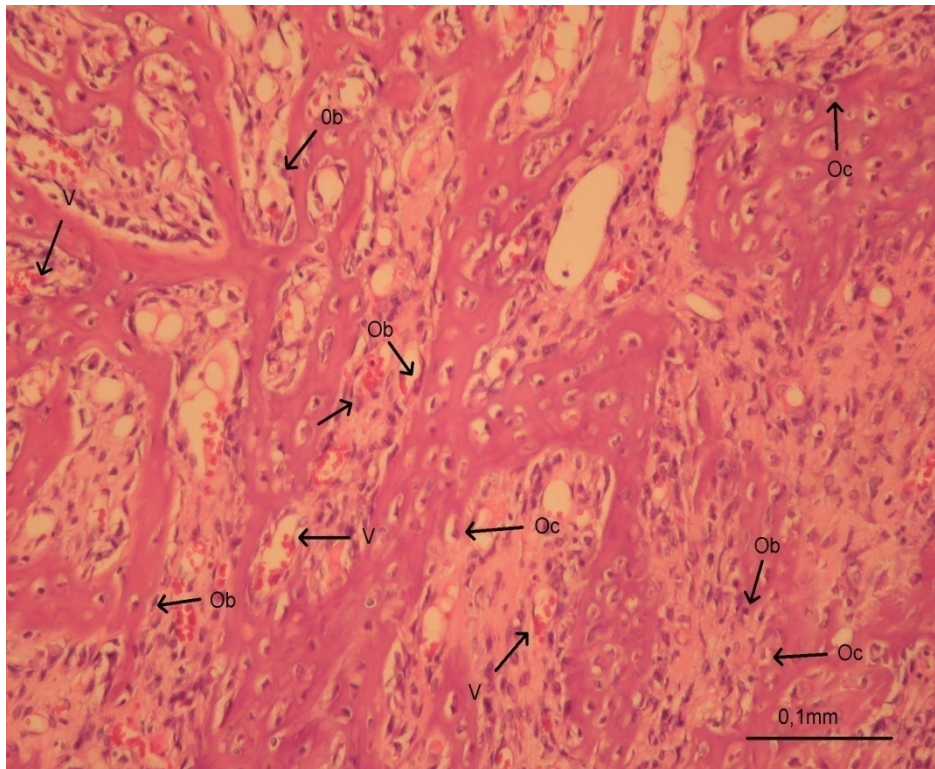
4.BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

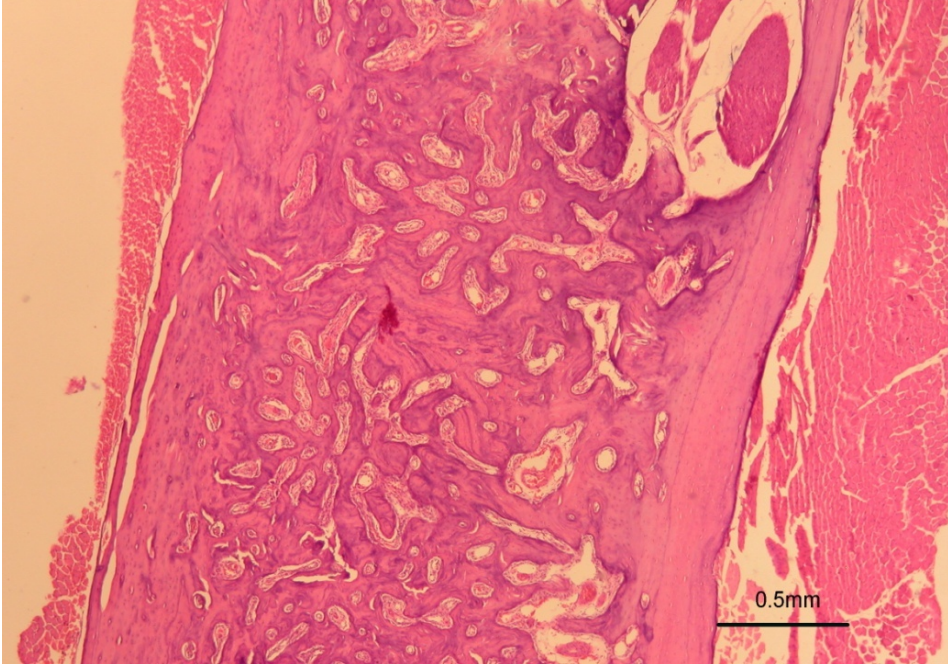
Deneysel çalışma süresince ratların uygulanan cerrahi işlemi iyi tolere ettiği, beslenmeleri açısından herhangi bir olumsuzluk gelişmediği, operasyona bağlı herhangi bir enfeksiyon oluşmadığı ve deneklerin genel sağlık durumlarının iyi olduğu gözlemlendi.

4.2 Histopatolojik Bulgular

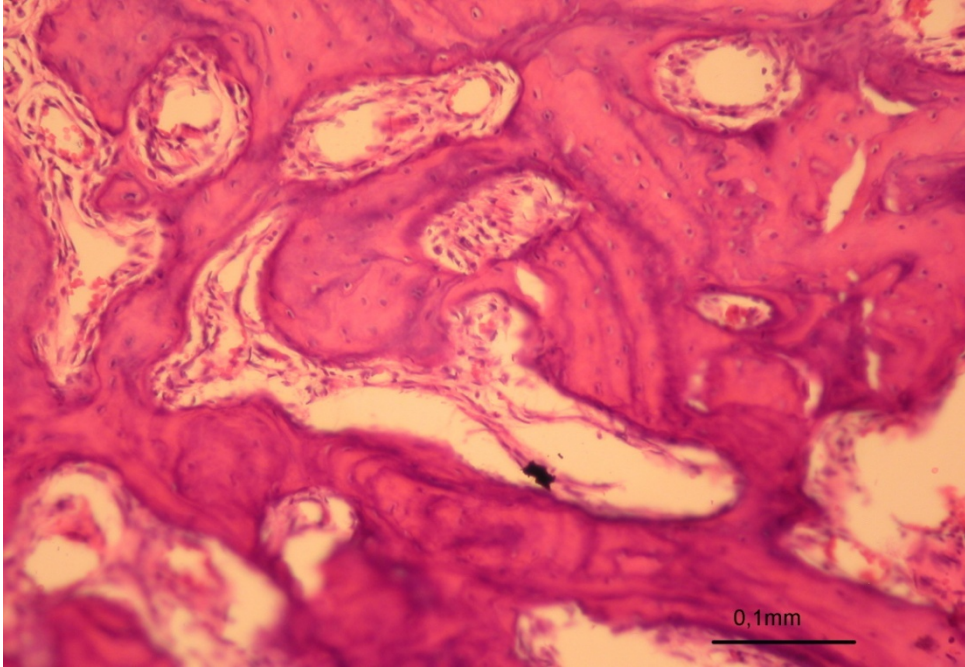
Histolojik olarak kesitlerde osteoblast ve osteoklast sayısı, yeni oluşan kemik alanına bakılmıştır.(Bkz Şekil 4.1-4.2)



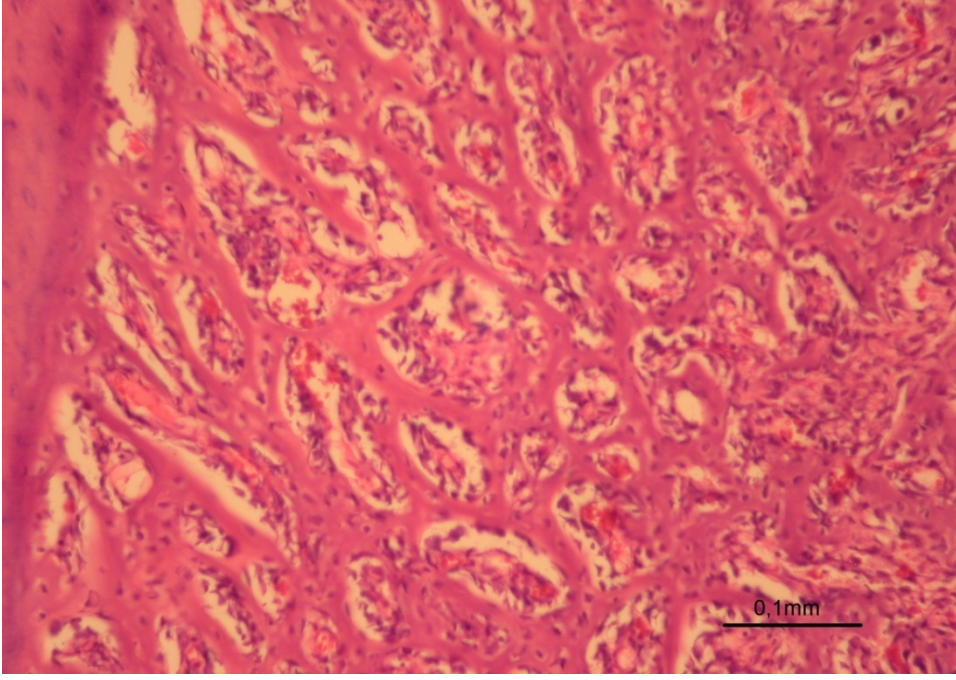
Şekil 4.1 Hematoksilen boyama ile hücrelerin gösterilmesi (OB:osteoblast, OC:osteoklast, V:damar, Boya: HE)



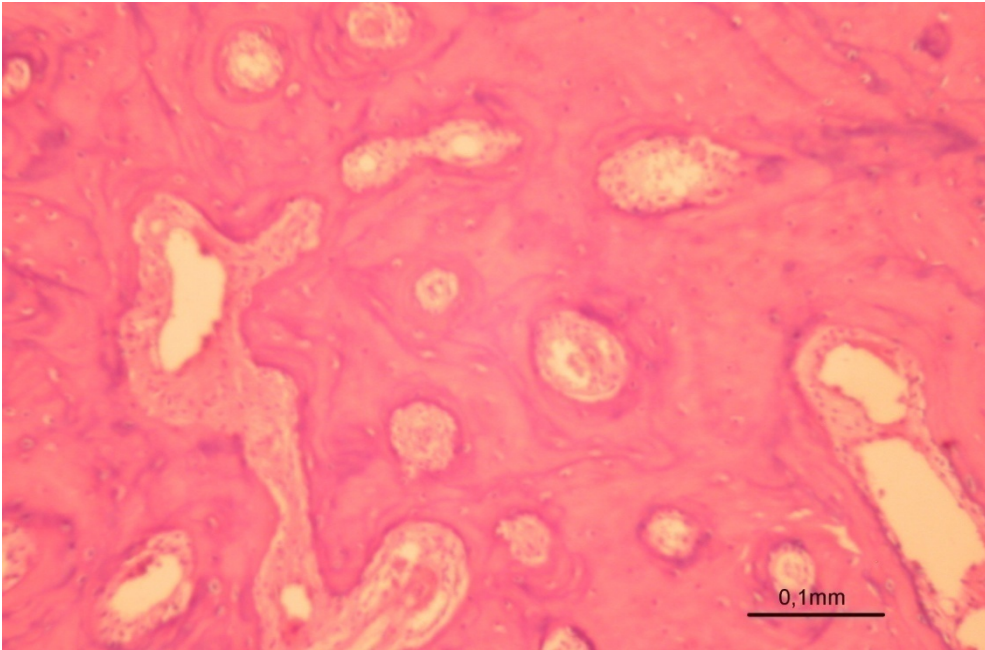
Şekil 4.2 Greft ve alıcı bölge arasında oluşan kemiğin histolojik görüntüsü (Boya: HE)



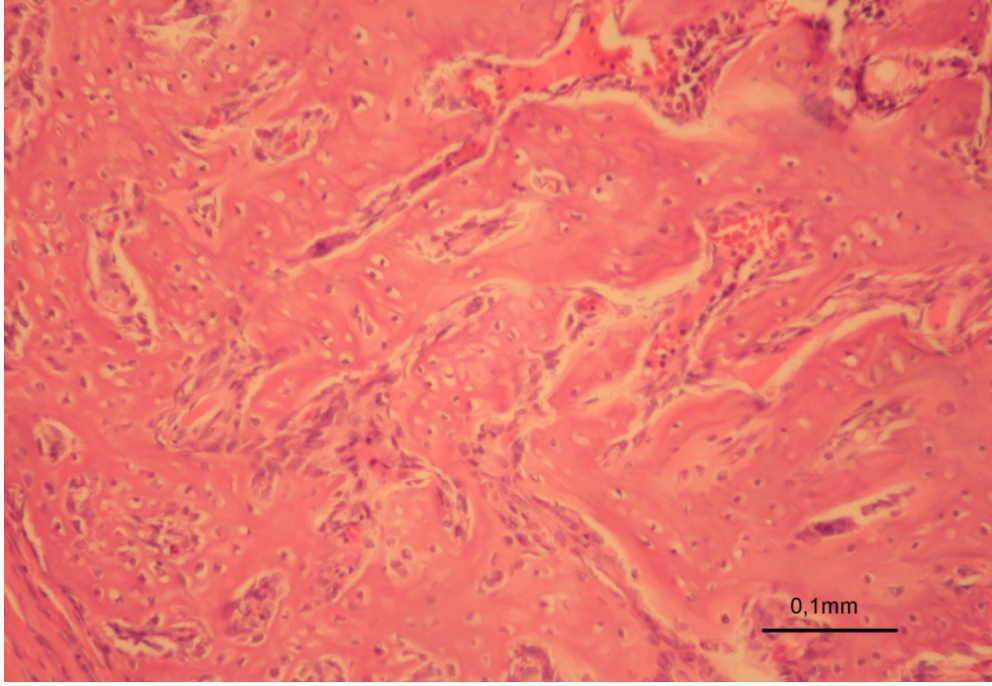
Şekil 4.3 Kontrol grubuna ait histolojik görüntü (Boya: HE)



Şekil 4.4 Birinci deney grubuna (rifamisin+7.gün) ait histolojik görüntü (Boya: HE)



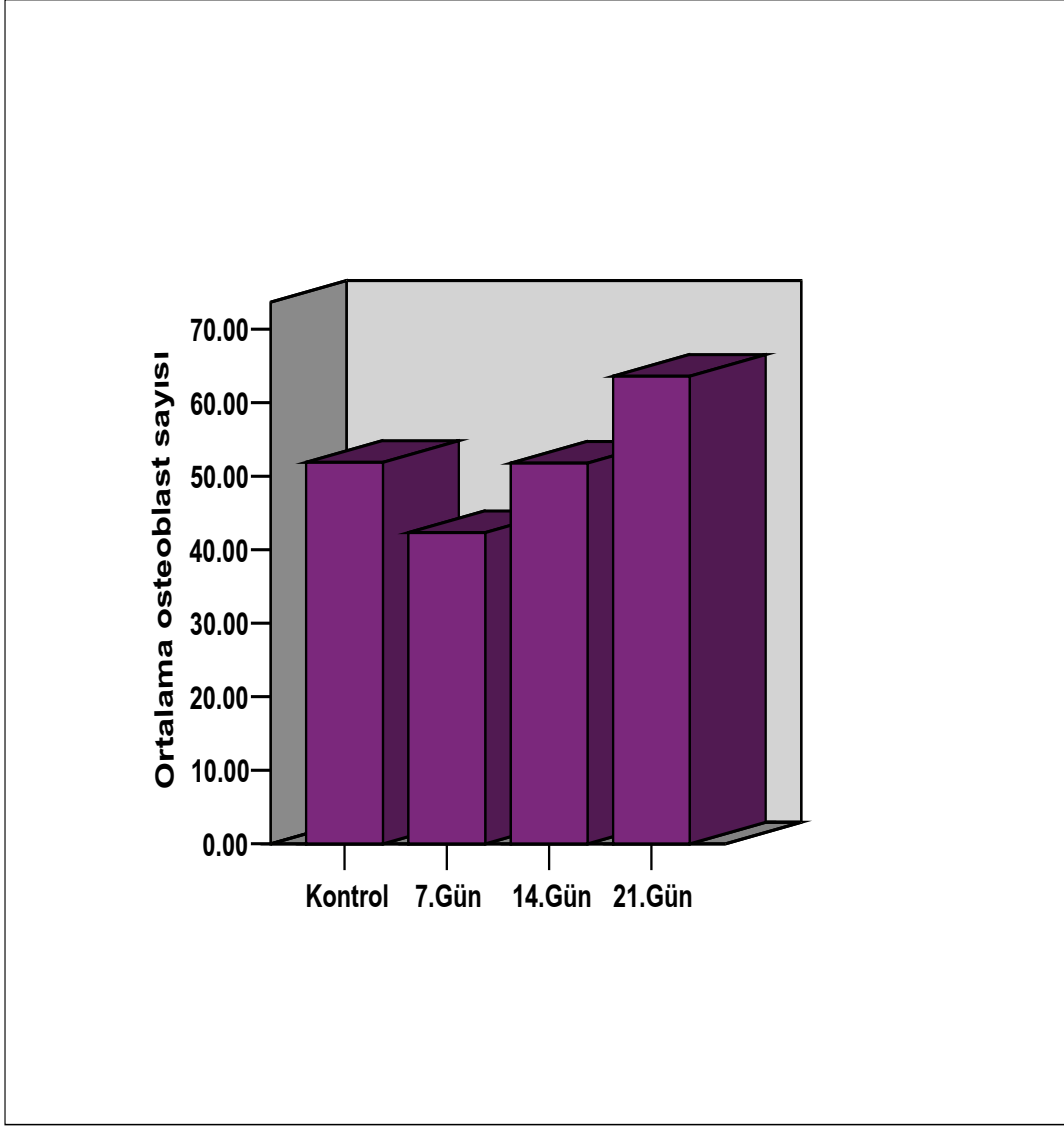
Şekil 4.5 İkinci deney grubuna (rifamisin+14.gün) ait histolojik görüntü (Boya: HE)



Şekil 4.6 Üçüncü deney grubuna (rifamisin+21.gün) ait histolojik görüntü (Boya: HE)

4.2.1. Osteoblastların Değerlendirilmesi

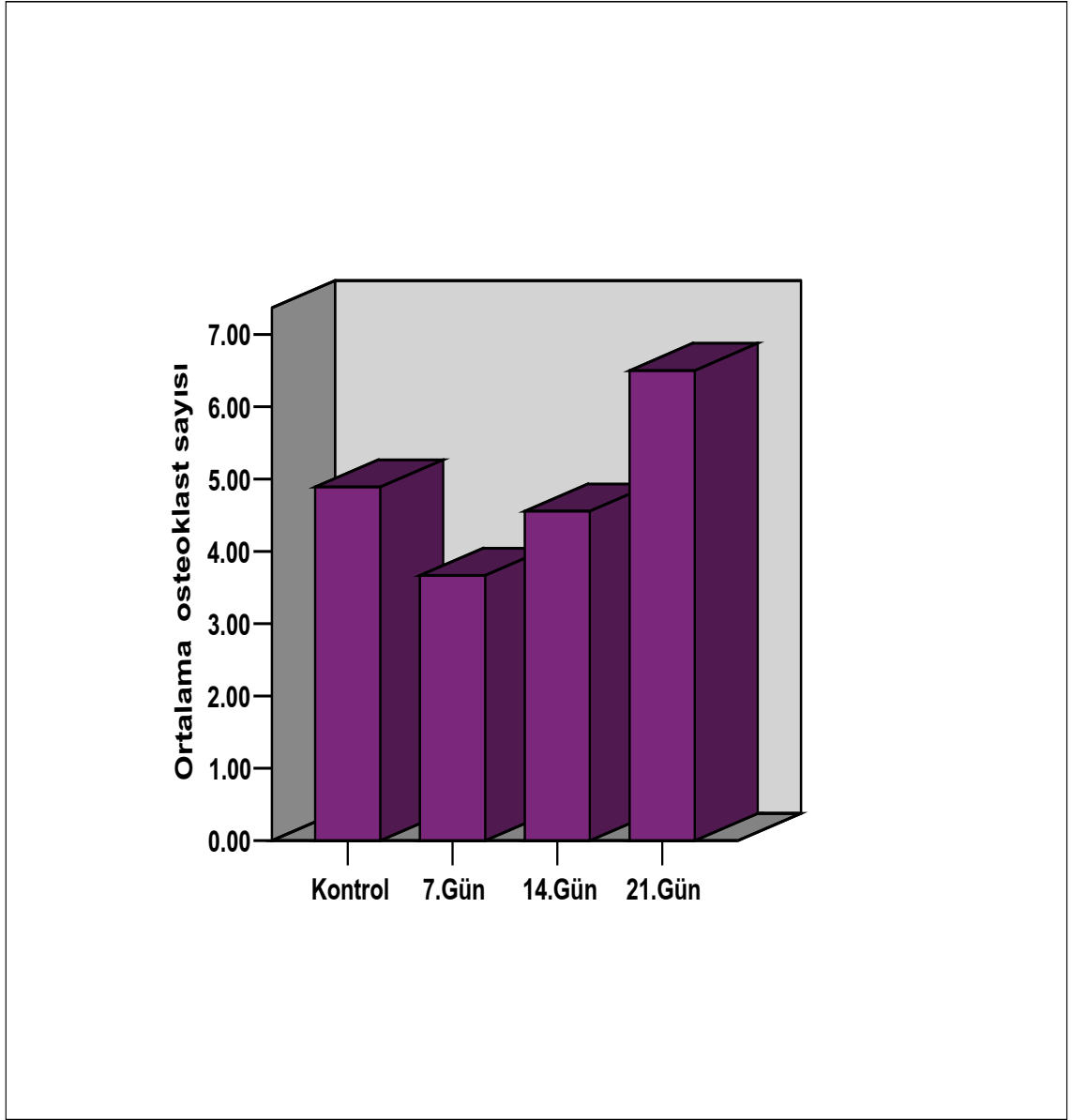
Gruplara ait osteoblast sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Osteoblast değerleri ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 21. Gün, 7.gün ile 21.gün ve 14. Gün ile 21.gün arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.005$). Buna göre 7. Gün, 14. Gün ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 21. Günde osteoblast sayısının daha fazla arttığı görülmüştür.



Şekil 4.7 Her bir gruba ait osteoblast değerlerinin dağılımı

4.2.2. Osteoklastların Değerlendirilmesi

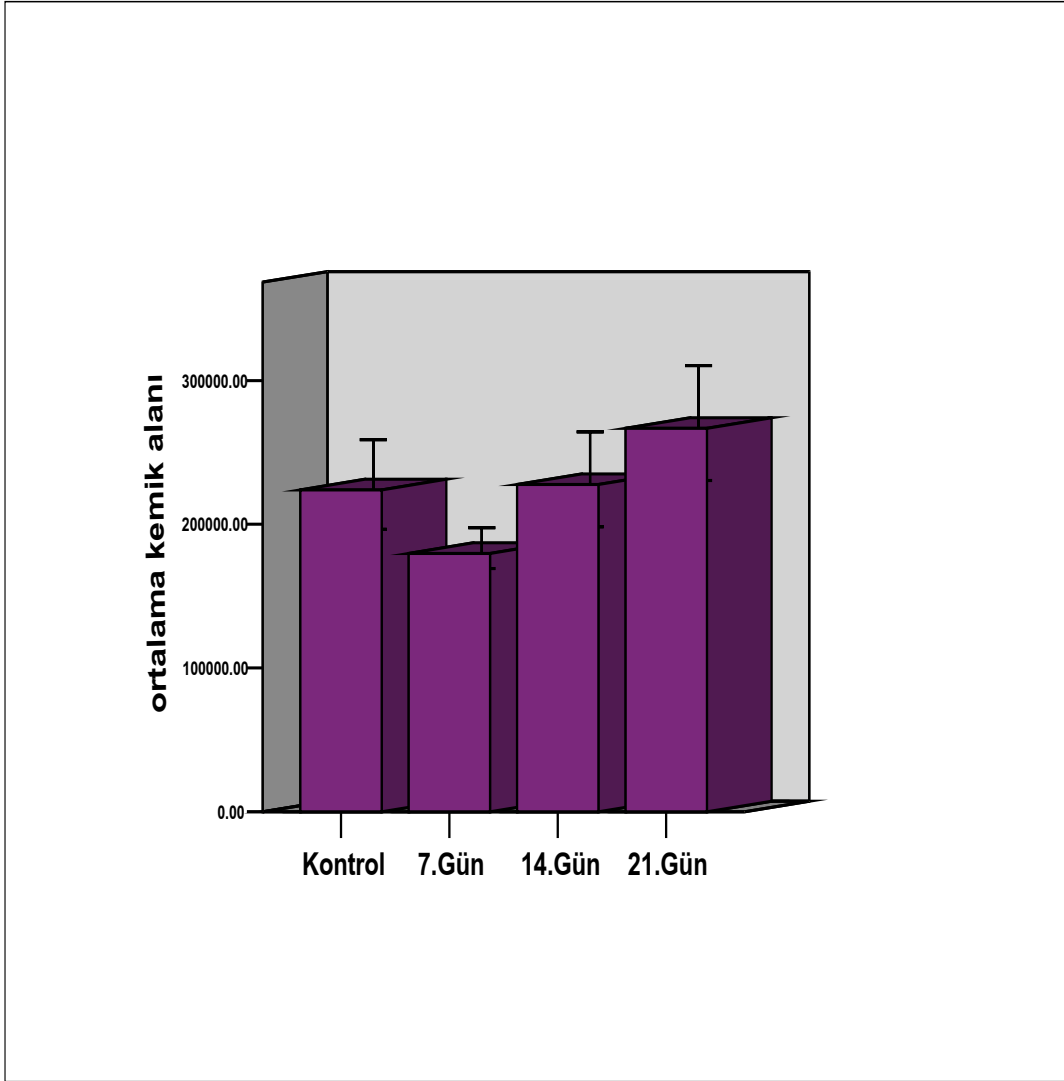
Gruplara ait osteoklast sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Osteoklast değerleri ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 21. Gün, 7.gün ile 21.gün ve 14. Gün ile 21.gün arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.005$). Buna göre 7. Gün, 14. Gün ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 21. Günde osteoklast sayısının daha fazla arttığı görülmüştür.



Şekil 4.8 Herbir gruba ait osteoklast değerlerinin dağılımı

4.2.3 Yeni kemik alanının değerlendirilmesi

Gruplara ait yeni oluşan kemiğin alanı, görüntü analiz programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Yeni oluşan kemiğin alan değerleri ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 7. Gün, 7.gün ile 14.gün ve 7. Gün ile 21.gün arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0.005$).



Şekil.4.9 Herbir gruba ait yeni oluşan kemik alanı

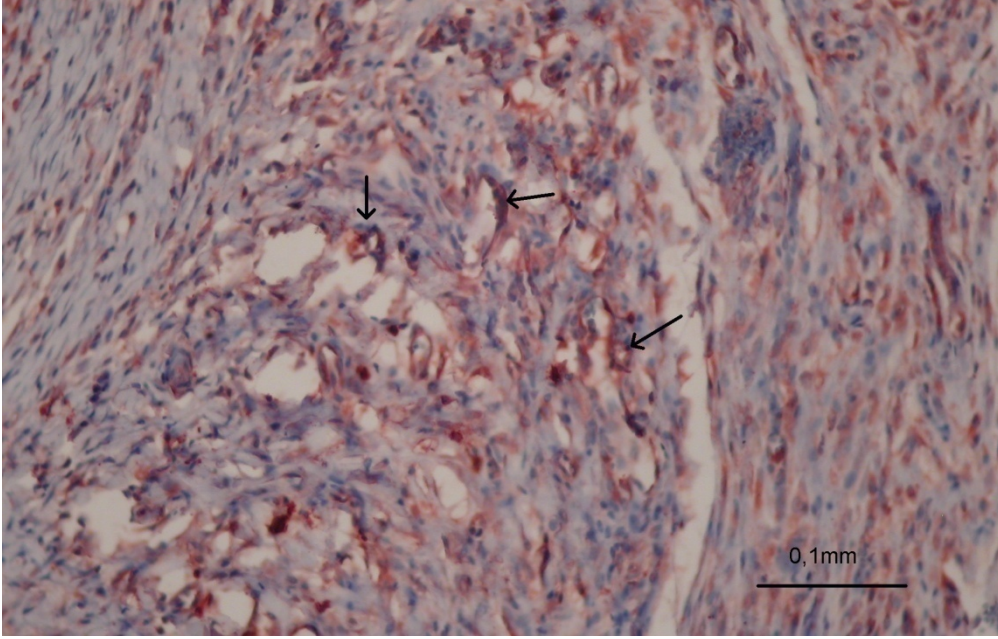
Çizelge 4.1 Histomorfometrik değerlendirme sonuçları

Gruplar	Osteoblast sayısı	Osteoklast sayısı	Yeni kemik alanı
	$\bar{X} \pm Ss$	$\bar{X} \pm Ss$	$\bar{X} \pm Ss$
Grup1 (Kontrol)	51,88±10,91	4,88±1,90	233950,3±46824,08
Grup 2 (7 gün)	42,33±13,72	3,66±1,50	179681,5±21358,65
Grup 3 (14 gün)	51,77±12,89	4,55±1,33	227600,2±49481,20
Grup 4 (21 gün)	63,60±13,63	6,50±1,26	266732,2±63270,38
SONUÇ	F:4,36 P:0,012*	F:5,86 P:0,003*	F: 5,15 P: 0,005*

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, Varyans analizi: Tukey testi p=0,005 (p<0,05)

4.3 İmmunhistokimyasal Bulgular

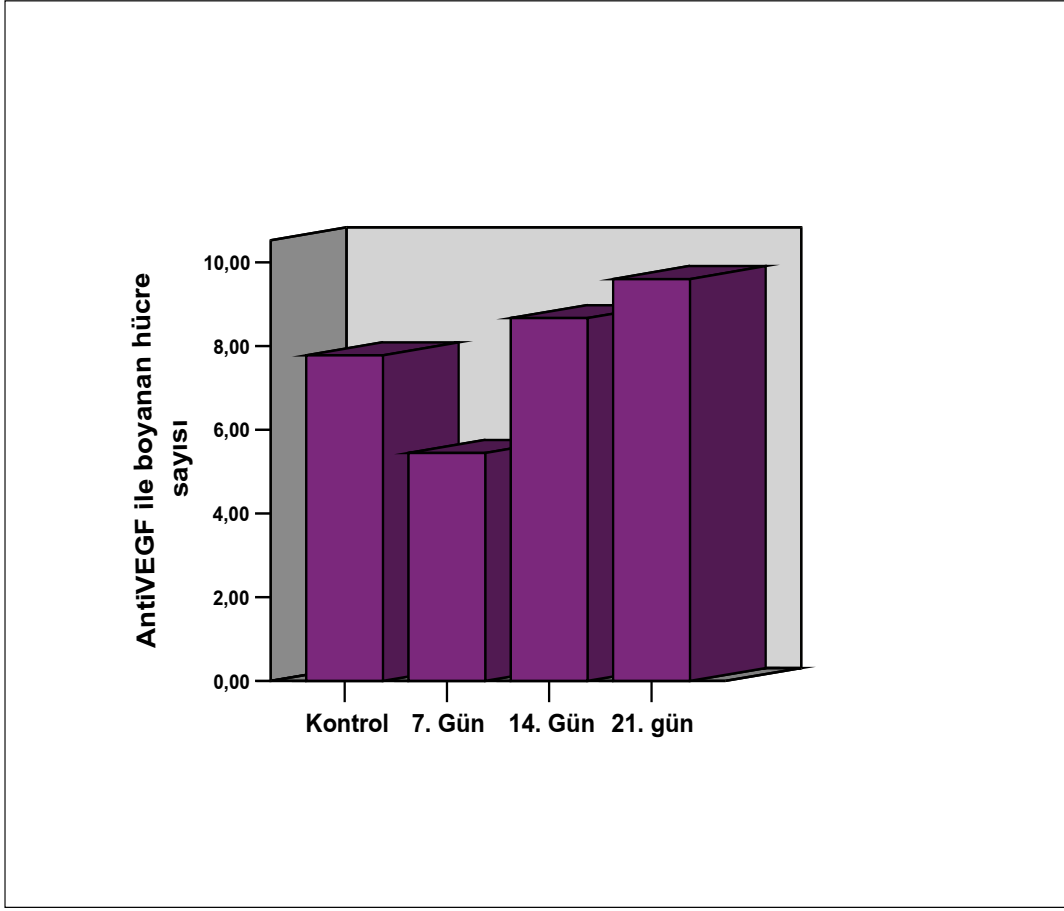
İmmunhistokimyasal olarak kesitlerde VEGF antikoru ile boyanan hücre sayısı görüntü analizi programı tarafından otomatik olarak ölçülerek hesaplanmıştır. Kesitlerdeki aynı bölgelerdeki 0,4mm² lik alanda BMP-2 ile immünohistokimyasal olarak pozitif ekspresyon gösteren hücreler de işaretlenerek görüntü analizi programı ile otomatik olarak saydırılmıştır.



Şekil 4.10 AntiVEGF ile boyanan hücrelerin gösterilmesi (Anti-human VEGF Antibody ile pozitif ekspresyon gösteren hücreler)

4.3.1 AntiVEGF ile Boyanan Hücre Sayısının Değerlendirilmesi

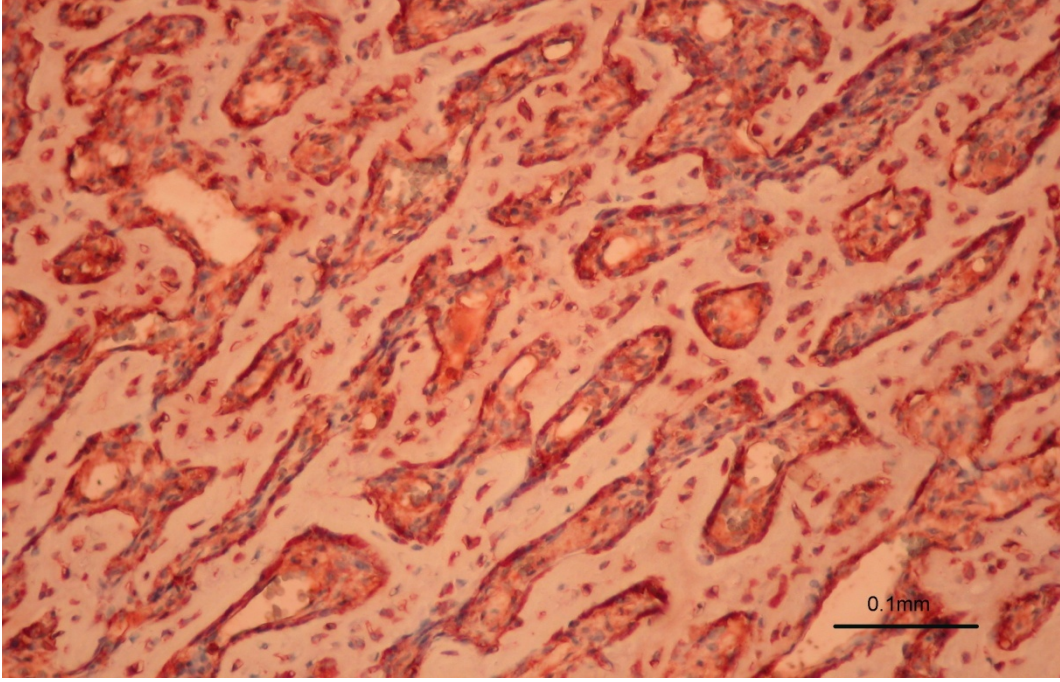
Gruplara ait boyanan hücre sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Buna göre VEGF salınımı yönünden gruplar arasında fark yoktur.



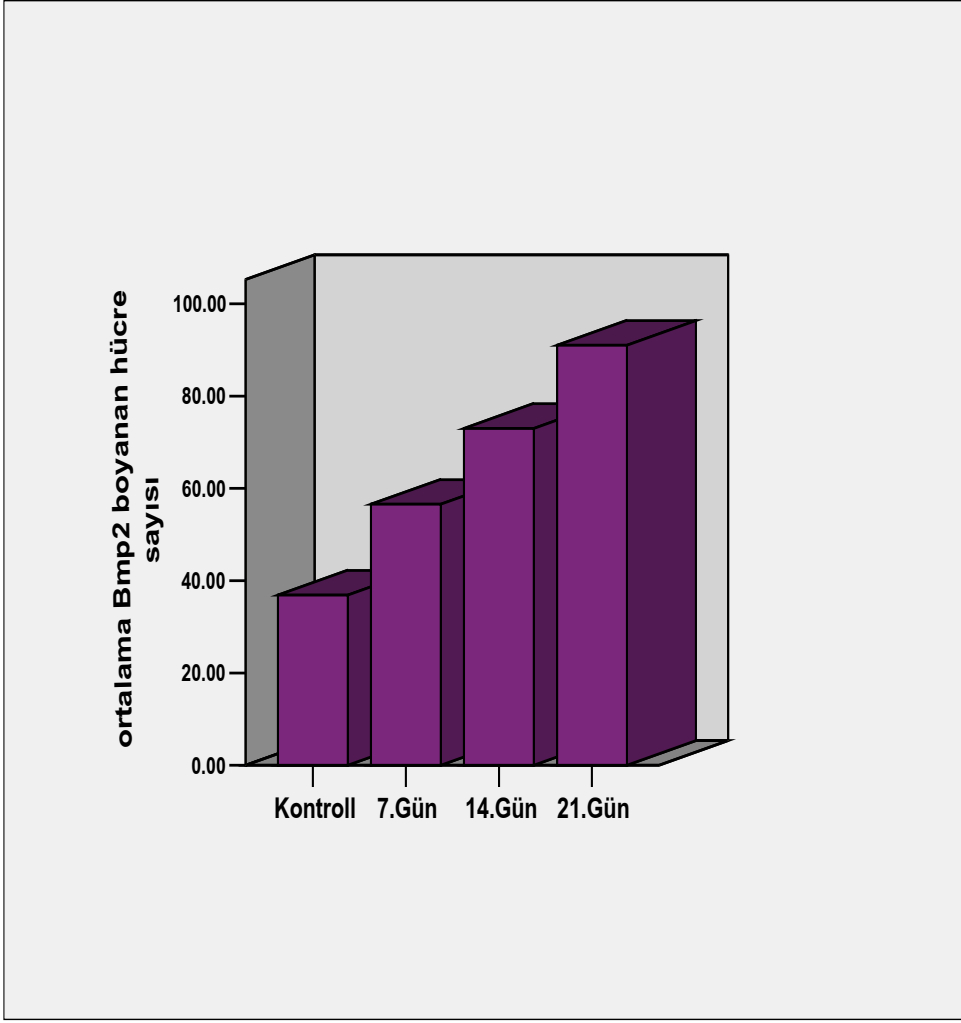
Şekil4.11 Herbir gruba ait AntiVEGF ile boyanan hücre sayısının dağılımı

4.3.2 AntiBMP-2 ile boyanan hücre sayısının değerlendirilmesi

Gruplara ait BMP-2 antikoruna pozitif boyanan hücre sayıları, görüntü analiz programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen sayılar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna göre grupların ikişerli olarak karşılaştırılmasında tüm gruplar arası fark önemli bulunmuştur ($p < 0.005$). En fazla antiBMP-2 ile boyanan hücre sayısı 3. deney grubundadır. En az hücre sayısına sahip grup ise kontrol grubudur.



Şekil 4.12 AntiBMP-2 boyama ile boyanan hücrelerin gösterilmesi (Monoclonal Anti-human Pro-BMP-2 Antibody ile pozitif ekspresyon gösteren hücreler)



Şekil 4.13 Herbir gruba ait BMP-2 ile boyanan hücre sayısının dağılımı

Çizelge 4.2 İmmünohistokimyasal değerlendirme sonuçları

Gruplar	Boyanan hücre sayısı (AntiVEGF) $\bar{X} \pm Ss$	Boyanan hücre sayısı (AntiBMP2) $\bar{X} \pm Ss$
Grup1 (Kontrol)	7,77±4,29	36,88±5,15
Grup 2 (7 gün)	5,44±3,16	56,55±19,02
Grup 3 (14 gün)	8,66±4,60	73,00±16,75
Grup 4 (21 gün)	9,60±5,33	91,00±6,12
SONUÇ	F: 1,48 P: 0,235	F: 29,16 P: 0,01*

\bar{X} : Ortalama değer, Ss: Standart sapma, Varyans analizi: Tukey testi p=0,005 (p<0,05)

5. TARTIŞMA

Otojen kemik greftler çene ve yüz rekonstrüksiyonunda en fazla kullanılan materyallerdir ve ‘altın standart’ teknik olarak tanımlanmaktadır.¹⁻⁶ Bu nedenle otojen kemik greftler günümüzde üzerinde yoğun araştırma yapılan materyallerdir. Otojen kemik greftler üzerine yapılan çalışmalar, bu greftlerin rekonstrüksiyon sonrası başarılarını artırmaya yöneliktir.

Seçilecek olan deney hayvanının yapılacak olan çalışmaya uygun olması gerekmektedir. Deney hayvanlarından domuz, köpek ve ratların immüitesi ile insan immüitesi benzerlik göstermektedir. Etik olarak ülkemizde köpekler üzerinde son 3 yıldır çalışma yapılmamaktadır. Domuzlarda ise bakım işleminin ve cerrahi işlemin yapılması zordur. Bu çalışmanın da kolay bulunmasının yanı sıra barındırılmasının ve beslenmesinin kolaylığı ve ucuz olmasından dolayı ratlar üzerinde yapılmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmalarda ilk haftadan itibaren 4 haftalık sürenin ratlarda yeni kemik oluşumu ve anjiyogenezi gözlemlemek için yeterli bir süre olduğu gösterilmiştir.¹³⁵⁻¹³⁸ Bizde çalışmamızda 7, 14 ve 21 günlük süreleri seçtik.

Otojen blok kemik greftler çene ve yüz rekonstrüksiyonunda eski zamanlardan bu yana kullanılan materyallerdir. Bu metod için vücutta verici bölgelere ihtiyaç vardır. Greftin alındığı ve uygulandığı bölgenin özellikleri operasyonunun başarısını etkilemektedir. Bazı araştırmacılara göre embriyojenik olarak benzer özelliklere sahip olan greftlerde rezorbsiyon oranı düşmektedir.^{10,139}

Otojen kemik grefti, yerleştirilmesini takiben ilk 2 haftalık sürede osteojenik etki gösterir. Greftlemeden 2-6 hafta sonra osteoindüktif etkisi başlar ve 6 ay kadar sürer. Son olarak osteokondüktif etki ile apozisyonel kemik oluşumu gerçekleşir. Greftin organik komponenti olan kollojen; grefte esneklik, dayanıklılık ve stabilite kazandırırken; inorganik komponent olan hidroksi apatit, greftin rijiditesine katkıda bulunur.¹⁴¹ Özellikle iliak greftler intraoral alana yerleştirildiğinde, aşırı greft rezorbsiyonu meydana gelebilir. Mandibuler greftler, yerleştirildikleri bölge ile aynı embriyojenik orijinden olduğundan daha az rezorpsiyon gözlenir.¹⁴¹

Jardini ve ark¹³⁹ yaptıkları çalışmada otojen blok kemik greft kalvaryumdan alınarak mandibulaya yerleştirilmiştir. Bu çalışmada alınan kemik greftin embriyojenik olarak benzer özelliklere sahip olmasının rezorbsiyon ve kontur uyumu açısından iliak greftlere göre avantajlı olduğu söylenmektedir. Ayrıca mandibuladan alınan kemik greftte vasküler yatak gelişiminin daha hızlı olduğu ve bu greftlerin uygulandıkları

bölgeye 4 ay sonra implant yerleştirilebildiği, iliak greft için bu sürenin 6 ay olduğu belirtilmektedir.¹³⁹ Çalışmamızda da sayılan özelliklerden dolayı ve yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edildiğinden, kalvaryumdan alınan greftle benzer özellik gösterdiğinden dolayı onley greft olarak mandibuladan alınan otojen kemik grefti tercih edilmiştir.

Otojen blok kemik fiksasyonunda greft ve alıcı bölgesi arasında kırık oluşmaması için non-rijit fiksasyon teknikleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.¹⁴²⁻¹⁴⁵ Jardini ve ark¹³⁹ kemik blok stabilizasyonunun sıkı sutur işlemi ile gerçekleştirilebileceğini, bu prosedürün etkili bir yöntem olduğu ve blok kemiğin alıcı yatakla 45 gün sonra bile bütünleştiğini göstermiştir. Bu çalışma blok kemik greftler için non-rijit fiksasyonu desteklememekte ancak çalışma sonuçları non-rijit fiksasyonun rat model için yeterli olduğunu göstermektedir. Eğer mandibula ve blok kemik greft aşırı derecede kırılabilir değilse ve operasyon bölgesi çiğneme kuvvetlerine maruz kalmıyorsa, fiksasyon metodu mikro hareketleri önlemektedir ve kemiş iyileşmesi için yeterli olduğu görülmektedir. Bu tip fiksasyonda az miktar bağ dokusu greft periferinden içeri doğru büyüyebilmektedir.¹³⁹

Ayrıca aynı yöntem başka çalışmalarda da kullanılmıştır. Bonfante ve ark¹⁴⁰ nikotinin kemik oluşumu üzerine etkisine bakmak için kalvaryumdan aldıkları 3,8 mm çapındaki otojen blok kemik grefte orta noktasından 0,5 mm delik açarak mandibula angulusa sıkı suture ile fikse etmişlerdir. Bu yöntemin greftin mandibular kemik yüzeyi ile kontakta olmasını ve stabilizasyonu sağladığı rapor edilmektedir.¹⁴⁰

Bir başka çalışmada ise otojen blok kemik greft uygulamalarında vida fiksasyonunun uygun ve pratik olmayacağı, ince rat mandibulasında ve kemik grefte kırıklara neden olabileceği belirtilmektedir.¹⁴⁶ Bizde çalışmamızda fiksasyon metodunu literatür taraması sonucunda ipek suture ile yapmaya karar verdik. Çalışmamızın sonuçlarına göre de suture ile fiksasyon rat model için yeterlidir. Ancak çiğneme kuvvetine maruz kalmaması için greft uygulanan bölgenin seçiminde dikkatli olunmalıdır. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olacak şekilde bölgenin seçiminde bu durumu göz önünde bulundurduk ve rat mandibula angulus bölgesini alıcı bölge olarak seçtik.

Cerrahi operasyonlarda sterilizasyon operasyon başarısını direkt olarak etkileyen en önemli faktördür. Yapılan çalışmalarda bakteriyel kontaminasyon; post-operatif enfeksiyon oluşumu, greft iyileşmesinin bozulması, implant başarısızlığı gibi komplikasyonlara neden olmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarla kontaminasyon

kazalarının meydana geldiği ve bu kazalar sonucu kontamine olan greftler üzerinde bazı çalışmalarda mikrobiyal kültür sonucu üreme saptanırken bazılarında ise üreme saptanmamıştır.^{115,147,148}

Kontaminasyon kazaları genellikle greftin steril olmayan bir alana temas etmesi, yere düşmesi ya da özellikle alanımızda tükrükle temas şeklinde oluşmaktadır.^{11,12} Presnal ve ark¹⁴⁷ otojen greft materyalinin çeşitli zamanlarda kazaen düştüğünü ve kontaminasyon meydana geldikten sonra kültür yapıldığını rapor etmektedirler. Yapılan analiz sonucunda herhengi bir pozitif kültür gözlemlenmemişlerdir. Cooper ve ark¹⁴⁸ ise operasyon sırasında 3 dakikalık süreyle yere düşürülen 10 patellar tendon grefte kültür analizi yapmışlar ve bu greftlerden 10 günlük sürede %60 pozitif kültür elde etmişlerdir. Ayrıca Molina ve ark¹¹⁵ yere düşen kemik doku örneklerinde yaptıkları kültür analizi sonucunda doku örneklerinin %96'sında pozitif kültür elde etmişlerdir. Hirna ve ark¹⁴⁹ yaptıkları çalışmada da yere düşerek kontamine olan 22 grefte %96'luk pozitif kültür elde etmişlerdir.

Kang ve ark¹² 104 ortopedik cerraha anket şeklinde yaptıkları çalışmada ise 40 cerrahın (%38) en az bir kez otojen kemik grefti steril olmayan bir alana düşürdükleri, yani her 3 cerrahın 1'nin bu kazaya maruz kaldığı rapor edilmektedir.¹² Centeno ve ark¹¹ yaptıkları çalışmada ise cerrahların %70'nin en az bir kez greft kontaminasyon kazası geçirdiği, %26'sının dört kez ya da daha fazla bu kazayı geçirdiği rapor edilmektedir.

Çene ve yüz cerrahisinde ise en sık karşılaşılan kontaminasyon sebebi tükrükle kontaminasyondur. Çünkü tükrükte 10^9 bakteriyel koloni ve 350'den fazla mikroorganizma tanımlanmıştır. Tükrükle kontaminasyon oranı çeşitli prosedürlerle azaltılabilmektedir. Bu prosedürlerden bir tanesi çift tükrük emici kullanımudur. Yapılan bir çalışmada çift tükrük emici kullanımının bakteriyel kontaminasyonu azalttığı rapor edilmektedir.¹⁶ Yine yapılan bir başka çalışmada dikkatli aspirasyon protokolleriyle ve ağzın ameliyat öncesi klorheksidinle çalkalanması ile kontaminasyon seviyesinin azaldığı söylenmektedir.¹⁵⁰ Preoperatif klorheksidin gargaranın tükrük bakteri seviyesini azalttığı gösterilmiştir.^{151,152} Böylelikle preoperatif klorheksidin ile ağzın çalkalanması, toplanan kemik partiküllerinde kontaminasyonu azaltmanın etkili bir metodudur.^{57,153}

Kontamine olan otojen kemik greftlerin dekontaminasyonu için literatürde farklı metodlar tanımlanmıştır. Dekontaminasyon için antibiyotik içerikli solusyonlar, kimyasal solusyonlar, buhar ve otoklav kullanılmıştır. Bu noktada dekontaminasyon

işlemi için mikroorganizmaları uzaklaştırmak kadar kemiğinin yapısal ve hücrel işlevinde zarar görmemesi önemli bir husustur.

Farklı dekontaminasyon solüsyonları birbirleriyle karşılaştırılarak çalışmalar yapılmıştır. Ellis ve ark¹⁵⁴ yaptıkları çalışmada kontamine kemik greftleri dekontamine etmek için 1 saat süreyle 0,6 N hidroklorik asit ve sonrasında 10 dk süreyle %70 etil alkol kullanmışlardır. Van Winkle ve ark¹⁵⁵ ise kemik doku örneklerini povidon iyot, klorheksidin ve polimiksin B ile dekontamine etmişler ve klorheksidin sonrası 50,000 ünit polimiksin B' nin bakteriyel kontaminasyonu ortadan kaldırmak için yeterli olduğunu rapor etmektedirler. Dahner ve ark¹⁵⁶ kontamine kemik doku örneklerini %70'lik etanol ile 8 saat süresince dekontamine etmişler ancak greft materyalinin kortikal mineralizasyonunun ve böylelikle osteogenik özelliklerinin azalabileceğini gözlemlemişlerdir. Etilen oksit ile sterilizasyonun düşük konsantrasyonlarda bile insan fibroblastları üzerine toksik etkisi olduğu Egyedi ve ark¹⁵⁷ tarafından gösterilmiştir. Hoe ve ark¹⁵⁸ yaptıkları çalışmada ise %4'lük klorheksidin glukonat ile alkol, neosporin, cefazolin ve serum fizyolojik solüsyonunun bakteriyel büyüme üzerine çok az etkisi olmasına rağmen povidon iyot ve etil alkol/hidrojen klorid'in koloni miktarını diğer gruplara göre önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir.

Klorheksidin/alkol, povidon-iyot, neosporin, cefazolin ya da serum fizyolojikle tedavi sonrası histolojik olarak normal kemik morfolojisinde herhangi bir değişiklik gözükmemektedir. Otoklav ya da hidrojen klorid/etanol ile kemik spesimenlerinde kemik nekrozu gözlemlenmiştir. Çalışmada otoklav ve hidrojen klorid/etanol'un kemik grefti üzerine zararlı etkisi olduğu, bu durumda da rekonstrüksiyonun başarısının azalabileceği rapor edilmektedir.¹⁵⁸ Yine bu çalışma povidon iyot için enfeksiyon oranını sifıra yakın bir değer olarak rapor etmektedir. Cruz ve ark¹¹⁷ povidon iyot için benzer sonuçları rapor etmektedir. Povidon iyotun toksik olmadığını rapor eden çalışmalar mevcuttur.^{13,159}

Hoe ve ark¹⁵⁸ %10'lük povidon iyotu 15 dakikalık süreyle kullanarak spesimenlerin dekontaminasyonunu sağlamışlardır. Goebel ve ark¹⁶⁰ ise povidon iyotun yere düşen greftlerin dekontaminasyonunda etkili olmadığını rapor etmektedir. Yaman ve ark¹³ yaptıkları çalışmada %10'lük povidon iyotun bakteriyel kontaminasyona karşı etkili olduğunu, ayrıca histolojik muayenede havers kanallarının düzenli, osteositlerin normal ve osteoblastların inaktif olduğu ve %10'lük povidon iyotun dekontaminasyon için kullanılabileceği rapor edilmektedir.

Hoe ve ark¹⁵⁸ neosporin (40mg Neomisin) solusyonunun bakteriyel oluşum üzerine çok az etkili olduğunu, Molina ve ark¹¹⁵ da neomisin ve polimiksin antibiyotik solusyonu ile yıkadıkları greftlerin %6'sında pozitif kültür elde ettiklerini rapor etmektedirler. Deijkers ve ark¹⁶¹ neosporinin düşük patojenitede yeterli olduğunu, yüksek patojenitede ise yetersiz olduğunu rapor etmektedir.

Yapılan çalışmalar antibiyotik içerikli solüsyonların yeterli uygulama süresi olmadığından irrigasyon için avantajlı olmadığını söylemektedir. Çalışmalar bu solüsyonların düşük patojenitede etkili olduğu ancak yüksek patojenitede etkili olmadığı, antibiyotik solüsyonları için uygun sonuçlar elde etmek için periyodik ayırım yapılması gerektiği rapor edilmektedir.^{13,161}

Dahner ve ark¹⁵⁶ %70'lik etanolün bakteri eliminasyonu yaptığını ancak etanol miktarının kemiğin minerilizasyonunu azalttığını rapor etmektedir. Hoe ve ark¹⁵⁸ Hidrojen klorid/etil alkol ve otoklavın mikroorganizma sayısını azalttığını ancak asıl problemin greft materyali üzerine etkileri olduğunu söylemektedirler. Ellis¹⁵⁴ greftlerin dekontaminasyon için hidroklorik asitte tutulduktan sonra %70'lik Etanol ile 10 dakika dekontamine edilebileceğini önermektedir. Ayrıca Van Winkle ve ark¹⁵⁵ otoklav sonrası spesimenlerin povidon iyot ile 10 dakika yıkanmasıyla başarılı dekontaminasyon sağlandığını rapor etmektedir.

Ferhan ve ark¹³ %2'lik povidon iyotun, 2,4% sodyum iyodinin, %50 etanol ve %10'luk formalin glutraldehit buharın kemik greftler için uygun olmadığını çünkü histolojik değerlendirmede lenfatik infiltrasyon, kan damarları arasında düzensizlik ve haversiyen kanallarında ödemin neden olduğu nekroz gözüktüğü belirtilmektedir. Otoklavın ve formalin solusyonunda greft üzerinde zarar verici etkilerinin olduğu rapor edilmektedir.¹³

Wan Winkle ve ark¹⁵⁵ %4'lük klorheksidin glukonatın dekontaminasyonda başarılı olduğunu rapor ederken, Goebel ve ark¹⁶⁰ % 4'lük klorheksidin tek başına bakteriler üzerine etkili olmadığını rapor etmektedir.

Ancak klorheksidin solüsyonuyla 30 dakikalık tedaviden sonra spesimenler üçlü antibiyotik solusyonunda (0,1% gentamisin, %0,1 klindamisin, % 0,05 polimiksin) tutulduğunda ve serum fizyolojik solusyonuyla irrigate edildiğinde dekontaminasyonun etkili olduğu rapor edilmektedir.¹³ Molina¹¹⁵ %2'lik klorheksidin glukonatın en etkili ajan olduğunu rapor etmektedir.

Etcheson ve ark¹⁵³ dekontaminasyon için tetrasiklin ve klorheksidini karşılaştırmışlar, tetrasiklinin daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Sivoilella¹⁶

kemik partiküllerini rifamisinle 10 dakika, klorheksidin ve klindamisin ile de 3 dk dekontamine etmiştir. Klorheksidin ve klindamisin arasında dekontaminasyon yönünden herhangi bir fark bulmamıştır. Aynı çalışmada rifamisinin bakteriyel kontaminasyonu azalttığı rapor edilmektedir.¹⁶ Yapılan bir çalışmada klorheksidin ile ağızın çalkalanmasıyla özellikle kemiğin açıkta olduğu durumlarda iyileşme bozukluğu ve yara iyileşmesinde gecikme görülmüştür.¹¹⁴ Bu nedenle aynı çalışmada klorheksidinin osteogenezi olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir.¹¹⁴ Başka çalışmada ise antibiyotik destekli kemik allogreftlerin kullanımında herhangi bir kemik fraktürü ya da osteogenez bozulması görülmemiştir.^{162,163} Sivoletta¹⁶ ve Etcheson¹⁵³ dekontaminasyon için antibiyotik solüsyonlarının ilk seçenek olduğunu söylemektedir.

Yapılan bir başka çalışmada ise sefaroksim, rifamisin ve serum fizyolojik solüsyonları karşılaştırılmış ve basınçlı serum fizyolojik ile yıkamanın antibiyotik solüsyonlarına göre dekontaminasyonda daha etkili olduğu rapor edilmektedir.¹⁴⁹

Yapılan bir çalışmada rifamisinin lokal olarak enfeksiyonların tedavisinde, maksiller sinüs ya da fistül yollarının temizlenmesinde, yara abselerinin tedavisi ve kök kanal tedavisinde kullanıldığı rapor edilmektedir.¹²⁰

Rifamisin abseli kavitelelerin yıkanmasında, perikoronitis tedavisi, travmatik lezyonların ve enfekte alveolitisin tedavisinde kullanılmaktadır.¹⁶ Witso ve ark¹⁶⁴ yaptıkları çalışmada kemik greflerin rifamisin ya da diğer antibiyotiklerle yıkanmasıyla erken bakteriyel kontaminasyon azalmaktadır.

Yapılan bir başka çalışmada ise amoksilin ve rifamisin kullanımı sonrası nasal mukozada oluşturdukları histolojik değişimlere bakılmıştır. Bu çalışmada rifamisinin amoksiline göre nasal mukoza serömüsinöz bezler üzerine minimal etki gösterdiği ve herhangi bir metaplastik değişim göstermediği belirtilmiştir.¹⁶⁵

Carvalho ve ark¹²⁰ yaptıkları çalışmada fibrinolitik alveolitli kavitelere rifamisin, gel foam ve serum fizyolojik uygulamıştır. Rifamisin ile yıkanan grupta en iyi sonuçlar elde ettiklerini, yüksek vaskülarizasyon gördüklerini, post-operatif 15. Günde socketin tamamen dolduğunu, kemik diferansiyasyonunun 28 günde socketin servikal ve orta üçlüsünde gerçekleştiğini ve rifamisinin en etkili materyal olduğunu rapor etmektedir.

İsefuku ve ark¹⁶⁶ yaptıkları çalışmada rifamisinin biyofilm içindeki bakterileri yok etmekte etkili olduğunu ve kemik ve eklem enfeksiyonu için biyofilm tabakasının önemli bir patogenez olduğu rapor edilmektedir. Bu çalışmada klinik verilere göre kemik iyileşme ve birleşmesinin rifamisin uygulamasından etkilenmediği belirtilmektedir. Yine aynı çalışmada sıvı antibiyotik tercih edilmesinin nedeni olarak

katı materyallerin tam olarak absorbe edilemeyebileceğini ve bu durumun dev hücre reaksiyonuna neden olabileceği belirtilmektedir.^{167,168}

Relly ve ark¹⁶⁹ yaptıkları çalışmada rifamisin'in kemik üzerindeki bakteriyel azalmayı sağlayan en etkili ajan olduğu ve bu yönden klindamisin ya da azitromisine göre daha etkili olduğu rapor edilmiştir.

Ferhan ve ark¹³ tüm solüsyonları karşılaştırmalı olarak yaptıkları çalışmada rifamisin'in diğer solüsyonlara göre daha uygun olduğunu rapor etmektedir. Çalışmamızda yapılan bu çalışmalara göre uygun dekontaminant olarak rifamisin tercih edilmiştir.

Kemik hücrelerini, aktivitelerinin ve kemik matriksini in situ olarak direkt değerlendirilebilen tek yöntem histomorfometri olduğu için, kemik dokusunu değerlendirmede altın standart olarak kabul edilir.^{170,171} Bu çalışmada da, hücre sayısındaki değişiklikleri incelemek amacıyla örnekler histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızın histomorfometrik bulgularına göre kontrol grubuna göre rifamisin ile dekontamine edilen 21. Gün deney grubu arasında osteoblast yönünden farklılık bulunmuştur. Bu sonuca göre rifamisin'in osteoblastlar üzerine negatif bir etkisinin olmadığı söyleyebiliriz. Bu yönden çalışmamızın sonuçları literatürle uyumluluk göstermektedir. Ancak literatürde bazı çalışmalarda invitro olarak rifamisin'in toksik olduğu ve osteoblastlar üzerine negatif etkisi olduğu söylenmektedir.¹⁶⁶ Rifamisin ve rifampisin etken maddeleri ve etki mekanizmaları benzer özellikler gösteren ilaçlardır. Ancak bu iki ilacın absorpsiyon ve kullanım şekilleri farklıdır. Rifampin sistemik olarak kullanılıp ve gastrointestinal sistem ve oral emilimi mevcutken rifamisin'in emilimi yoktur ve bu nedenle rifamisin parenteral ya da topikal olarak uygulanmaktadır. Rifamisin'in topikal olarak kullanılmasıyla sistemik absorpsiyon olmayacağından sistemik olarak toksik etkiden bahsedilmeyecektir. Bizde çalışmamızın sonuçlarına göre rifamisin'in osteoblastlar üzerine toksik ve olumsuz bir etkisinin olmadığını gördük. Çalışmamızda 2.deney grubundaki iyileşme ve hücre sayısının kontrol grubuna yakın olduğunu ve rifamisin'in BMP-2 salınımı üzerine pozitif etkisi olduğunu gördük. Literatürde daha önce rifamisin'in bu etkisini gösteren ya da böyle bir ilişkiyi açıklayabilecek bir mekanizma tanımlanmamıştır. Bu bakımdan çalışmamızın sonuçları önem arz etmektedir. Literatürde rifamisin'in yeni kemik oluşumu üzerine malasef yapılmış fazla sayıda çalışma yoktur. Yapılan bir çalışmaya göre rifamisin'in fibrinolitik alveolitli kavitelere uygulanmasıyla ilgili olarak diş çekim socketinin daha çabuk

kemikle dolduğu, iyileşmenin diğer gruplara göre daha hızlı olduğu rapor edilmektedir.¹²⁰ Yapılan çalışmadaki rifamisinin kemik üzerine etkisi belki de BMP-2 salınımıyla ilişkili olabilir. Bu bakımdan çalışmamızın sonuçları önem arz etmektedir. Bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızın sonuçlarına göre damar oluşumu ve yeni oluşan kemik alanı yönünden kontrol grubu ile 21.gün arasında farklılık bulunmamıştır. Bu sonuca göre rifamisinin olumsuz bir etkisi olmadığı söylenebilir. Yani çalışmamızın verileri ve literatür sonuçlarına göre rifamisin otojen kemik greftlerin dekontaminasyonu için kullanılabilir bir dekontaminasyon ajanıdır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

- 1) Rat model, 5 mm'lik onley kemik greft uygulamaları için uygun bir modeldir
- 2) Rat modelde ipek suture ile fiksasyon yöntemi, mandibula angulus bölgesine onley blok greft uygulamalarında greftin stabilizasyonu için yeterlidir.
- 3) Rifamisin'in onley otojen kemik greft uygulamalarında osteoblastlar ve yeni oluşan kemik hacmi üzerine olumsuz etkisi yoktur.
- 4) Rifamisin'in onley otojen kemik greft uygulamalarında BMP-2 ve VEGF salınımı üzerine olumsuz etkisi yoktur
- 5) Otojen kemik greft kontaminasyon kazalarında kemik greftler rifamisin ile dekontamine edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Tezulaş, E. and Özkan, C.D. (2008). Decontamination of autogenous bone grafts collected from dental implant sites via osteotomy: a review, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 106, 679-84.
2. Alfaro, F.H. (2006). *Bone Grafting in Oral İmplantology Techniques and Clinical Applications*, Quintessence Publishing Co Ltd, UK.
3. Kökden, A. ve Türker, M.(1999). Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateryaller, *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek Fak Derg*, 2, 134–140.
4. Güven, O. ve Keskin, A. (2001). *Çağdaş Preprotetik Cerrahi*, Ankara, s88-89.
5. Peterson, L.J. and Ellis III E. (1998). *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery: Surgical Reconstruction of Defects of the Jaws*, chapter 28, 3rd ed. Mosby, USA.
6. Kahnberg, K.E. (2005) *Bone Grafting Techniques for Maxillary Implants*, Blackwell Munksgaard, Blackwell Publishing, Sweden, p2-11.
7. Robert, E.M. (2007). Bone and Bone Graft Healing, *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am* 19, 455–466.
8. Einhorn, T.A. (1995). Current concept review. Enhancement of fracture healing, *J Bone Joint Surg*, 77, 940-50.
9. Oikarinen, J. and Korhonen, L.K. (1979). Repair of bone defect by bone inductive material, *Acta Orthop Scan*, 50, 21-6.
10. Misch, C.E. (2008). *Contemporary İmplant Dentistry*, Third edition, Mosby, USA, p 597.
11. Centeno, R.F., Ankit, R.D. and Marla, E.W. (2008). Management of Contaminated Autologous Grafts in Plastic Surgery, *Eplasty*, 8, 23.
12. Kang, L., Leonard, A.M. and Peter, G.T. (2008). What Happens When Autogenous Bone Drops out of the Sterile Field During Orthopaedic Trauma Surgery, *Orthop Trauma*, 22, 6.
13. Yaman, F., Ünlü, G., Atılgan, S., Celik, Y., Özekinci, T. and Yaldiz, M. (2007). Microbiologic and Histologic Assessment of Intentional Bacterial Contamination of Bone Grafts, *J Oral Maxillofac Surg*, 65, 1490-1494.

14. Soyer, J., Rouily, M. and Castely, O. (2002) Effect of 10% povidone±iodine solution on contaminated bone allografts, *Journal of Hospital Infection*, 50, 183-187.
15. Kuttenger, J.J., Hardt, N., Rutz, T. and Pfyffer, G.E. (2005). Bone collected with a bone collector during dental implant surgery, *Mund Kiefer Gesichtschir*, 9, 18-23.
16. Sivolella, S., Berengo, M., Scarin, M., Mella, F. and Martinelli, F. (2006). Autogenous particulate bone collected with a piezo-electric surgical device and bone trap: a microbiological and histomorphometric study, *Archives of Oral Biology* 51, 883—891.
17. Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri (Çeviri: Aytakin, Y, Solakoğlu, S.), İstanbul, s141–154.
18. Webb, J.C.J. and Tricker, J. (2000). A Review of Fracture Healing, *Current Orthopaedics*, 14, 457–463.
19. Sikavitsas, V.I., Temenoff, J.S. and Mikos, A.G. (2001). Biomaterials and Bone Mechanotransduction, *Biomaterials*, 22, 2581–2593.
20. Tanaka, E., Miyawaki, Y., Del Pozo, R. and Tanne, K. (2000). Changes in the Biomechanical Properties of the Rat Interparietal Suture Incident to Continuous Tensile Force Application, *Archives of Oral Biology*, 45, 1059–1064.
21. Currey, J.D. (1988). The Effect of Porosity and Mineral Content on the Young's Modulus of Elasticity of Compact Bone, *J Biomech*, 21, 131–139
22. Erdoğan, D., Hatipoğlu, M., Görgün, M. ve Ilgaz, C. (1999). *Genel Histoloji*, Hatipoğlu Yayın Evi, Ankara, s107–117.
23. Kalfas, I. (2001). Principles of Bone Healing, *Neurosurg Focus*, 10, 1–5.
24. Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1996). *Theory And Practice Of Histological Techniques*. Fourth edition, Churchill Livingstone, New York, Chapter 15, Bone, p.309-339.
25. Cormack, D.H. (1993). *Essential Histology*. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Chapter 8, Dense Connective Tissue, Cartilage, Bone, and Joints, p.159-190.
26. Fawcett, D.W. and Jensch, R.P. (2002). *Bloom & Fawcett's Concise Histology*. Second Edition, Arnold, a member of the Hodder Headline Group, London, Chapter 6, Bone, p.87-99.

27. Gartner, L.P. and Hiatt, J.L. (2001). Color Textbook Of Histology. Second edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Chapter 7, Cartilage and Bone, p.129-153.
28. Lynch, S.E., Genco, R.J. and Marx, R.E. (1999). Tissue Engineering, Applications In Maxillofacial Surgery And Periodontics. Quintessence Publishing Co, Carol Stream, Illionis, Chapter 2, Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy, p.17-55.
29. Duthie, R.B., Kyle, J. and Karey, L,C. (1989).Scientific Foundations of Surgery 4.ed.Heinemann Medikal Books,Londra, p. 150-166.
30. Junguera, L.C., Carnerio, J. and Kelly, R.O. (1998). Temel Histoloji 8.Baskı İstanbul: Barış Kitabevi Ltd.Şti. 132-151.
31. Revell, P.A. (1986). Pathology of bone, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 30, p.203-231.
32. Ballı, B. (2004).Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi, İ.Ü Dişhekimliği fakültesi, İstanbul:
33. Aslan, M. (2002). Kemik defektlerinin iyileşmesinde heterojen kemik greftinin ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu yönteminin etkilerinin incelenmesi ve karşılaştırılması, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
34. Martin, R.B. and Burr, D,B. (1989). Mechanical adaptation,in structure,Function and Adaption of compact bone, Raven Press, New York, ,chaps 2, 4, 7 and 8.
35. Soydan, N.(1985).Genel Histoloji, İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul, p.100-119.
36. Hollinshead, H.W. and Rosse, C. (1985). Textbook of anatomy, 4ed.Harper &Row Publishing, Philadelphia, p.24-30
37. Jee, V.S.S. (2001). İntegrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology, İn: Cowin SC (ed),Bone Mechanics Handbook, 2 Ed CRC Press, Florida, p.1-68.
38. Gorski, J.P. (1998). İs all bone the same. Distinctive distributions and properties of non collagenous matrix proteins in lamellar v.s woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms, Crit Rev Oral Biol Med, 9, 201-223.
39. Gehron, R.P. and Boskey, A.L. (1996). The biochemistry of bone, in Osteoporosis, Academic Pres, San Diego, chap 4.

40. Aktaş, Ü.K.A. (2010). Dental implantlarda greft kullanımı, Türkiye Klinikleri Dergisi İmplantoloji Sayısı, 1, 23-30.
41. Tomin, E., Beksaç, B., Joseph, M. ve Lane, M.J.(2002). Amerika birleşik devletlerinde ortopedik girişimlerde otogreftlerin yerine kullanılan materyallere toplu bakış, Journal of Arthroplasty & Arthroscopic Surgery, 13, 114-129.
42. Özeç İ. (2003). Lokal olarak uygulanan recombinant human bone morphogenetic protein-2'nin distraksiyon osteogenezisi üzerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi, Doktora tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
43. Ma, Q., Mao, T., Liu, B., Zhao, J., Chen, F., Wang, H. and Zhao, M. (2000) Vascular osteomuscular autograft prefabrication using coral, type I collagen and recombinant human bone morphogenetic protein-2, Br J Oral Maxillofac Surg, 38, 561-4.
44. Miki, T., Masaka, K., Imai, Y. and Enomoto, S. (2000). Experience with freeze-dried PGLA/HA/rhBMP-2 as a bone graft substitute, J Oral Maxillofac Surg, 28, 294-99.
45. Nevins, M., Kirker,H.C., Nevins, M., Wozney, J.A., Palmer, R. and Graham, D. (1996). Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2, Int J Periodontics Restorative Dent, 16, 8-19
46. Wada, K., Niimi, A., Watanabe, K., Sawai, T. and Ueda, M. (2001). Maxillary sinus floor augmentation in rabbits: a comparativehistologic-histomorphometric study between rhBMP-2 and autogenous bone, Int J Periodontics Restorative Dent, 21, 252-63.
47. Wolfe, M.W., Salkeld, S.L. and Cook, S.D. (1999) Bone morphogenetic proteins in the treatment of non unions and bone defects: historical perspective and current knowledge, The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal, 12.
48. Yoshida, K., Bessho, K., Fujimura, K., Konishi, Y., Kusumoto, K. and Ogawa, Y.(1999). Enhancement by recombinant human bone morphogenetic protein-2 of bone formation by means of porous hydroxyapatite in mandibular bone defects, J Dent Resch, 78, 1505-10.
49. Yudell, R.M. and Block, M.S. (2000) Bone gap healing in the dog using recombinant human bone morphogenetic protein-2, J Oral Maxillo Fac Surg, 58, 761-66.

50. Dayangaç, E. (2008). Mandibular onley greft uygulamalarında Kortikal perforasyonun kemik iyileşmesine olan etkisinin histolojik ve radyolojik olarak incelenmesi, Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
51. Bernard, G.W. (1991) Healing and repair of osseous defects, Dent Clin North Am, 35, 469-477.
52. Gerhart, T.N., Kırker, C.A., Krız, M.J., Holtrop, M.E., Hennig, G.E. and Hipp, J. (1993) Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein, Clin Orthop, 293, 317-326.
53. Okubo, Y., Bessho, K., Fujimura, K., Kusumoto, K., Ogawa, Y., Tani, Y. and Iizuka, T. (1999) Comparative study of intramuscular and intraskeletal osteogenesis by recombinant human bone morphogenetic protein-2, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 87, 34-8.
54. Tezulaş, E. (2007). İmplant osteotomisinde kemik filtresiyle toplanan otojen kemik greftlerinin klindamisin ve klorheksidin ile dekontaminasyonunun belirlenmesi, Master tezi, Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
55. Miloro, M. (2004). Peterson's Principles Oral and Maxillofacial Surgery, BC Decker 2, P 785-786.
56. Kürkçü, M., Öz, İ.A., Köksal, F., Benlidayi, M.E. and Güneşli, A. (2005). Microbial Analysis of the Autogenous Bone Collected by Bone Filtler During Oral Surgery: A Clinical Study, J Oral Maxillofac Surg, 63, 1593-1598.
57. Burchardt, H. (1983). The Biology of bone graft repair, Clinical Orthopaedics and Related Research, 174, 28-42
58. Boyne, P.J., Marx, R.E., Nevins, M., Triplett, G., Lazaro, E. and Lilly, L.C. (1997). A feasibility study evaluating rhbmp-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation, Int J Periodontics Restoraive Dent, 17, 11.
59. Groeneveld, E.H. and Burger, E.H. (2000). Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration, Eur J Endocrinol, 142, 21-25.
60. Kubler, N.R., Reuther, J.F., Faller, G., Kirchner, T., Ruppert, R. and Sebald, W. (1998). Inductive properties of recombinant human BMP-2 produced in a bacterial expression system, Int J Oral Maxillofac Surg, 27, 305-9.

61. Kusumoto, K., Bessho, K., Fujimura, K. and Akioka, J. (1997). Comparison of ectopic osteoinduction in vivo by recombinant human bmp-2 and recombinant xenopus bmp-4/7 heterodimer, *Biochem Biophys Res Commun*, 239, 575-79.
62. Kusumoto, K., Bessho, K., Fujimura, K., Konishi, Y., Ogawa, Y. and Iizuka, T.(1996) Selfregenerating bone implant: ectopic osteoinduction following intramuscular implantation of a combination of rhBMP-2, atelopeptide type I collagen and porous hydroxyapatite, *J Craniomaxillofac Surg*, 24, 360-5.
63. Ripamonti, U. and Duneas, N. (1998). Tissue morphogenesis and regeneration by bone morphogenetic proteins, *Plast Reconstr Surg*, 101, 227-39.
64. Seto, I., Asahina, I., Oda, M. and Enomoto, S. (2001). Reconstruction of the primate mandible with a combination graft of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and bone marrow, *J Oral Maxillofac Surg*, 59, 53-61.
65. Wozney, J.M. (1995). The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction, *J Periodontol*, 66, 506-10.
66. Yasko, A.W., Lane, J.M., Fellingner, E.J., Rosen, V., Wozney, J.M. and Wang, E.A. (1992) The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2). A radiographic, histological, and biomechanical study in rats, *J Bone Joint Surg Am*, 74, 659-70.
67. Issa, J.P.M., Bentley, M.V.L.B., Iyomasa, M.M., Sebald, W., and De Albuquerque, R.F. (2008). Sustained Release Carriers Used to Delivery Bone Morphogenetic Proteins in the Bone Healing Process, *Anat Histol Embryol*, 37, 181–187.
68. Suzuki, T., Bessho, K., Segami, N., Lizuka, T. and Nojima, T. (2001). Immunohistochemical localization of bone morphogenetic protein-2 in the oral and maxillofacial area of the human embryo, *Br J Oral Maxillofac Surg*, 39, 289-93.
69. Omura, S., Mizuki, N., Kawabe, R., Ota, S., Kobayashi, S. and Fujita, K.A. (1998) Carrier for clinical use of recombinant human bmp-2:dehydrothermally cross linked composite of fibrillar and denatured atelocollagen sponge, *Int J Oral Maxillofac Surg*, 27, 129-34.
70. Özeç, İ. ve Yeler, H. (2003). Bone morphogenetic proteinler ve osteoindüksiyon, *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 6,1.

71. Hosokawa, R., Kubo, T., Wadamoto, M., Sato, Y. and Kimoto, T. (1999). Direct bone induction in the subperiosteal space of rat calvaria with demineralized bone allografts, *J Oral Implantol*, 25, 30-4.
72. Niederwanger, M. and Urist, M.R. (1996). Demineralized bone matrix supplied by bone banks for a carrier of recombinant human bone morphogenetic protein (rhbmp-2), a substitute for autogeneic bone grafts, *J Oral Implantology*, 22, 210-15.
73. Reddi, A.H. (2000). Morphogenetic messages are in the extracellular matrix: biotechnology from bench to bedside, *Biochem Soc Trans*, 28, 345-9.
74. Bessho, K., Konishi, Y., Kaihara, S., Fujimura, K., Okubo, Y. and Lizuka, T. (2000). Bone induction by *Escherichia coli*-derived recombinant human bone morphogenetic protein -2 compared with Chinese hamster ovary cell-derived recombinant human bone morphogenetic protein-2, *Br J Oral Maxillofac Surg*, 38, 645-49.
75. Bostrom, M., Lane, J.M., Tomin, E., Browne, M., Berberian, W. and Turek, T. (1996). Use of bone morphogenetic protein-2 in the rabbit ulnar nonunion model, *Clin Orthop*, 327, 272-82.
76. Sciadini, M.F. and Johnson, K.D. (2000). Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 as a bone-graft substitute in a canine segmental defect model, *J Orthop Res*, 18, 289-302.
77. Zellin, G. and Linde, A. (1999). Bone neogenesis in domes made of expanded polytetrafluoroethylene: efficacy of rhBMP-2 to enhance the amount of achievable bone in rats, *Plast Reconstr Surg*, 103, 1229-37.
78. Marukawa, E., Asahina, I., Oda, M., Seto, I., Alam, M.I. and Enomoto, S. (2001). Bone regeneration using recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in alveolar defects of primate mandibles, *Br J Oral Maxillofac Surg*, 39, 452-9.
79. Şencan, M., Güneşçar, R., Cevit, Ö. ve Deveci, D. (2007). Aspirinin kandaki anjiyojenik vasküler endotelial büyüme faktörü ve anti-anjiyojenik endostatin seviyelerine etkisi, *C Ü Tıp Fak Derg*, 29, 56-61.
80. Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S. and Poltorak, Z. (1999) Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors, *Faseb J*, 13, 9-22.
81. Ferrara, N., Gerber, H.P. and LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors, *Nat Med*, 9, 669-76.

82. Breen, E.C. (2007). VEGF in biological control, *J Cell Biochem*, 6, 1358-67.
83. Wirostko, B., Wong, T.Y. and Simo, R. (2008) Vascular endothelial growth factor and diabetic complications, *Prog Retin Eye Res*, 6, 608-21
84. Turgut, B., Güler, M., Demir, T., Türkçüoğlu, P. ve Çeliker, Ü. (2007) Oküler anjiyogenezde vasküler endotelial büyüme faktörünün rolü, *T Klin J Ophthalmol*, 16, 38-46.
85. Mohammad, G., Pandey, H.P. and Tripathi, K. (2008). Daibetic wound healing and its angiogenesis with special reference to nanoparticles, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 4, 203-208.
86. Gerber, H.P., Vu, T.H. and Ryan, A.M. (1999). VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation, *Nat Med*, 5, 623–8.
87. Street, J., Bao, M., De Guzman, L., Bunting, S., Peale, F.V. and Ferrara, N. (2002). VEGF stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 15, 656– 61.
88. Maloney, J., Silliman, C., Ambruso, D., Wang, J., Tuder, R. and Voelkel, N. (1998). In vitro release of vascular endothelial growth factor during platelet aggregation, *Am J Physiol*, 2, 554–6.
89. Banks, R., Forbes, M., Kinsey, S., Stanley, A., Ingham, E. and Walters, C. (1998). Release of the angiogenic cytokine VEGF from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology, *Br J Cancer*, 77, 956– 64.
90. Theiss, S.M., Boden, S.D., Hair, G, Titus, L., Morone, M.A. and Ugbo, J. (2000). The effect of nicotine on gene expression during spine fusion, *Spine*, 25, 588–94.
91. Keramarisa, N.C., Calorib, G.M., Nikolaoua, V.S., Schemitschc, E.H. and Giannoudisa, P.V. (2008). Fracture vascularity and bone healing: A systematic review of the role of VEGF Injury, *Int. J. Care Injured*, 39,45–S57.
92. Augustin, G., Antabak, A. and Davila, S. (2007). The periosteum. Part 1: anatomy, histology and molecular biology, *Injury*, 38, 115–30.
93. Giannoudis, P.V., Tzioupis, C.C. and Tsiridis, E. (2006). Gene therapy in orthopaedics, *Injury*, 37, 30–40.
94. Dimitriou, R., Tsiridis, E. and Carr, I. (2006). The role of inhibitory molecules in fracture healing, *Injury*, 37, 20–9.

95. Tsiridis, E. and Giannoudis, P.V. (2006). Transcriptomics and proteomics: advancing the understanding of genetic basis of fracture healing, *Injury*, 37, 13–9.
96. Wang, Y.Q., Luk, J.M. and Chu, A.C. (2006). TNP-470 blockage of VEGF synthesis is dependent on MAPK/COX-2 signaling pathway in PDGF-BB-activated hepatic stellate cells, *Biochem Biophys Res Commun*, 341, 239–44.
97. Peng, H., Usas, A. and Olshanski, A. (2005). VEGF improves, whereas sFlt1 inhibits, BMP2-induced bone formation and bone healing through modulation of angiogenesis, *J Bone Miner Res*, 20, 2017–27.
98. Sojo, K., Sawaki, Y., Hattori, H., Mizutani, H. and Ueda M. (2005). Immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein-2,-4 (BMP-2,4) on lengthened rat femurs, *J Craniomaxillofac Surg*, 33, 238-45.
99. Geiger, F., Bertram, H. and Berger, I. (2005). Vascular endothelial growth factor gene-activated matrix (VEGF165-GAM) enhances osteogenesis and angiogenesis in large segmental bone defects, *J Bone Miner Res*, 20, 2028–35
100. Kleinheinz, J., Stratmann, U. and Joos, U. (2005). VEGF activated angiogenesis during bone regeneration, *J Oral Maxillofac Surg*, 63, 1310–6.
101. Leach, J.K., Kaigler, D. and Wang, Z. (2006). Coating of VEGF-releasing scaffolds with bioactive glass for angiogenesis and bone regeneration, *Biomaterials*, 27, 249–55.
102. Murphy WL., Simmons, C.A. and Kaigler, D. (2004). Bone regeneration via a mineral substrate and induced angiogenesis, *J Dent Res*, 83, 204–10
103. Tarkka, T., Sipola, A. and Jamsa, T. (2003). Adenoviral VEGF-A gene transfer induces angiogenesis and promotes bone formation in healing osseous tissues, *J Gene Med*, 5, 560–6.
104. Wang, D.S., Miura, M., Demura, H. and Sato, K. (1997). Anabolic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on osteoblasts are enhanced by vascular endothelial growth factor produced by osteoblasts and by growth factors produced by endothelial cells, *Endocrinology*, 138, 2953-2962.
105. Bouletreau, P.J., Warren, S.M., Spector, J.A., Peled, Z.M., Gerrets, R.P., Greenwald, J.A. and Longaker, M.T. (2002). Hypoxia and VEGF up-regulate BMP-2 mRNA and protein expression in microvascular endothelial cells: implications for fracture healing, *Plast Reconstr Surg*, 109, 2384-2397.

106. Vaibhav, B., Nilesh, P. and Vikram, S. (2007). Bone morphogenic protein and its application in trauma cases: a current concept update, *Injury*, 38, 1227–35.
107. Carson, J.S. and Bostrom, M.P. (2007). Synthetic bone scaffolds and fracture repair, *Injury*, 38, 33–7.
108. Stylios, G., Wan, T. and Giannoudis, P. (2007). Present status and future potential of enhancing bone healing using nanotechnology, *Injury*, 38, 63–74
109. Levin, L.S. (2007). Early versus delayed closure of open fractures, *Injury*, 38, 896–9.
110. Clarke, S.A., Hoskins, N.L. and Jordan, G.R. (2007). Healing of an ulnar defect using a proprietary TCP bone graft substitute, *JAX*, in association with autologous osteogenic cells and growth factors, *Bone*, 40, 939–47
111. Zarana, S.P., Simon, Y., Yasuhiko, T., John, A.J., Mark, E.K. and Antonios, G. M. (2008). Dual delivery of an angiogenic and an osteogenic growth factor for bone regeneration in a critical size defect model, *Bone*, 43, 931–940
112. Kalafat, H. Klimik (2005) XII.Türk klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları kongresi, Antalya.
113. Tezulas, E., Dilek, C.O., Topcuoglu, N., and Kulekci, G. (2009). Decontamination of autogenous bone grafts collected during dental implant site preparation: A pilot study, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107, 656-660.
114. Bassetti, C. and Kallenberger, A. (1980) Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesions, *J Clin Periodontol*, 7, 443-56.
115. Molina, M.E., Nonweiller, D.E. and Evans, J.A. (2000). Contaminated anterior cruciate ligament grafts: The efficacy of 3 sterilization agents, *Arthroscopy*, 16, 373.
116. Cruz, N.I., Cestero, H.J. and Cora, M.L. (1981) Management of contaminated bone grafts, *Plast Reconstr Surg*, 68, 411.
117. Severyns, A.M., Lejeune, A. and Rocoux, G. (1991). Non-toxic antiseptic irrigation with chlorhexidine in experimental revascularization in the rat, *J Host Infect*, 17, 197.
118. Stanford, R., Solomon, M. and Levick, M. (1999). Decontamination of contaminated bone tendon autografts using 10%povidone iodine solution, *Orthopedics*, 22, 601.

119. Fabre, L. and Chami, G. (1979). Experimentation clinique de la rifamycine S.V. en oto-rhino-laryngologie et chirurgie maxillo-faciale (article thérapeutique). Les Cahiers d'ORL, 14, 407-12.
120. Carvalho, P.S., Mariano, R.C. and Okamoto, T. (1997). Treatment of fibrinolytic alveolitis with rifamycin B diethylamide associated with gelfoam: a histological study, Braz Dent J, 8, 3—8.
121. Varlet, A., Dauchy, P. and Hingrez, M. (1985). Osteogenesis induced by the addition of demineralised bone matrix to plaster pellets with antibiotics, Animal experiment, Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot, 71, 73—8.
122. Kayaalp, S.O. (2009). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Feryal matbaacılık, Pelikan Tıp ve Teknik kitapçılık, Ankara, s-225.
123. Sisti, F. and Vaccaro, L. (1963) Local application of rifamycin SV in caverns treated by endocavitary aspiration. Arch Tisiol Mal Appar Respir, 18, 251-6.
124. Köşüş, A., Köşüş, N., Güler, A. and Çapar, M. (2010). Rifamycin SV application to subcutaneous tissue for prevention of post-cesarean surgical site infection, Eur J Gen Med, 7, 269-76.
125. Cardor, E., Tillie-Leblond, I. and Jeannin, P. (1995). Anaphylactic reaction to local administration of rifamycin SV, J Allergy Clin Immunol, 95, 1-7.
126. Laxenaire, M.C., Mouton, C., Frederic, A., Viry-Babel, F. and Bouchon, Y. (1996). Anaphylactic shock after tourniquet removal in orthopedic surgery, Ann Fr Anesth Reanim, 15, 179-84.
127. Iselin, F., Audren, J.L. and Gounet, O. (1990). Comparative study of the effects of a local antibiotic and a local antiseptic in emergency hand surgery, Ann Chir Main Memb Super, 9, 65-71.
128. Saydam, İ.M., Yılmaz, S. ve Seven, E. (2005). Topikal Olarak Uygulanan Nitrofurazon Ve Rifamisin'in Tam Kalınlıkta Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri, C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, 27, 113 – 120.
129. ArmaceuSweetman, S. (2005) The Complete Drug Reference. [Internet database]. London: Phical Press. Electronic version, Greenwood Village, Colo: Thomson Micromedex. Updated periodically. <http://www.micromedex.com/products/martindale>.
130. Norden, C,W. and Keleti, E. (1980). Treatment of experimental staphylococcal osteomyelitis with rifampin and trimethoprim, alone and in combination, Antimicrob Agents Chemother, 17, 591—4.

131. Drancourt, M., Stein, A., Argenson, J.N., Roiron, R., Groulier, P. and Raoult, D. (1997). Oral treatment of *Staphylococcus* spp. Infected orthopaedic implants with fusidic acid or ofloxacin in combination with rifampicin, *J Antimicrob Chemother*, 39, 235—40.
132. Sirot, J., Prive, L., Lopitiaux, R. and Glanddier, Y. (1983). Diffusion of rifampicin into spongy and compact bone tissue during total hip prosthesis operation, *Pathol Biol*, 31, 438—41.
133. Cluzel, R.A., Lopitiaux, R., Sirot, J. and Rampon, S. (1984). Rifampicin in the treatment of osteoarticular infections due to staphylococci, *J Antimicrob Chemother*, 13, 23—9.
134. Roth, B. (1984). Penetration of parenterally administered rifampicin into bone tissue, *Chemotherapy*, 30, 358—65.
135. Schmid, J., Wallkamm, B., Hammerle, C. H., Gogolewski, S. and Lang, N. P. (1997). The Significance of Angiogenesis in Guided Bone Regeneration. A Case Report of a Rabbit Experiment, *Clin Oral Implants Res*, 8, 244—248.
136. Boo, J. S., Yamada, Y., Okazaki, Y., Hibino, Y., Okada, K., Hata, K., Yoshikawa, T., Sugiura, Y. and Ueda, M. (2002). Tissue-Engineered Bone Using Mesenchymal Stem Cells and a Biodegradable Scaffold, *J Craniofac Surg*, 13, 231—239.
137. Herron, S., Thordarson, D. B., Winet, H., Luk, A. and Bao, J. Y. (2003). Ingrowth of Bone into Absorbable Bone Cement: An in vivo Microscopic Evaluation, *Am J Orthop*, 32, 581—584.
138. Kerem, B.A. (2007) Pentoksifilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi, *Uzmanlık Tezi, İstanbul*.
139. Jardini, M.A., Carvalho, D.M., and Lima, L.A. (2005) Early healing pattern of autogenous bone grafts with and without e-PTFE membranes: A histomorphometric study in rats, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 100, 666-73.
140. Bonfante, S., Alvaro, F.B., Danielle, S.L., Juliano, M.A., Tania, M.C., and Rumio, T. (2008) Influence of nicotine on healing process of autogenous bone block grafts in the mandible: A histomorphometric study in rats, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 23, 437-444.
141. Güven, O. ve Kaymak, T.E. (2010). Sinüs Lifting işlemi, *Türkiye Klinikleri Dergisi İmplantoloji Sayısı*, 1, 31-39.

142. Kawakami, H., Shino, K., Hamada, M., Nakata, K., Nakagawa, S. and Nakamura, N. (2004). Graft healing in a bone tunnel: bone-attached graft with screw fixation versus bone-free graft with extraarticular suture fixation, *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 12, 384-90.
143. Gonzalez, P.J., Bartolome, V.E., Grana, G.L. and Villanova, J.F. (2004) Free vascularized fibular grafts have a high union rate in atrophic nonunions, *Clin Orthop*, 419, 38-45.
144. Lee, K.S. and Park, J.W. (1999) Free vascularized osteocutaneous fibular graft to the tibia, *Microsurgery*, 19, 141-7.
145. Boyd, J.B. and Mulholland, R.S. (1993) Fixation of the vascularized bone graft in mandibular reconstruction, *Plast Reconstr Surg*, 91, 274-82.
146. De Marco, A.C., Jardini, M.A. and Lima, L.P. (2005) Revascularization of autogenous block grafts with or without an e-PTFE membrane, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 20, 867-874.
147. Presnal, B.P. and Kimbrough, E.E. (1993). What to do about a dropped bone graft, *Clin Orthop*, 296, 310.
148. Cooper, D.E., Arnoczky, S.P. and Warren, R.F. (1991). Contaminated patellar tendon grafts: Incidence of positive cultures and efficacy of an antibiotic solution soak—An in vitro study, *Arthroscopy*, 7, 272.
149. Hirna, M., Laitinena, M., Pirkkalainen, S. and Vuentob, R. (2004). Cefuroxime, rifampicin and pulse lavage in decontamination of allograft bone, *Journal of Hospital Infection*, 56, 198–201.
150. Young, M.P., Korachi, M., Carter, D.H., Worthington, H.V., McCord, J.F. and Drucker, D.B. (2002). The effects of an immediately pre-surgical chlorhexidine oral rinse on the bacterial contaminants of bone debris collected during dental implant surgery, *Clin Oral Implants Res*, 13, 20-9.
151. Buckner, R.Y., Kayrouz, G.A. and Briner, W. (1994) Reduction of oral microbes by a single chlorhexidine rinse, *Compendium*, 15, 512-20.
152. Veksler, A.E., Kayrouz, G.A. and Newman, M.G. (1991). Reduction of salivary bacteria by pre-procedural rinses with chlorhexidine 0.12%. *J Periodontol*, 62, 649-51.
153. Etcheson, A.W., Miley, D.D. and Gillespie, M.J. (2007). Osseous coagulum collected in bone traps: potential for bacterial contamination and methods for decontamination, *J Oral Implantol*, 33, 109-15.

154. Ellis, E. Biology of bone grafting: an overview. In: O’Ryan F editor. (1991) Selected readings in oral and maxillofacial surgery, vol 2. San Francisco: The Guild for scientific advancement in Oral and Maxillofacial Surgery, 1, 28.
155. Van Winkle, B. and Neustein, J. (1987). Management of open fractures with sterilization of large, contaminated, extruded cortical fragments, *Clin Orthop*, 223, 275-81.
156. Dahners, L.E. and Hoyle, M. (1989). Chemical sterilization of bacterially contaminated bone without destruction of osteogenic potential, *J Ortho Trauma*, 3, 241-4.
157. Egyedi, P. and Helderman, W. (1976). Sterilization of infected bone by lyophilization and rehydration with antibiotic solutions, *J Maxillofac Surg*, 4, 65-6.
158. Hooe, W., Barry, S., Detroit, A., Ann, A. and Mich. (1996) Management of contaminated bone grafts: An experimental in vitro study, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 82, 34-7.
159. Branemark, P.I. and Ekholm, R. (1967). Tissue injury caused by wound disinfectants, *J Bone Joint Surg*, 49, 48-62.
160. Goebel, M.E., Drez, D.J., Heck, S.B. and Stoma, M.K. (1994) Contaminated rabbit patellar tendon grafts: In vivo analysis of disinfecting methods, *Am J Sports Med*, 22, 387.
161. Deijkers, R.L., Bloem, R.M. and Petit, P.L. (1997). Contamination of bone allografts: Analysis of incidence and predisposing factors, *J Bone Joint Surg Br*, 79, 161.
162. Petri, W.H. and Schaberg, S.J. (1984). The effects of antibiotic-supplemented bone allografts on contaminated, partially avulsive fractures of the canine ulna, *J Oral Maxillofac Surg*, 42, 699-704.
163. Petri, W.H. and Wilson, T.M. (1993). Clinical evaluation of antibioticsupplemented bone allograft, *J Oral Maxillofac Surg*, 51, 982-6.
164. Witso, E., Persen, L., Loseth, K., Benum, P. and Bergh, K. (2000). Cancellous bone as an antibiotic carrier, *Acta Orthop Scand*, 71, 80—4.
165. Husseina, M.R.A., Abu-Diefb, E.E., Badawyc, B.S. and Ahmed, M.A. (2008) The postoperative histologic changes in the nasal mucosa following treatment with amoxycilline or rifampicin: Preliminary findings, *Pathology – Research and Practice*, 204, 751–755.

166. Isefuku, S., Joyner, C.J. and Simpson, A.H.R.W. (2001). Effect of rifampicin on human osteoblast-like cells, *Journal of Orthopaedic Research*, 19, 950-954.
167. Moon, M.S., Woo, Y.K., Lee, K.S., Ha, K.Y., Kim, S.S. and Sun, D.H. (1995). Posterior instrumentation and anterior interbody fusion for tuberculosis of dorsal and lumbar spines, *Spine*, 20, 10-6.
168. A controlled trial of six-month and nine-month regimens of chemotherapy in patients undergoing radical surgery for tuberculosis of the spine %i Hong Kong. (1986) Tenth report of the Medical Research Council Working Party on tuberculosis of the spine, *Tubercule*, 67, 243-25
169. Relly, T., Kunz, S., Sande, E., Zak, O., Sande, M. and Tauber, M. (1992). Relationship between antibiotic concentration in bone and efficacy of treatment of staphylococcal osteomyelitis in rats: azithromycin compared with clindamycin and rifampin, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 36, 2693-2697.
170. Humadi, A., Alhadithi, R.H. and Alkudiyari, S.I. (2010). Validity of the DEXA Diagnosis of Involutional Osteoporosis in Patients with Femoral Neck Fractures, *Indian J Orthop*, 44, 73-78.
171. Iwaniec, U.T., Wronski, T.J. and Turner, R.T. (2008). Histological Analysis of Bone, *Methods Mol. Biol*, 447, 325-341.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Ufuk TAŞDEMİR
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 09/02/1983
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 58140–Sivas.
E–posta Adresi	ufukdt@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Fen Lisesi, 1997–2000
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2001–2006
Doktora	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, 2006–2010

İş Tecrübesi

Cumhuriyet Üniversitesi	Araştırma görevlisi, 2009–
-------------------------	----------------------------

