



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE OTOJEN
PERİOSTUN ETKİNLİĞİNİN OTOJEN KEMİK VE
ALLOJENİK GREFT İLE KARŞILAŞTIRILMASI:
HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA**

DOKTORA TEZİ

H. İlyas KÖSE

**Samsun
Haziran-2015**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE OTOJEN
PERİOSTUN ETKİNLİĞİNİN OTOJEN KEMİK VE
ALLOJENİK GREFT İLE KARŞILAŞTIRILMASI:
HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA**

DOKTORA TEZİ

H. İlyas KÖSE

**Danışman
Doç. Dr. Bora ÖZDEN**

**Samsun
Haziran-2015**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Hızır İlyas KÖSE tarafından Doç. Dr. Bora ÖZDEN danışmanlığında hazırlanan ‘Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Otojen Periostun Etkinliğinin Otojen Kemik ve Allojenik Greft İle Karşılaştırılması: Histomorfometrik Çalışma’ başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 10/06/2015 tarihinde yapılan sınav ile Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Alper ALKAN

Erciyes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Doğan DOLANMAZ

Selçuk Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Bora ÖZDEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Burcu BAŞ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Bülent AYAS

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

...../...../.....

Doç. Dr. Aydın HİM

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bana her zaman yol gösteren, her şart ve koşulda kendimi geliştirmem için çaba sarf eden, bir an dahi olsun desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Bora ÖZDEN' e,

Tezime ve eğitimime olan katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Burcu BAŞ' a ve doktora öğrenimim boyunca gösterdikleri anlayış ve yardımları için başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Mahmut Sümer olmak üzere Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma,

Tez verilerimin istatistiksel olarak incelenmesinde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Yüksel TERZİ'ye ve tez çalışmamın histolojik incelemelerini yapan Sayın Doç. Dr. Bülent AYAS'a,

Doktora eğitimim boyunca beraber çalıştığım ve birlikte çok güzel günlerimin geçtiği bölüm arkadaşlarıma,

Bugüne gelmemde büyük pay sahibi olan anneme, babama ve desteklerini her zaman hissettiğim ablam ve kardeşime,

Hayatını benimle paylaşan, eğitimim için her türlü zorluğa katlanan ve fedakarlık gösteren sevgili eşim Nihal KÖSE 'ye ve hayatımıza renk katan biricik kızım ELİSA' ya,

Teşekkür ederim.

ÖZET

KEMİK DEFEKTLERİNİN İYİLEŞMESİNDE OTOJEN PERİOSTUN ETKİNLİĞİNİN OTOJEN KEMİK VE ALLOJENİK GREFT İLE KARŞILAŞTIRILMASI: HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA

Amaç: Bu çalışmanın amacı; serbest otojen periosteal greftin kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkisinin otojen ve allojenik kemik grefti ile kıyaslanarak, histomorfometrik ve stereolojik olarak incelenmesidir.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda 32 adet Wistar cinsi dişi rat kullanıldı. Ratlar 4 eşit gruba ayrıldı. Herbir ratın kalvaryasında steril serum fizyolojik irrigasyonu altında, trefin frez kullanılarak sagittal suturun bir kısmını da içine alacak şekilde 5 mm çapında defektler oluşturuldu. Grup 1 (n=8) kontrol grubu iken, Grup 2’de (n=8) otojen kemik grefti, Grup 3’te (n=8) allojenik kemik grefti ve Grup 4’te (n=8) serbest otojen periosteum defektlere uygulandı. Denekler 40. günde sakrifiye edildi. Yeni kemik, bağ dokusu, osteoblast ve osteosit yoğunluğu histomorfometrik ve stereolojik değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: 40. gün sonunda ortalama yeni kemik yoğunluğunun otojen kemik grubunda en yüksek düzeyde olduğu belirlendi. Otojen kemik ve allojenik kemik grefti grubu arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), otojen kemik ve serbest otojen periosteum grubu arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0,05$). Yeni kemik yoğunluğu açısından allojenik kemik grefti grubu ile serbest otojen periosteum grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). En fazla bağ doku kontrol grubunda görüldü ($p<0,05$).

Sonuç: Serbest otojen periosteumun yeni kemik oluşumunu stimüle ettiği ancak otojen ve allojen kemik grefti ile kıyaslandığında daha yetersiz olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: kemik defekti; kemik grefti; periosteum; yeni kemik oluşumu

Hızır İlyas KÖSE, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Haziran – 2015

ABSTRACT

THE EFFECT OF AUTOGENOUS PERIOSTEUM ON HEALING OF BONE DEFECTS WITH COMPARISON OF AUTOGENOUS BONE AND ALLOGENIC GRAFT: A HISTOMORPHOMETRIC STUDY

Aim: The aim of this study is to evaluate histomorphometrically and stereologically the effect of free autogenous periosteal graft on the healing of bone defects comparing with autogenous and allogenic bone grafts.

Material and Method: This study was carried out on 32 female Wistar rats. Defects were created in calvariums of rats including a part of sagittal suture with a 5 mm internal diameter trephine bur under sterile saline irrigation. While Group 1(n=8) is the control group, in Group 2 (n=8) autogenous bone graft, in Group 3 (n=8) allogenic bone graft and in Group 4 (n=8) free autogenous periosteum were placed in the defect cavity. Subjects were sacrificed on the 40th day. The new bone, connective tissue, osteoblast and osteocyte density evaluated histomorphometrically and stereologically. The obtained results compared statistically.

Results: At the end of 40th day the best level of average new bone density was defined in the autogenous group. While there was no significant difference between autogenous bone and allogenic bone graft group ($p>0.05$), the difference between the autogenous bone and free autogenous periosteum was significant ($p<0.05$). There was no significant difference ($p>0.05$) between allogenic bone graft group and free autogenous periosteum group in terms of new bone density. The maximum amount of connective tissue was detected in control group.

Conclusions: The results of this study indicated that free autogenous periosteum stimulates the new bone formation but was insufficient when compared to autogenous and allogenic bone grafts.

Keywords: bone defect; bone graft; new bone formation; periosteum

Hızır İlyas KÖSE, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, June - 2015

SİMGELER VE KISALTMALAR

a-FGF	: Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü
BMP	: Kemik Morfogenetik Proteini
bFGF	: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
DDKKA	: Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
HA	: Hidroksiapatit
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
KBKD	: Kritik Boyutlu Kemik Defekti
MDKA	: Mineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti
nm	: Nanometre
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PTFE	: Politetrafluoretilen
ePTFE	: expanded-Politetrafluoretilen
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
YDR	: Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
YKR	: Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik	3
2.1.1. Kemiğin Yapısal Özellikleri	3
2.1.2. Kemik Matriksi	4
2.1.3. Kemik Hücreleri	5
2.1.4. Kemik Zarları	7
2.1.5. Kemik Oluşumu	10
2.1.6. Kemik İyileşmesi	12
2.2. Kritik Boyutlu Kemik Defekti	13
2.3. Kemik Greftleri	14
2.3.1. Kemik Greftlerinin Biyolojisi	14
2.3.2. Greft Materyallerinin Doku veya Organ İle İlişkileri	16
2.3.3. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması	17
2.4. Büyüme Faktörleri	21
2.5. Bariyer Membranlar	23
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Hayvanlar	25
3.2. Deney Grupları	25
3.3. MinerOss Kemik Grefti	26
3.4. Cerrahi Teknik	26
3.5. Histolojik Değerlendirme	31
3.6. Histomorfometrik ve stereolojik değerlendirmeler	32
4. BULGULAR	32
4.1. Histolojik Bulgular	34
4.1.1. Kontrol Grubu	34

4.1.2. Otojen Kemik Grefti Uygulanan Grup	35
4.1.3. Allojenik Kemik Grefti (Mineros) Uygulanan Grup	37
4.1.4. Serbest Periosteum Grefti Uygulanan Grup	38
4.2. İstatistiksel Analiz	40
4.2.1. Ortalama Yeni Kemik Yoğunluğu.....	40
4.2.2. Ortalama Bağ Dokusu Yoğunluğu.....	41
4.2.3. Ortalama Osteoblast Yoğunluğu.....	42
4.2.4. Ortalama Osteosit Yoğunluğu	43
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58
EK-1 ETİK KURUL ONAYI.....	73
ÖZGEÇMİŞ	74

1. GİRİŞ

Çene ve yüz bölgesinde konjenital, patolojik veya iatrojenik nedenlerden dolayı defektler meydana gelebilmektedir. Kemik dokusu rejenerasyon özelliğine sahip bir dokudur ve yaralanan kemik dokusu şekil ve fonksiyonunu yeniden kazanabilmektedir. Küçük kemik defektleri kendiliğinden iyileşme gösterebilirken, defekt boyutu arttığında iyileşme sınırlı olarak kalabilmektedir (Van der Stok ve ark., 2011; Trotta ve ark., 2013). Tam olarak kemiksel iyileşme ile kendi kendine kapanması mümkün olmayan defektlere kritik boyutta kemik defekti denilmektedir. Bu tarz defektlerin tamirinde genellikle greftleme işlemleri uygulanır (Zhang ve ark., 2015).

Kemik defektlerinin tedavisi için kullanılan kemik greftlerinde altın standardı otojen kemik greftleri oluşturmaktadır. Bunun başlıca sebepleri; osteojenik özellikte olmaları, minimal antikor cevabı oluşturmaları, erken dönemde damarlanma göstermeleri ve maliyetlerinin düşük olmalarıdır. Ancak ikinci bir cerrahi operasyon sahasının açılması, limitli elde edilebilme, rezorbsiyon hızlarının ve miktarının önceden tahmin edilememesi, verici sahada komplikasyonların meydana gelebilmesi gibi dezavantajları mevcuttur (Mish, 1997; Finkemeier, 2002; Clavero ve ark., 2003; Wang ve ark., 2005). Bu durum araştırmacıları, yeni alternatif greft materyali araştırmaya yöneltmiştir. Günümüzde otojen kemik greftine alternatif pekçok greft materyali kullanılmaktadır. Bunlar allojen, ksenojen veya alloplastik greft materyalleridir (Trotta ve ark., 2013).

Periosteum dokusu kemiğin dış yüzünü kaplayan damarlı bir bağ dokusudur. Dış tabakasında fibroblastlar ve Sharpey lifleri bulunurken; kambiyum adı verilen iç tabakasında kemikleşme, kırık iyileşmesi ve rejenerasyonu sağlayan çok potansiyelli mezenkimal kök hücreleri bulunmaktadır. Periosteum kemik gelişiminde ve kırık iyileşmesinde önemli bir role sahiptir. Normal kemik gelişiminde periosteum kaynaklı hücreler direkt olarak osteoblastlara farklılaşırlar (Taylor, 1992). Fraktür iyileşmesinde periosteum kaynaklı hücreler endokondral ve intramembranöz kemikleşmeye katılan kondrositlere ve osteoblastlara farklılaşırlar (Hanada ve ark., 2001). Periosteal hücrelerin bu farklılaşma kabiliyeti periosteumun osteogenezis ve kondrogenezis açısından önemli bir yeteneğe sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda periosteal hücrelerin osteojenik potansiyeli olduğu rapor edilmiştir (Ueno ve ark., 2007). Bu osteojenik kapasitesinden dolayı periosteum kemik oluşumunun indüklenmesinde kullanılabilir

bir alternatif olarak göze çarpmaktadır. Periosteumun greft materyali olarak kullanımı vaskülarize periosteal flep şeklinde olabileceği gibi serbest otojen periosteal greft şeklinde de olabilir (Dailiana ve ark., 2002). Ancak serbest otojen periosteal greftin, herhangi bir sebeple oluşan kemik defektlerinin tamirinde alternatif bir greft materyali olarak kullanılabilmesini gösteren yeterli sayıda çalışma mevcut değildir (Gemalmaz ve ark., 2013).

Bu çalışmada; serbest otojen periosteal greftin kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkisinin otojen ve allojenik kemik grefti ile kıyaslanarak, histomorfometrik ve stereolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.



2 GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik

Kemik doku, tamir ve rejenerasyon gücüne sahip olan yüksek oranda özelleşmiş bir konnektif dokudur. Hücrelerden, organik ekstrasellüler matriksten ve inorganik tuzlardan oluşur. Vücut yapısına destek ağlar, vital organları korur, kemik iliğine ortam sağlar, kalsiyum dengesinin sağlanmasında mineral deposu görevi görür, büyüme faktörleri ve sitokinler için rezervuar oluşturur. Ayrıca asit-baz dengesinde de rol oynar. Kemik maruz kaldığı biyomekanik kuvvetlere adapte olabilmek için yaşam boyu yeniden şekillenmeye uğrar (Junqueira ve Carneiro, 2003; Taichman, 2005; Suvarna ve ark., 2013).

2.1.1. Kemığın Yapısal Özellikleri

Kemığın makroskopik olarak kompakt (kortikal) ve spongiöz (kansellöz), mikroskopik olarak da lameller ve örgü kemik olmak üzere iki formu vardır. Hem kompakt hem de spongiöz kemik lameller yapıdadır (Kierszenbaum, 2002). Örgü kemik rastgele bir görünüme sahiptir. Embriyolojik gelişimde ve kırık tamirinde ilk görülen kemiktir. Örgü kemik geçicidir ve kalvaryanın süturlara yakın bölgelerinde ve bazı tendonların insersiyoları hariç yetişkinlerde lameller kemik ile yer değiştirir. Çok sayıda osteosit içerir ve zayıf bir yapıya sahiptir (Mescher, 2013). Kompakt kemik katı bir kitle olarak görülür ve total kemik kitlesinin % 80'ini oluşturur. Spongiöz kemik bir kemik spikülü ağından veya kemik iliği tarafından oluşturulan trabeküler yapıdan oluşur ve total kemik kitlesinin % 20'sini oluşturur (Kierszenbaum, 2002; Mescher, 2013). Kompakt kemik periosteum ile sarılıdır, spongiöz kemik yüzeyleri ise endosteum ile kaplanmıştır (Mescher, 2013). Uzun kemiklerde kemığın her iki uç kısmı epifiz, iki uç kısmı arasında kalan bölüm diyafiz olarak adlandırılır. Epifiz kemığın oluşumunda etkin olan bir bölgedir ve ince bir kompakt kemikle sarılı spongiyöz kemik dokusundan oluşmaktadır. Diyafiz ise kompakt kemikten oluşmakta ve orta kısmında kemik iliği bulunmaktadır. Yassı kemiklerin (örn: kafatası) iç ve dış tarafı kompakt, kompakt kemikler arasında kalan kısım ise spongiöz kemikten oluşmaktadır. Bu tip kemikler diploe kemikler olarak adlandırılır (Mescher, 2013).

Kompakt Kemik

Kompakt kemik osteonlar veya haversian sistem adı verilen silindirik ünitelerden oluşur. Osteonlar; osteonal veya haversian kanal adı verilen merkezi bir kanalı çevreleyen kemik matriksin konsentrik lamellerinden oluşmaktadır. Bu kanal osteonun vasküler ve sinirsel desteğini sağlayan damar ve siniri içerir. Osteositleri barındıran kanaliküliler ışınsal tarzda düzenlenmişlerdir. Bu kanaliküli sistemi osteonlara açılır ve kan damarları ve osteositler arasında madde alış verişini sağlar. Osteonlar arasındaki konsentrik lameller intersitisyel lameller olarak adlandırılır. Bu organizasyondan dolayı kompakt kemik lameller kemik olarak da adlandırılır (Ross ve Pawlina, 2011). Volkmann kanalları; içinden periosteal ve endosteal yüzeylerden osteonlara doğru kan damarları ve sinirler geçen lameller kemikteki kanallardır. Bu kanallar aynı zamanda osteonal kanalları birbirine bağlar (Ross ve Pawlina, 2011).

Spongioz Kemik

Spongioz kemik yapısal olarak kompakt kemiğe benzemekle beraber süngerimsi bir görünüme sahiptir. Trabeküler veya bol boşluklu bir yapısı vardır. Bu boşluklar kemik iliği ile doludur. Yoğunluğu düşük ve elastiktir. Kanlanması fazladır, bu da daha fazla kemik döngüsüne sahip olmasını sağlar (Ross ve Pawlina, 2011; Mescher, 2013).

2.1.2. Kemik Matriksi

Kemik matriksi % 35 organik, % 65 inorganik komponentlerden oluşur (Kierszenbaum, 2002). Kemik ağırlığının yaklaşık olarak % 20'sini su oluşturur. Hacminin ise büyük bir kısmını kollajen oluştururken, kuru kemik ağırlığının % 60-70'ini inorganik kalsiyum fosfat, % 30-35'ini ise organik fibröz protein ve kollajen oluşturur. Kemik iliği ile karşılaştırıldığında, kemikte bulunan hücre sayısı daha azdır (Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003; Suvama ve ark., 2013).

Kemik organik matriksi osteoblastlar tarafından salgılanan ve osteoid adı verilen mineralize olmamış organik yapıdan oluşur. Organik yapının % 90'ını tip I kollajen; % 10'unu ise proteoglikanlar, kondroitin sülfat, keratan sülfat, hyalüronik asit ve non-kollajen proteinler meydana getirir (Kierszenbaum, 2002; Kumar ve ark., 2005). Non-kollajen proteinlerin büyüme faktörlerinin salınımında, hücrelerin organik matrikse

tutunmalarında ve organik matriksin kalsifikasyonunda görevli oldukları düşünülmektedir.

Kemikte bulunan kollajen vücuttaki diğer kollajenden farklıdır. Tip I kollajen içeren diğer dokularda kollajen lifler mineralize olmazken, kemikte bulunan tip I kollajen lifler mineralize olurlar (Suvarna ve ark., 2013). Olgunlaşmış bir kemik dokuda lifler paralel olacak ve aralarında porlar bırakacak şekilde dizilmiş olup, aralarında hidroksiapatit kristalleri yerleşiktir (Kierszenbaum, 2002; Junqueira ve Carneiro, 2003; Suvarna ve ark., 2013).

Non-kollajen matriks proteinler; osteokalsin, osteopontin ve osteonektindir. Bunlar osteoblastlar tarafından sentezlenirler ve kemiğin mineralizasyonunda rol alırlar. Osteokalsin osteoblast fonksiyonunu inhibe ederken, osteopontin kemiğin yeniden yapılanmasında görev alır. Osteonektin ise sadece bir osteoblast ürünü değildir, aynı zamanda dokularda morfogenezis ve yeniden yapılanmada rol oynar (Kierszenbaum, 2002).

Kemik inorganik elemanları içinde kalsiyum, fosfat, sitrat ve magnezyum baskın olarak bulunmaktadır. Vücuttaki kalsiyumun % 99'u, fosforun % 85'i, sodyum ve magnezyumun % 65'i iskelet sistemindedir. Kalsiyum ve fosfat hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunur ve kemik kollajenlerinin yanında amorf madde ile birlikte iç içe organize olmuşlardır. Hidroksiapatit kristallerinin kemikteki önemi kollajenlerle beraber kemik sertliğini ve dayanıklılığını sağlamasıdır (Kumar ve ark., 2005; Suvarna ve ark., 2013).

2.1.3. Kemik Hücreleri

Kemik dokusunda 4 tip hücre bulunmaktadır:

- a) Osteoprogenitör hücreler,
- b) Osteoblastlar,
- c) Osteoklastlar,
- d) Osteositler.

Osteoprogenitör hücreler

Periosteumun hücresel tabakasının iç tarafında, Haversian kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Bu hücreler embriyonik mezenkimden köken alırlar. Mitoz ile bölünerek osteoblastlara veya düşük derecelerde oksijen konsantrasyonu gibi durumlarda kondrojenik hücrelere farklılaşabilme potansiyeline sahiptirler. Bunlar kemik büyümesi periodu boyunca en aktif hücrelerdir (Gartner ve Hiatt, 2006).

Osteoblastlar

Kemik matriksi sentezleyen ve salgılayan, küp şeklinde hücrelerdir. Kemik kalsifikasyon ve rezorbsiyonunda rol alırlar. Kemiğe kalsiyum ve fosfat giriş çıkışını düzenlerler. Osteoprogenitör hücrelerden farklılaşırlar. Tip I kollajen, glikoproteinler, proteoglikanlar ve osteokalsin, osteonektin, osteopontin, osteoprotegerin gibi kemik matriksinin organik protein komponentlerinin sentezinden sorumludurlar. Sitokinler ve kemik morfogenetik protein (BMP) ailesinin bazı üyeleri, transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), fibroblast büyüme proteini (FGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi bazı büyüme faktörleri osteoblastların farklılaşmasını ve gelişimini düzenler. Kemik yapımı sonlanmaya başladığında, osteoblastların bir kısmı meydana getirdikleri matriks içinde hapsolarak osteositlere dönüşür (Kierszenbaum, 2002; Kumar ve ark., 2005; Gartner ve Hiatt, 2006).

Osteositler

Kemik matriks içerisinde lakün olarak adlandırılan küçük boşluklarda yerleşmiş, osteoblastlardan farklılaşmış olgun kemik hücreleridir. Osteositler ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor konsantrasyonunun düzenlenmesinde etkin bir rol oynarlar. Osteositlerin herbirinden çıkan sitoplazmik uzantılar diğer osteositlere ulaşarak bir ağ meydana getirirler. Lakünlerde bulunan kanaliküller lakünleri kan damarlarına ve diğer lakünlere bağlarlar. Bu kanaliküller ekstrasellüler sıvı içerirler ve osteositlerin beslenmesi için gerekli olan besinleri ve metabolitleri taşırlar. (Kierszenbaum, 2002; Kumar ve ark., 2005; Gartner ve Hiatt, 2006).

Osteoklastlar

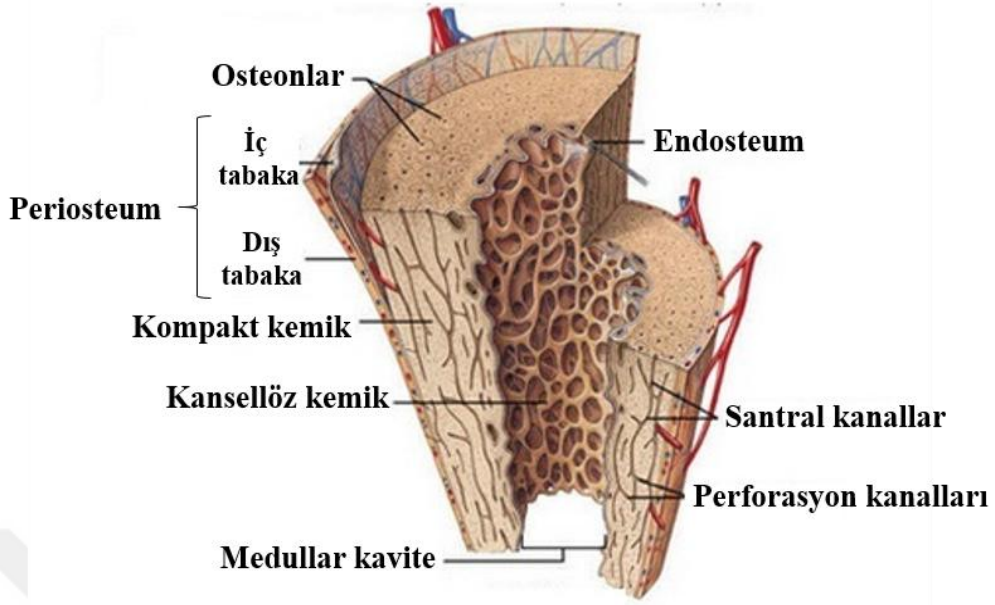
Kemik rezorpsiyon veya erozyonundan sorumlu, stoplazmalarında çok miktarda mitokondri ve alkalın fosfataz bulunduran çok çekirdekli hücrelerdir (Suvarna ve ark., 2013). Önceleri osteoklastların kemik iliğinde yer alan granülositik makrofaj öncülerinden köken alan monositlerin füzyonuyla oluştuğu düşünülmesine rağmen yeni kanıtlar osteoklastların mononükleer-fagosit sistem olarak adlandırılan monositlerle ortak bir kemik iliği öncüsüne sahip olduğunu göstermiştir (Gartner ve Hiatt, 2006). İçeriklerinde bulunan kollajenaz ve diğer proteolitik enzimlerler sayesinde kemiğin organik ve inorganik matriksi ile kalsifiye kartilaj dokusunu rezorbe ederler. Rezorpsiyon süreci sonucunda “Howship Lakünleri” olarak adlandırılan eroziv alanlar oluşur. Osteoklastlar hormonlara karşı da çok duyarlıdır. Osteoblast stimule edici faktör, parathormon ve kalsitonin bağlayan reseptörlere sahiptir. Kemiğin yıkımı ve kemiğin şekillenmesinde önemli bir role sahiptir. Bu olay osteoklast ve osteoblastların uyumlu bir şekilde çalışması ile meydana gelmektedir (Kierszenbaum, 2002; Kumar ve ark., 2005; Gartner ve Hiatt, 2006).

2.1.4. Kemik Zarları

Tüm kemiklerin iç ve dış yüzeyleri kemik oluşumunu sağlayan hücreler ve bağ dokusundan meydana gelen periosteum ve endosteum olarak adlandırılan zarlarla örtülmüştür. Bu iki zarın temel işlevi kemik dokusunun beslenmesi, büyümesi ve onarımını sağlamaktır (Şekil 1).

Periosteum

Periosteum yoğun bir bağ dokusu zarıdır ve uzun kemiklerin eklem yüzeyleri hariç bütün kemiklerin dış yüzeyini kaplar. Sahip olduğu Sharpey lifleri ile kemik yüzeylerine sıkıca bağlanır. Periosteumun yapısı yaşla değişkenlik gösterir. Bebeklerde ve çocuklarda daha kalın, daha damarlı, daha aktif ve kemiğe daha gevşek bağlıdır. Yetişkinlerde daha ince, daha az aktif ve kemiğe daha sıkı yapışıktır (Malizos ve Papatheodorou, 2005).



Şekil 1. Kemik zarlarının histolojik yapısı (<http://www.healthfixit.com>'dan)

Periosteum iç (osteojenik) ve dış (fibröz) tabaka olmak üzere iki kısımdan oluşur. Fibröz tabaka daha kalındır. Dışta bulunan fibröz tabakada fibroblastlar, kan damarları, duyuşal ve sempatik sinir lifleri, kollajen lifler ve ekstrasellüler matriks bulunur (Asaumi ve ark., 2000). İç tabaka kambium olarak adlandırılır. Bu tabaka kondrojenik ve osteoblastik hücrelere dönüşme yeteneğine sahip farklılaşmamış progenitör hücreler için bir depo vazifesi görür (Fang ve Hall 1997; Ito ve ark., 2001). Periosteum osteoprogenitör hücre içeren bir kemik örtü olarak tarif edilebilir. Bu doku travma, retrovirüs, tümör ve lenfosit mitojenler ile aktive olma yeteneğine sahiptir (Fan, 2010).

Osteoblastlara farklılaşma potansiyeli ile birlikte osteoprogenitör hücreler kemik büyümesi ve tamirinde önemli bir rol oynar. Periosteumun esas görevi kemik dokusunu beslemek, apozisyonel kemik büyümesi ve tamiri için yeni osteoblastların sürekli olarak teminini sağlamaktır (Mescher, 2013). Aynı zamanda periosteum yüksek vaskülaritesinden dolayı çok sayıda endotelial perisit içerir. Perisitler kapiller endotelial hücrelerle fiziksel kontak sağlayan hücrelerdir. Özel kültür şartları altında bu hücreler osteoblastlar dahil birkaç hücre tipine farklılaşabilmektedir. Böylece perisitlerin

periosteumun içerisinde osteoprogenitör hücrelerin ek bir kaynağı olduğu düşünülür (Lin ve ark., 2013).

Kemik iyileşmesi kompleks bir olaydır. Bu kompleks kemik iyileşme sürecine esas katkıyı periosteum sağlar. Yaralanmadan sonraki 24-48 saat içinde periosteumda akut inflamatuvar bir reaksiyon görülebilir (Colnot ve ark., 2003; Lu ve ark., 2005). Daha sonra periosteal hücreler çoğalmaya başlarlar ve periosteumun kalınlaştığı görülür. Bu süreç periosteal aktivasyon olarak ifade edilir. Colnot ve ark (2009) fare tibialarında periosteal ile endosteal/kemik iliği yaralanmalarını karşılaştırmış ve periosteal yaralanmaların endokondral kemikleşme ile, endosteal/kemik iliği yaralanmalarının ise kondrogenesis olmaksızın intramembranöz kemikleşme ile iyileştiğini bulmuştur (Colnot, 2009). Periosteumdan kaynaklanan mezenkimal hücre sayısının artması kallus içindeki kırıkta ve kemik oluşumundan büyük oranda sorumludur (Zhang ve ark., 2005; Colnot, 2009). Bu sonuçlar periosteal hücrelerin kallus oluşumu için kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir. Periosteum kaynaklı progenitör hücrelerin aktivasyonu anjiyogenezisin eşlik ettiği kondrogenesis ve osteogenezisi güçlü bir şekilde uyarır. Bu da vaskülarizasyona ve kemik greftlerin yeniden şekillenmesine yol açar (Zhang ve ark., 2005; Colnot ve ark., 2012).

Kallusun hücresel içeriği ve boyutu iyileşme boyunca periosteumun ne kadar stimüle edildiğine bağlıdır. Örneğin fraktür uçları fiksasyon ile stabilize edildiğinde kallus oluşumu nispeten minimaldir ve kemik rejenerasyonu intramembranöz kemikleşme yoluyla olur. Ancak stabilizasyon ve fiksasyon yapılmadığı durumlarda endokondral kemikleşme yoluyla geniş bir kallus şekillenir ve sonuç olarak daha güçlü bir periosteal cevap oluşur (Thompson ve ark., 2002; Colnot ve ark., 2003). Lokal kemik iliği, komşu kas dokusu, endotelial hücreler ve dolaşan kök hücreler dahil mezenkimal progenitör hücrelerin diğer kaynaklarının kemik kırığı iyileşmesine katıldığı ileri sürülmüştür (Park ve ark., 2012; Colnot ve ark., 2012).

Endosteum

Kompakt kemiğin kemik iliğine bakan yüzeyini ve spongios kemiğin trabeküllerinin içindeki kaviteyi bir astar gibi saran dokuya endosteum denir. Endosteum sıklıkla kalın bir hücre tabakasıdır ve osteoprogenitör hücreler içerir. Bu hücreler kemik

matriksi salgılayan hücrelere, osteoblastlara ve kemik yüzeylerini kaplayan kemik astar (bone-lining) hücrelerine farklılaşabilir. Osteoprogenitör hücreleri ve kemik astar hücrelerini mikroskopik tabaka olarak ayırt etmek zordur. Her ikisi de uzamış, basık şekilli çekirdek ve aynı sitoplazmik özelliklere sahiptir. Kemik kavitesi içindeki lokasyonlarından dolayı sıklıkla endosteal hücreler olarak adlandırılırlar. Bu hücrelerin kemik yapımı yanında hemopoietik hücre yapma yetenekleri de vardır (Ross ve Pawlina, 2011).

2.1.5. Kemik Oluşumu

Kemik oluşumu; intramembranöz kemikleşme, enkondral kemikleşme ve apozisyonel kemikleşme olarak üç farklı mekanizma sonucu meydana gelir (Miller ve ark., 2012). Hem intramembranöz hem de enkondral kemikleşme ile ilk ortaya çıkan kemik dokusu primer veya olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusu yani lameller kemik alır. Kemiklerin büyüme sürecinde örgü kemik alanları, kemik rezorpsiyon alanları ve lameller kemik alanları yan yana bulunur (Mescher, 2013).

İntramembranöz Kemikleşme

Birçok yassı kemik embriyonal mezenkimal doku yoğunlaşmaları (membran) içinde oluşmaya başladığı için bu tür kemik oluşumuna intramembranöz kemikleşme adı verilmiştir. Frontal ve pariyetal kemiklerin tamamı ile oksipital, temporal, mandibula ve maksillanın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir (Gartner ve Hiatt, 2006; Mescher, 2013). Mezenkim tabakası yoğunlaşması içinde kemikleşmenin başladığı ilk noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Bu bölgelerde mezenkimal hücreler osteoprogenitör hücrelere dönüşürler. Bu osteoprogenitör hücreler gelişen kapiller damar ağın etrafında çoğalırlar ve osteoblastları oluştururlar. Osteoblastlar da osteoid komponentleri salgırlar ve kalsifiye olan osteoid doku örgü kemiğin trabeküler yapısını oluşturur. Osteoblastlardan farklılaşan osteositler artık matriks lakünleri içinde çevrelenmiştir. Devam eden matriks sekresyonu, kalsifikasyonu ve trabeküler büyüme komşu kemikleşme merkezlerinin birleşmesini sağlarken kemik ilikli ve damarlı kansellöz kemik bölgelerini çevreleyen kompakt kemik tabakalarının gelişimine yol açar (Mescher, 2013).

Kafatasının yassı kemiklerinin gerek iç gerekse dış yüzeylerindeki kemik yapımı, kemik yıkımına nazaran belirgin bir üstünlük kazanır. Böylece 2 tabaka kompakt kemik (iç ve dış tabakalar) ortaya çıkar ama merkezi kısım (diploe) süngerimsi yapısını korur. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise yeni kemiğin periosteum ve endosteumunu meydana getirir (Mescher, 2013).

Enkondral Kemikleşme

Enkondral kemikleşme daha karmaşık bir süreçtir. İskelet sisteminin diğer kemiklerinin yanısıra uzun kemiklerin gelişimi bu yolla gerçekleşir. Kemik gelişimi sürecinde ara basamak olarak kıkırdak oluşumu söz konusudur. Enkondral kemikleşmede embriyonik mezenkimal hücreler, gelişmekte olan kemiğin yaklaşık boyut ve şeklinde kıkırdak bir kalıp oluşturmak için yoğunlaşırlar (Bronner ve ark., 2010). Enkondral kemikleşme sırasında kondrosit adı verilen kıkırdak hücrelerinin sayısı artar, hipertofiyeye uğrarlar ve ölürlür. Kıkırdak matriks kalsifiye olur ve bir kemikleşme merkezi oluşur. Bu süreç kıkırdak modeli merkezinde meydana gelirken, kan damarları perikondriyumda birikir. Oluşacak kemiğin dış yüzeyinde bulunan kan damarlarının varlığı bir takım tanımlanmamış bağ dokusu hücrelerinin yüzeyinde osteoblastların oluşmasına sebep olur. Daha sonra bu osteoblastlar diyafiz dış yüzeyinin bir parçası etrafında bir *collar* kemik üretir ve bu bölgede perikondriyum periosteuma dönüşür. Aynı zamanda kan damarları diyafiz merkezinin içine büyür ve kemikleşme stimülasyonu olmaya başlar (Marieb, 2012). Kemiğin ilk görünmeye başladığı diyafiz parçasının merkezi primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Osteoblastlar kıkırdak hücrelerinin ölmesiyle meydana gelen kemik merkezindeki boşlukları istila eder. Kalsifiye kıkırdak matriks osteoklastlar tarafından ortadan kaldırılır. Osteoblastlar arta kalan kalsifiye matriks içinde sıralanır ve lameller kemik oluşmaya başlar. Daha sonra diyafiz merkezinde medullar bir kavite oluşur ve burada kemik iliği gelişir. Sonra epifizde sekonder kemikleşme merkezleri oluşur (Marieb, 2012).

Apozisyonel Kemikleşme

Kemik yüzeyine dağılan osteoblastlar tarafından gerçekleştirilen kemikleşme sürecidir. Tüm kemik büyümeleri mevcut kemik veya diğer bağ dokusu üzerine yeni kemik lamellerinin apozisyonu ile meydana gelir. Osteoblastlar periosteum ve mevcut

kemik matriksi arasında, kemiklerin yüzeyinde yeni kemik matriksini depolar. Böylece kemiğin genişlik veya çapı artar. Kemik uzunluğundaki büyüme epifizyal plakta olur (Miller ve ark., 2012; Marieb, 2012).

2.1.6. Kemik İyileşmesi

Kemik iyileşmesi orijinal iskeletsel yapı ve fonksiyon oluşturmak için karmaşık rejeneratif süreçler içeren bir fizyolojik olaylar dizisidir. Kemik iyileşmesinde inflamatuvar, proliferatif ve maturasyon olmak üzere 3 önemli safha bulunmaktadır (Miloró ve ark., 2004).

İnflamatuvar Safha

Kemik dokuda herhangi bir defekt meydana geldiğinde, kemik içerisinde ve çevre yumuşak dokuda hemoraji meydana gelir. Bu aşamada doku yaralanmasında da ortaya çıkan adenosin difosfat, serotonin, prostoglandin ve tromboksan A2 gibi inflamatuvar elemanlar serbestleştirilir. Bu elemanlar trombosit agregasyonunu sağlarlar ve hemostatik tıkaç meydana gelir. Trombositler hemostatik tıkaç formasyonu boyunca degranülasyona devam ederken, vasküler permeabiliteyi arttıran ve doku yaralanmasına eşlik eden inflamatuvar cevaba katkıda bulunan bileşenleri serbestleştirirler (Miloró ve ark., 2004). Hücresel inflamatuvar cevabın devam ettiği akut iyileşmede esas olarak nötrofiller baskındır. Nötrofillerin bölgeye göç etmesi yaralanmanın 3 veya 4. gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Bu hücreler kemotaktik uyarılar tarafından lokal bölgeye çekilirler ve sonra diyapedez ile damar içinden hücreler arası boşluğa göç ederler. Nötrofillerin esas görevleri fagositoz yapmak, debris ve hasarlı dokuyu ortadan kaldırmaktır. 5. günde makrofajlar baskın hale gelir ve reperatif süreç boyunca ortamda bulunmaya devam ederler. Bu hücreler dolaşımdaki monositlerden farklılaşırlar. Makrofajlar inflamatuvar debris fagositoz yoluyla ve hidrolitik enzimler salarak uzaklaştırılırlar (Miloró ve ark., 2004).

Proliferatif Safha

Bu safhada çevre kemik dokulardan mikrovasküler büyümeler gerçekleşir ve bu olaya neovaskülarizasyon adı verilir. Hücresel farklılaşma, çoğalma ve aktivasyon sonucu sonradan yeniden şekillenecek olacak immatür bir bağ doku matriks üretilir.

Lokal inflamatuvar hücreler olan fibroblastlar, osteoblastlar ve progenitör hücreler çoğalırlar ve yara bölgesinde kollajen dizmeye başlarlar. Kollajen ve zengin kapiller ağ kombinasyonu düşük oksijenli granülasyon dokusunu oluşturur. FGF ve PDGF gibi belirli sitokinlerle kombine olan bu hipoksik alan anjiyogenezin stimülasyonundan sorumludur (Milorio ve ark., 2004).

Mezenkimal hücreler lokal hipoksiye tepki olarak osteoblast, fibroblast ve kondroblastlara farklılaşmaya başlarken; trombositlerden, makrofajlardan ve diğer hücresel elementlerden sitokinler serbestleşir. Bu hücreler kollajen, glikozaminoglikan, glikoprotein ve glikolipid içeren bir ekstrasellüler matriks oluştururlar. Baştaki zemin maddesi ve fibröz doku sonuçta fibrokartilaj kallusa dönüşür. İlk oluşan kemik örgü kemiktir ve iyileşmenin 4-6. haftasına kadar baskın halde gözlenir (Milorio ve ark., 2004).

Maturasyon Safhası

İyi vaskülarize olmuş immatür bağ dokusu oluştuktan sonra osteoblastik hücrelerin çoğalması ve farklılaşması ile osteogenez devam eder. Farklılaşan osteoblastlar kollajen matriksi salgılar ve mineralizasyona katkıda bulunur. Bu zengin hücre ve organize olmamış kemik örgü kemik olarak adlandırılır ve zamanla yük taşıma stimulusuyla uyarılarak lameller kemiğe dönüşür (Milorio ve ark., 2004).

2.2. Kritik Boyutlu Kemik Defekti

Majör kemik kayıplarının tamiri özellikle maksillofasial ve ortopedik cerrahi için hala büyük bir sorundur. Onarım açısından kemik dokusunun büyük potansiyeline rağmen defektin büyüklüğüne göre rejenerasyon tam olarak elde edilemez. Bağ dokusu kemik dokusundan daha hızlı hücre proliferasyon ve migrasyon özelliğine sahip olduğundan defekt çevre bağ dokusu tarafından doldurulabilir (Trotta ve ark., 2013).

Osteoporoz gibi hastalıklar, travmatik yaralanmalar, ortopedik cerrahi ve tümörlerin rezeksiyonu kemik defektlerine sebep olabilir. Bu tip durumlardan sonra kemikte meydana gelen hasarlar kritik kemik defekti haline geldikleri zaman kendi kendilerine tamir olamazlar. Bu durumda defektleri doldurmak için replasman materyalleri gerekir (Mauney ve ark., 2005).

Kritik boyutlu kemik defekti (KBKD) iyileşmesi büyük bir klinik problemdir. KBKD, bir kişi veya hayvanda her hangi bir kemik öncüsü materyal kullanılmadan yaşam boyu kendiliğinden kemik yapımı ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik içi yara olarak tanımlanmaktadır. Bu tip defektler kemik dolumundan çok, fibröz bağ dokusu ile dolma ve iyileşme eğilimi göstermektedirler (Aaboe ve ark., 1995; Develioğlu, 2003).

2.3. Kemik Greftleri

Kemik grefti; canlı kemiğin bir yerden başka bir yere transplantasyonu olarak tanımlanır. Transplantasyon canlı hücrelerin transferini ifade ederken, implantasyon canlı olmayan hücrelerin transferini ifade eder (Cypher ve Grossman, 1996).

Genellikle rekonstrüktif amaçla biyolojik ortama yerleştirilen ve çevre dokularla uyum içinde olacak şekilde hazırlanan gelişmiş materyallere biomateryal denir. Bunlar, çeşitli nedenlerle kaybedilmiş ya da deforme olmuş organ veya dokuların onarımında ve fonksiyonların yerine konmasında kullanılan doğal veya yapay materyallerdir (MacNeill ve ark., 1999; Manjubala ve RK., 2001; Tadjoedin ve ark., 2003; Kökden ve Türker, 1999).

Travma, geniş kemik defektleri, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler; gecikmiş iyileşmeler, iyileşmeme veya yanlış iyileşmeler gibi travma sonrası iskeletsel problemlerin ve diğer kemik kaybına yol açan durumların tedavisi zordur. Rekonstrüksiyon amacıyla yapılan işlemler sırasında gelişen kemik defektlerinin tedavisi için kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler artan sıklıkla kullanılmaktadır. Diğer tüm alternatifleri ile kıyaslandığında otojen kemik grefti hala biyolojik altın standarttır (Finkemeier, 2002; Szpalski ve Gunzburg, 2002; Yashavanta ve ark., 2013).

2.3.1. Kemik Greftlerinin Biyolojisi

Kemik içi defektlerin tedavisi amacıyla kemik greftlerinin kullanıldığı uygulamalar; anatomik, histolojik ve biyokimyasal prensiplere bağlı olarak başarı sağlayabilir. Bunlara ilaveten kullanılan greftlerin; osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon gibi fizyolojik özellikleri de uygulamanın başarısını önemli ölçüde etkilemektedir. Kemik doku mühendisliğinin temeli, kemiğin istenen anatomik bölgesinde kemik iyileşmesi için yanıt oluşturmaktır. Klinik başarı, oluşan kemiğin

yeniden şekillenme sonucu çevre kemik dokusu ile yapısal olarak bütünleşmesi (integration) ve oluşan kemiğin fonksiyon görmek için yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olması ile belirlenir (Şimşek ve ark., 2004).

Kemik greftlerinin biyolojisinin anlaşılabilmesi amacıyla bazı kavramların bilinmesi gereklidir. Bu kavramlar;

Osteointegrasyon; alıcı kemik ile uygulanan greft arasında fibrotik doku gelişimine yol açmayacak şekilde greftin alıcı kemik yüzeyine kimyasal olarak bağlanabilmesidir.

Osteokondüksiyon; alıcı kemik ile greft materyali arasında oluşacak vasküler ve perivasküler yapıların greft materyali içine ilerlemesi için greftin bir çatı görevi görerek yüzeyinde yeni kemik oluşumunu destekleyebilmesidir. Bu tarz greft materyalleri arasında hidroksiapatit, kollajen ve kalsiyum fosfat sayılabilir. Osteokondüktif materyaller biouyumludur ve vücut dokularında herhangi bir toksik reaksiyon göstermezler. Osteoindüktif materyaller gibi yeni kemik gelişimini indüklemeye özellikleri yoktur.

Osteoindüksiyon; uygulanan greft materyalinin mevcut kök hücreleri uyarak bu hücrelerin çevre dokuda osteoblastlara farklılaşabilmelerini sağlama özelliğidir. Bu olay BMP gibi kemik büyüme faktörlerinin greftin içerisinde mevcut olması ya da sonradan eklenmesi ile mümkün olabilir. Daha düşük olmakla birlikte otojen ve allojen kemik greftlerinin de osteoindüktif etkilerinin olduğu bilinmektedir.

Osteogenezis; greftleme işlemi yapıldıktan sonra greft materyali içindeki hücresel bileşenlerin hayatta kalarak, nakil yapılan alanda yeni kemik oluşturabilmesidir. Yani greft materyalinin yeni kemik oluşturabilme potansiyelidir. Yeni kemik dokusunun oluşabilmesi için ortamda kemiği meydana getirebilecek yeterli sayıda osteoprogenitor hücre bulunmalıdır. Başarı şansını devam ettirmek için iyileşme sürecinin erken basamaklarında greft ile konak kemiğinin birleşmesine katkıda bulunacak olan bu hücrelerin canlılığının greftleme süresince korunması gerekmektedir. Osteogenez yalnızca taze otojen kemikte ve kemik iliği hücrelerinde bulunan bir özelliktir (Bauer ve Muschler, 2000; Moore ve ark., 2001; Kalfas, 2001; Bauer ve Togawa, 2003).

Osteojenik özelliğe sahip tek greft materyali otojen kemiktir. Bunun yanında, vasküler desteğe sahip olmayan serbest otojen greftlerin 5 gün içinde osteojenik özelliklerini kayb ettiklerini, bu sürenin sonunda osteoindüktif ve osteokondüktif etkilerini devam ettirdiklerini belirten çalışmalar da mevcuttur. Dolayısıyla serbest otojen kemik greftlerinin de sadece birkaç gün osteojenik özelliğe sahip olduğu söylenebilir (Probst ve Spiegel, 1997).

İdeal kemik greftinin taşınması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir;

- a) Greft materyali toksik olmamalı,
- b) Antijenik olmamalı,
- c) İritan olmamalı,
- d) Karsinojenik olmamalı,
- e) Minimal enflamatuar reaksiyona sebep olmalı,
- f) Biyomekanik olarak dokuların fiziksel özelliklerine uyum gösterebilmeli,
- g) Çevre dokular ile uyumları iyi olmalı,
- h) Bioadeziv olmalı,
- i) Biokorozyona karşı dirençli olmalı,
- j) Kolay uygulanabilmeli ve şekillendirilebilmeli,
- k) Uygulandıkları bölgede osteojenik özellik göstermeli,
- l) Kolay elde edilebilmeli veya üretilebilmeli,
- m) Ucuz olmalı,
- n) Fonksiyonel kuvvetlere karşı koyabilecek güç ve esneklikte olmalı,
- o) Çabuk iyileşmeli,
- p) Enfeksiyona dirençli olmalıdır (Rosenberg ve Rose, 1998; Greenwald ve ark., 2001; Reynolds ve ark., 2003; Bauer ve Togawa, 2003; Kolk ve ark., 2012).

2.3.2. Greft Materyallerinin Doku veya Organ İle İlişkileri

Greftin yerleştirildiği ortamdaki biyolojik uyumluluğunu ve ilgili organa ait kesintiye uğramış fonksiyonları yeniden sağlayabilme özelliğine biouyumluluk denir. Kullanılan materyalin alıcı bölgedeki çevre dokularına uyumlu olması gereklidir (Haug ve ark., 1999; Kökden ve Türker 1999; Güven ve ark., 2000).

Greftin yerleştirildiği ortamda, materyalin fonksiyonu esnasında maruz kaldığı kuvvetlerle değişime uğramamasına biofonksiyonalite denir. Değişime uğraması durumunda materyalin biofonksiyonalite yönünden yetersiz olduğu düşünülebilir (Haug ve ark., 1999; Kökden ve Türker 1999; Güven ve ark., 2000).

2.3.3. Kemik Greftlerinin Sınıflandırılması

Farklı defektlerde, klinik ihtiyaca göre farklı greft materyalleri veya kombinasyonları kullanılmaktadır. Kemik greftleri:

- a) Otojen kemik greftleri,
- b) Allojenik kemik greftleri,
- c) Ksenojenik (Heterojen) kemik greftleri,
- d) Alloplastik kemik greftleri.

Otojen Kemik Greftleri

Kemik greftinin uygulanacağı bölgenin lokalizasyonu, ihtiyaç olunan kemiğin kalite-kantitesi ve oluşabilecek cerrahi komplikasyonlar otojen kemik greftinin alınacağı bölgenin tercihinde değerlendirilmesi gereken faktörlerdir (Bernstein ve ark., 2006). Otojen kemik greftleri alındığı bölgeye göre intraoral ve ekstraoral olmak üzere ikiye ayrılırlar ve en iyi tahmin edilebilir sonuçlar bu greftlerle elde edilir (Tolman, 1995; Palmer ve Palmer, 1999).

İntraoral kemik greftleri ağız içinden elde edilen greftlerdir. Bu greftler; dişsiz bölgelerden, çekim yaralarından, osteoplasti veya osteotomi işlemlerinde elde edilen kemiklerden veya alt çene ucu, alt çene ramus bölgesi, üst çene tüber bölgesinden elde edilir. Bunun yanında kemik çıkıntılar ve egzostozlar da otojen greft için kemik kaynağıdır (Ersu, 2007). Ağız içi bölgelerden alınan greftler hacimsel olarak yetersiz kalabilmektedir. Ekstraoral kemik greftleri ise ağız dışından elde edilen kemik greftleridir ve trabeküler iliak kret, tibia ve kaburgadan sağlanır. İliak bölgeden yeterli miktarda greft elde edilebilir, ancak ikinci cerrahi bölgesiyle ilgili yüksek morbidite söz konusudur. Osteogenezis, yani transplante edilen osteoblastlarla kemik formasyonu sadece otojen kemik greftleri ile sağlanır. Otojen greft kraniyo-fasiyal bölgede altın standart olarak kabul edilse de alınan greft miktarının sınırlı olması ve donör bölgenin morbiditesi gibi

dezavantajlara sahiptir (Younger ve Chapman, 1989; Tolman, 1995; Lundgren ve ark., 1996).

Sahip olduğu avantajlar göz önünde bulundurulduğunda ilk tercih edilecek greft tipi otojen kemik greftidir. Ancak kontrol edilemeyen rezorbsiyon süresi ve her zaman greftin elde edilebilmesi için uygun bölgenin olmaması otojen kemik greftlerinin tek başına kullanımını sınırlamaktadır (Aaboe ve ark., 1995; Haas ve ark., 2002).

Allojenik Kemik Greftleri

Allogreftler, aynı türden fakat genetik olarak alıcıya hiç benzerliği olmayan canlılardan elde edilen dokulardır. Bunlar 24 saatten daha önce ölmüş kadavralardan temin edilip, belirli işlemlerden geçirilir ve farklı ticari doku bankalarında muhafaza edilerek kullanıma sunulurlar (Buck ve ark., 1990).

Allogreftler, jel, kollajen sünger gibi formları da mevcut olmasına karşın genel olarak partikül formunda kullanılırlar. Kortikal veya spongios kemik bölgelerinden elde edilip, demineralize dondurulmuş-kurutulmuş (DDKKA) veya mineralize dondurulmuş-kurutulmuş (MDKKA) kemik allogrefti şeklinde hazırlanırlar. Biyokimyasal ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak; DDKKA greftlerinde bazı büyüme ve farklılaşma faktörlerinin varlığı tespit edilmiştir (Urist ve ark., 1984; Hauschka ve ark., 1986). DDKKA çoğunlukla osteokondüksiyonla çalışır ve içeriğinde bulunan BMP demineralizasyon sırasında ortaya çıkar ve osteogenezise sebep olabilir (Urist ve Strates, 2009). Mineralize blok allogreftler DDKKA'ya bir alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Leonetti ve Koup, 2003; Keith, 2004). Mineralize allogreftler hem osteoindüktif hem de osteokondüktif özelliklere sahiptir. Allogreftlerin osteojenik özellikleri olmamasına rağmen (Kolk ve ark., 2012) mineralize allogreftler alveolar sırt yetersizliği restorasyonlarında kullanıldıkları zaman otojen kemik greftleri ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar ortaya koymuşlardır (Beitlitum ve ark., 2010).

Allogreftler osteoprogenitör ve endotelial hücrelerin greft materyaline tutunmasına imkan veren kimyasal alanları poröz yapıları içinde ihtiva ederler. Doku bankalarında saklanan allogreftler soğutma, dondurma, dondurarak kurutma, kaynatma, otoklavlama, deproteinizasyon, demineralizasyon gibi işlemlere tabi tutulmaktadır.

Günümüzde en yaygın tercih edilen yöntem dondurularak kurutmadır (Costa ve ark., 2012).

Dondurulup kurutularak kan ve hücrel içeriğinin uzaklaştırılmasıyla immün cevap azalırken diğer taraftan osteojenik özellik de kaybolmaktadır (Giannouidis ve ark., 2005). Demineralizasyon işlemi allogreft kemik matriksinde bulunan büyüme faktörlerinin biyoyararlanımını artırır. Aynı zamanda demineralizasyon işlemi ile HIV enfeksiyonu geçişi de engellenmiş olur (Swenson ve Arnoczky, 2003). Günümüzde allogreft kemik elde etme işlemleri sırasında uygulanan bir takım işlemler ile greftin içinde kalan hücre sayısı azaltılarak, immünojenik antijenler ve virüs kaynaklı hastalık geçme riski de azaltılmış olur (Şimşek, 2004). Allojenik greftlerin hazırlanmasında kullanılan yöntemler her ne kadar gelişmiş olsa da bu greftlerin kullanımında hastalık transferi ve antijenite riski söz konusudur. Bu risk çok düşük olsa da allojenik greftlerin en büyük dezavantajıdır.

Ksenojenik (Heterojen) Kemik Greftleri

Bu greft türleri allojen kemik greftlerinin elde edilmesine benzer metodlarla üretilen, farklı türlerin verici olarak kullanıldığı greftlerdir. Bu materyallerin en önemli özelliği, doğal kemik minerallerini taşımaları ancak organik komponentlerinin olmamasıdır. Allogreftlerin hastalık bulaştırma, antijenite, elde edildiği kaynak gibi bazı dezavantajlar içermesi, ksenogreftlerin alternatif bir greft materyali olarak araştırılmasına yol açmıştır. Ksenogreftler çoğunlukla sığır kaynaklıdır ve teorik olarak sığır süngerimsi ensefalopati hastalığı bulaştırma riski taşır. Ancak teorik ve deneysel veriler, bu materyallerin kullanımının sığır süngerimsi ensefalopati hastalığının insanlara bulaşma riski taşımadığını göstermiştir (Kenley ve ark., 1993; Aichelmann-Reidy ve Yukna, 1998; Wenz ve ark., 2001).

Deproteinize edilmiş sığır kaynaklı kemik grefti olan Bio-Oss (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, İsviçre) birçok klinik ve hayvan çalışmalarında değerlendirilmiş ve insan kemiğine çok benzeyen bir yapıya sahip olduğu belirtilmiştir. Bio-Oss kemik ogmentasyonunda otojen kemik greftinden sonra tercih edilen bir greft materyali olmakla beraber rezorbsiyona olan direnci otojen kemikten daha fazladır (Mc Allister ve ark., 1999).

Alloplastik Kemik Greftleri

Sentetik veya kimyasal olarak elde edilmiş kemik bileşenleridir. Hidroksiapatit (HA), mercan ve alg'den türetilmiş HA, kalsiyum fosfat, kalsiyum sülfat, kollajen ve polimerlerden üretilmiştir. Bu sentetik materyaller hiç veya az miktarda osteoindüktif kapasiteye sahiptir ve bu maddelerin mezenkimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını uyardıkları iddia edilmektedir (Kubler ve ark., 2004; Turhani ve ark., 2005). Alloplastik greftlerin avantajları; antijenitenin olmaması, hastalık transferi için bir potansiyelin olmaması ve limitsiz kaynağın olmasıdır. Bu materyallerin rezorbe alan veya olmayan, mikro-makropöröz veya pöröz olmayan yapıları mevcuttur. Kullanım özelliklerini geliştirmek için çeşitli taşıyıcılar veya osteoindüksiyon sağlamak için biyoaktif proteinler ile kombine edilirler (Precheur, 2007). Sentetik hidroksiapatitler; mercan ve alg'den türetilmişlerdir. Yapısal ve mekaniksel olarak kansellöz kemiğe benzer özelliklere sahiptirler. Kemiğin aksine mercanın inorganik komponenti kalsiyum karbonattır ve mercan tipi HA üretmek için fosfor ile yer değiştirebilir. Diğer sentetik materyaller gibi mercan ve alg'den türetilmiş HA osteoindüktif veya osteojenik değildir. Ancak onun yapısı ve kompozisyonu doğal kemiği taklit eder (Precheur, 2007). Gözenek boyutu, ara bağlantısı ve partikül boyutu kemik rejenerasyonu ve büyümesinde etkilidir (Seth ve ark., 2013). Osteoid veya bağ dokusu gelişimi için 100nm gözenek boyutu yeterlidir. HA 100-135 nm arası bir gözenek boyutuna sahiptir (Klawitter ve ark., 1976; Weissenboeck ve ark., 2006).

Biyoaktif camlar ile 30 yıldan daha fazla bir süre önce kemik greft alternatifi olarak tanıtılmıştır (El-Ghannam, 2005). Biyoaktif tanımlaması onların kemiğe bağlanma ve kemik gelişimini arttırma yetenekleriyle ilişkilidir. Bu biyoaktivite kemik ile sıkı bir temasa bağlıdır ve doğada sınırlıdır. Bu materyal, sinüs tabanı ogmentasyonu veya çekim soketlerinde iyileşmeyi arttırmak için uygulandığında; gerek yalnız başına gerekse diğer greft materyalleri ile kombine kullanımında kemik iyileşmesi için etkili olduğu bulunmuştur (Tadjoedin ve ark., 2000; Cordioli ve ark., 2001; Froum ve ark., 2002; Tadjoedin ve ark., 2002; Turunen ve ark., 2004).

Beta trikalsiyum fosfat; genel olarak ağırlıkça % 39 kalsiyum ve % 20 fosfor içerir ve doğal mineral içeriği kemikle benzerlik gösterir. Pöröz bir yapısı vardır ve rezorbe olabilir. Kemikleşme için bir ağ teşkil eder ve greft rezorbe oldukça oluşan yeni

kemik ile yer değiştirir. Rezorbsiyon hızı greftin kimyasal yapısına, pörözitesine ve partikül büyüklüğüne bağlıdır. Osteokondüktif olup yeni kemikleşme için fiziksel bir matriks görevi görür. Trikalsiyumfosfat osteojenik veya osteoindüktif materyallerle birlikte kullanılabilir (Beck ve ark., 1991; Laffargue ve ark., 2000; Szabo ve ark., 2001; Erbe ve ark., 2001). Köpeklerde yapılan bir çalışmada beta-trikalsiyum fosfat'ın kemik oluşumunu sağladığı görülmüştür. Cerrahi operasyondan 12 hafta sonra greft partiküllerinin rezorbe olduğu ve 24 hafta sonra ise yüksek yoğunlukta kemik oluştuğu gözlenmiştir (Suba ve ark., 2004).

Kompozit Kemik Greftleri

Son zamanlarda optimal kemik iyileşmesini sağlamak amacıyla kullanılmaktadırlar. Otojen kemik grefti ve/veya kemik greft alternatiflerinin kombine edilmesi ile elde edilirler. Kompozit kemik grefti kullanılması uygulanacak greft materyali miktarını artırırken, verici sahada oluşun morbiditeyi azaltmakta ve iyileşmeyi hızlandırmaktadır. Ayrıca çeşitli büyüme faktörleriyle kombine edilerek de kullanımları söz konusudur (Kenley ve ark., 1993; Gazdag ve ark., 1995; Siegel ve ark., 2008; Ozdemir ve Kir, 2011).

2.4. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri hücreyel büyüme, çoğalma ve hücreyel farklılaşmada uyarıcı yeteneğe sahip proteinlerdir. Büyüme faktörleri birçok hücre tipini etkileyebilir ve çeşitli dokularda bir dizi hücreyel fonksiyonu indükleyebilir (Trippel ve ark., 1996; Barnes ve ark., 1999). Ayrıca kemik onarımını arttırıcı ajanlar olarak da işlev görürler. Bu büyüme faktörlerinin bazıları şunlardır:

- a) Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β),
- b) Kemik morfogenetik proteini (BMP),
- c) Fibroblast büyüme faktörleri (FGF),
- d) Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF),
- e) İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) (Lieberman ve ark., 2002).

TGF- β ; TGF- β üst familyası olarak adlandırılan proteinlerle ilişkili bir aileye aittir. Bu protein ailesi TGF- β 'nın beş izoformunu (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4,

TGF- β 5) içerir (Linkhart ve ark., 1996; Liu ve ark., 1996). TGF- β ; büyüme, farklılaşma ve ekstrasellüler matriks sentezi dahil geniş bir yelpazede bir çok hücrel olayı etkiler (Lieberman ve ark., 2002). TGF- β bir çok dokuda özellikle zenginleştirilmiş kemik, trombosit ve kırıkta bulunur. Kırıkta oluşan pıhtıdan sonra trombositlerden salındığı varsayılmaktadır (Robey ve ark., 1987).

BMP'ler; TGF üst ailesinin üyeleridir ve şu anda on üç ayrı molekül belirlenmiştir. BMP-2,4 ve 7'nin mezenkimal hücrelerin osteokondroblastik hücrelere farklılaşmasını uyarma yetenekleri ile kemik iyileşmesinde kritik rol oynadığı bilinmektedir (Schmitt ve ark., 1999).

FGF; mezenkimal hücre mitogenezinde ve anjiyogeneziste kritik rol oynadığı bilinen, yapısal olarak polipeptitlerle ilişkili dokuz üyeli bir ailedir (Friesel ve Maciag, 1995; Lind, 1998). Normal yetişkin dokusundaki en bol FGF'ler asidik fibroblast büyüme faktörü (FGF-1 veya a-FGF) ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF). Temel fibroblast büyüme faktörü; epitelyal hücreler, miyositler, osteoblastlar ve kondrositler dahil çeşitli hücrelerin farklılaşmasını ve büyümesini indükler (Lieberman ve ark., 2002).

PDGF; kondrositler ve osteoblastlar dahil bağ dokusu hücreleri üzerinde potansiyel bir etkiye sahiptir. Buna göre PDGF'in yumuşak doku ve kemik onarımında önemli olduğu ileri sürülmüştür (Andrew ve ark., 1995). PDGF kırık iyileşmesinin erken safhaları boyunca trombositler tarafından salınırlar ve hem insan hem de farelerde kırık bölgelerinde tespit edilmişlerdir (Andrew ve ark., 1995; Trippel, 1997). İn vitro çalışmalar PDGF'in osteoblastlar üzerine mitojenik etkisinin olduğunu göstermiştir. Ancak PDGF'in kırık iyileşmesi ve kemik tamirindeki rolü tam olarak belirlenememiştir (Lieberman ve ark., 2002).

Genellikle IGF'ler iskelet fizyolojisi ve patolojisinde anahtar rol oynarlar (Fiedler ve ark., 2006). Osteoblastların lokal iyileşmedeki rolleri daha önce Lind ve ark. (1996) tarafından gösterilmiştir. IGF'ler aynı zamanda olgun osteoblastların çoğalmalarını stimüle eder ve onların değişik fonksiyonlarını düzenler (Fiedler ve ark., 2006). IGF-I ve IGF-II olmak üzere iki tipi tanımlanmıştır. IGF-II kemikte en fazla bulunan büyüme faktörü olmasına rağmen, IGF-I'in daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Ratlarda ve insanlarda IGF-I kırık iyileşmelerinde lokalize edilmiştir. Bu yüzden kırık

iyileşmelerinde büyüme faktörlerinin rollerinin etkinliği çalışmaları IGF-I üzerine yoğunlaşmıştır (Lieberman ve ark., 2002).

2.5. Bariyer Membranlar

YDR (yönlendirilmiş doku rejenerasyonu) ve YKR (yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu) işlemlerinde bariyer membranlar defekt bölgesini iki kompartımana ayırmak için kullanılır (Behring ve ark., 2008). Rezorbe olan ve rezorbe olmayan olarak iki farklı membran kullanılmaktadır. Membranların bir takım özelliklere sahip olması istenir:

- a) Biyouyumluluk: Membran yabancı cisim reaksiyonu oluşturmayacak maddelerden üretilmeli,
- b) Örtücülük: Yumuşak dokuların göçüne engel olacak şekilde yara bölgesini kapatabilmeli,
- c) Kullanım kolaylığı: Klinik uygulaması komplike olmamalı,
- d) Yer tutuculuk: Defekt hacmini koruyabilmeli, dışardan gelebilecek baskılara dirençli olmalı,
- e) İstenilen sürede fonksiyon görmeli,
- f) Gerek üstündeki yumuşak dokuyla, gerekse de kemikle iyi bir kaynaşma sağlamalıdır (Bunyaratavej ve Wang, 2001).

YKR'da önceleri rezorbe olmayan membranlar kullanılmıştır. İlk kullanılan rezorbe olmayan membran teflon esaslı PTFE (politetrafluoretilen) membrandır. Daha sonra teflon geliştirilerek, genişletilmiş ePTFE (*expanded*-politetrafluoretilen) membranlar ortaya çıkmıştır. Titanyum destekli membranların geliştirilmesi ile geniş kemik defektlerinde normal membranların kullanımında görülen membran çökme problemi ortadan kaldırılmıştır (Von Arx ve ark., 1996).

Rezorbe olmayan membranlarda yumuşak doku dehisensi olabilmekte ve membran ekspozu ile gelişen enfeksiyon sonucu elde edilmek istenen kemik kazanç miktarını önemli derecede azaltmaktadır. Ayrıca membranın çıkarılması için ikinci bir cerrahiye ihtiyaç duyulmakta, bu durumda ise rejenere olan kemiğin kaybına neden olabilmektedir. Rezorbe olmayan membranların bu dezavantajlarının üstesinden

gelebilmek için 1980'lerden itibaren rezorbe olabilen membranlar araştırılmaya başlanmıştır (Becker ve ark., 1994; Caffesse ve ark., 1994; Nowzari ve Slots, 1995).

Rezorbe olan membranlar doğal ve sentetik olarak iki gruba ayrılır. Doğal membranlar farklı hayvan kaynaklı Tip I kollajenden elde edilirler. Sentetik membranlar ise alifatik poliestерler, polilaktik ve poliglikolik asit kopolimerlerinden sentezlenirler. Her iki membranın da rezorbsiyon şekli farklıdır. Kollajen membranlar enzimatik olarak rezorbe olurken, sentetik membranlar hidroliz yolu ile rezorbe olurlar (Hutmacher ve ark., 1996).

Rezorbe olan membranlarda da rezorbe olmayan membranlarda olduğu gibi ekspoz ve yumuşak doku dehisensi görülebilir. Ancak membranın ağız ortamında açık kalması ile rezorpsiyonu hızlanmakta ve böylece yeni oluşmuş kemiğin kontaminasyon süresi azaltılmaktadır. Rezorbe olan membranların yumuşak doku uyumunun daha iyi olmasına karşın yer tutuculuğu daha kötüdür (Hurzeler ve ark., 1998; Zhao ve ark., 2000).

Herhangi bir sebeple ortaya çıkan kemik defektlerinin tamiri oral ve maksillofasiyal cerrahlar için halen çözülmeyi bekleyen bir problem olarak güncelliğini korumaktadır. Bu amaçla kullanılan greftlerin başarısı gün geçtikçe artmasına rağmen hali hazırda kullanılmakta olan her bir greftin kendine has avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Dezavantajların içerisinde en belirgin olanı hiç kuşkusuz osteojenik ve osteoindüktif özelliklerinin olmaması yanısıra kolay, düşük maliyetli ve yeterli miktarda elde edilememesidir. Bu dezavantajlar göz önüne alındığında alternatif greft materyali arayışları günümüzde halen devam etmektedir.

Bu çalışmada; otojen serbest periosteal greftin kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkisinin otojen ve allojenik kemik grefti ile kıyaslanarak, histomorfometrik ve stereolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 27.12.2013 tarih ve 2013/69 numara ile onaylandı. Çalışmamızın deneysel kısmı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, histolojik incelemesi ise Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.1. Hayvanlar

Çalışmamızda yaşları ortalama 3 ay olan 32 adet dişi erişkin, ortalama ağırlığı 250-300g wistar cinsi rat kullanıldı. Denekler, bağıl nem oranı %40-60, $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde otomatize edilmiş odada, standart kafeslerde saklandı.

3.2. Deney Grupları

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde; herbir deney hayvanının kalvaryasına kritik boyutu taklit edecek şekilde trephin frez ile 5 mm çapında bir adet kemik defekti oluşturuldu. Bu şekilde 32 ratta oluşturulan 32 defekt, uygulanacak materyale göre aşağıdaki gibi 4 farklı gruba ayrıldı. Kontrol grubunda 1 adet, otojen kemik grefti grubunda 2 adet, allojen greft uygulanan grupta 1 adet ve serbest periosteum grefti grubunda 1 adet olmak üzere toplam 5 adet hayvan operasyon sonrası kaybedildi ve kalan 27 denek ile çalışmaya devam edildi. Buna göre gruplar şöyle oluşturuldu;

Grup 1: Kontrol grubu (Herhangi bir materyal uygulanmayan grup) (n=7)

Grup 2: Otojen kemik grefti uygulanan grup (n=6)

Grup 3: Allogreft (MinerOss) uygulanan grup (n=7)

Grup 4: Serbest periosteum grefti uygulanan grup (n=7)

Açılan tüm defektler kollajen membran ile kapatıldıktan sonra flep primer olarak sütüre edildi.

3.3. MinerOss Kemik Grefti

MinerOss® (Osteotech, Inc. Eatontown, New Jersey), mineralize kortikal ve kansellöz kemik tozu karışımından meydana gelen insan kaynaklı greft materyalidir. Greft partikül boyutu 750-1400 mikron arasındadır (Şekil 2).



Şekil 2. MinerOss® (Osteotech, Inc. Eatontown, New Jersey)

3.4. Cerrahi Teknik

Deneklere 50 mg/kg İ.M. Ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar®, Parke Davis) ve 10 mg/kg Xylazine intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Buna ek olarak; ratlarda kalvaryumda defekt oluşturulacak bölgede deri altına lokal anestetik olarak 1/100.000 adrenalin içeren 1 ml articaine (Ultracaine DS Forte®, Aventis, Türkiye) solüsyonu enjekte edildi. Aseptik hazırlıktan sonra deneklerin kalvaryumunda semilüner insizyon atılarak tam kalınlık flep kaldırıldı. Ratların kalvaryumunda sagittal suturun bir kısmını da içine alacak şekilde trephine frez ile kritik boyutta kemik defektini taklit eden, 5 mm çapında ve durameter tabakasına ulaşılacak derinlikte dikkatli bir şekilde standart kemik defektleri oluşturuldu (Şekil 3).



Şekil 3. Deneklerin kalvaryalarında kritik boyutta kemik defektinin (5 mm) açılması

Grup 1’de (kontrol grubunda) defekt boş bırakılıp, sadece kollajen bariyer ile kapatıldı (Şekil 4). Flep primer olarak sütüre edildi.



Şekil 4. Defektin kollajen membran ile kapatılması

Grup 2’de defek alanına otojen kemik grefti uygulandı. Defekt açılırken elde edilen kemik kütlesi otojen kemik grefti olarak kullanıldı (Şekil 5). Parçalanmış kemik partiküller halinde defekte uygulandı (Şekil 6). Defekt kollajen membran ile kapatıldı ve flep primer olarak suture edildi.

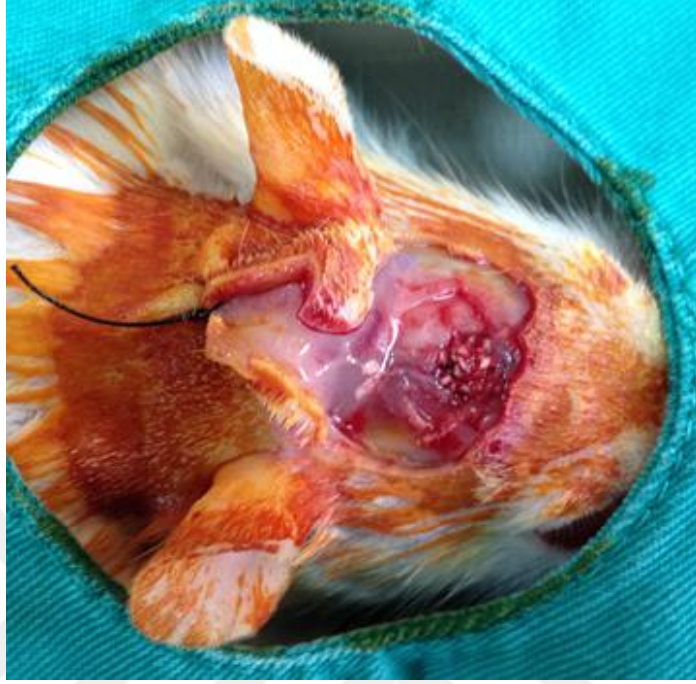


Şekil 5. Otojen kemik greftinin elde edilmesi



Şekil 6. Otojen kemik greftinin uygulanması

Grup 3'te defektlere Mineross greft materyali uygulandı (Şekil 7). Defekt kollajen membran ile kapatıldı ve flep primer olarak suture edildi.



Şekil 7. Defekt bölgesine Mineross kemik greft materyali uygulanması

Grup 4'te kalvaryumda yarım kalınlık insizyon ile periosteum açığa çıkarıldı. 1x0,5 cm boyutlarında periosteuma tam kalınlık insizyon yapıldı. Periosteum, kemik dokudan diseksiyon sırasında kambiyum tabakası dışarı gelecek şekilde bohça haline getirildi ve serbest greft şeklinde alındı (Şekil 8). Daha sonra elde edilen bu periosteum defekt alanına uygulandı (Şekil 9). Defekt kollajen membran ile kapatıldı ve flep primer olarak suture edildi.



Şekil 8. Kalvaryumdan serbest periosteum elde edilmesi



Şekil 9. Serbest periosteumun defekt alanına uygulanması

Operasyonları takiben hayvanlara 5 gün süreyle intramusküler yol ile antibiyotik olarak cefazolin sodium (Sefazol, Eczacıbaşı, Türkiye) (50mg/kg) ve analjezik olarak metamizol sodyum (Novalgin, Aventis, Türkiye) uygulandı.

Çalışma sonrası histolojik ve histomorfometrik değerlendirme için 40. günde denekler sakrifiye edildi. Daha sonra kalvaryumlar çıkarılarak histolojik olarak incelenmesi için formaldehit solüsyonunda muhafaza edildi.

3.5. Histolojik Değerlendirme

Elde edilen örnekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji bölümünde değerlendirildi. Gruplardan elde edilen kalvaryaya örnekleri %10'luk formolde (10 ml % 37'lik formaldehit, 90 ml distile su) 1 hafta süresince fikse edildi. Sonrasında dokular % 10'luk formik asit solüsyonu içerisinde solüsyonu üç günde bir değiştirmek suretiyle oda sıcaklığında 21 gün süreyle kontrol edilerek dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrası distile su ile yıkanan dokular alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından ksilen serileri ile şeffaflaştırma işlemi yapılarak parafine gömülme suretiyle bloklandı (Tablo 1).

Tablo 1. Histolojik doku takibi protokolü

Tespit	% 10 Formol	7 Gün
Dekalsifikasyon	% 10 Formik Asit	21 Gün
Dehidratasyon	% 70 Alkol	1 Saat
Dehidratasyon	% 80 Alkol	1 Gece
Dehidratasyon	% 96 Alkol	1 Saat
Dehidratasyon	% 96 Alkol	1 Saat
Dehidratasyon	% 100 Alkol	1 Saat
Dehidratasyon	% 100 Alkol	1 Saat
Şeffaflandırma	Ksilen	½ Saat
Şeffaflandırma	Ksilen	½ Saat
İnfiltrasyon	Ksilen-Parafin	1 Saat
İnfiltrasyon	Parafin	1 Saat
İnfiltrasyon	Parafin	1 Saat
Gömme	Parafin	

Morfometrik inceleme için parafin doku içerisinde bloklanan dokulardan, 1/30 örnekleme ile 5 µm kalınlığında sagittal seri kesitler alınarak histolojik yapıyı değerlendirmek için cam lamlar üzerine alındı. Elde edilen kesitler bir gece 60°C etüve ve ksilende deparafinize edildikten sonra dehidratasyon işlemi uygulanarak

hematoksilen-eozin ile boyandı (Tablo 2). Boyanması tamamlanan tüm kesitler Entellan® ile kapatılarak 1 gün kurumaya bırakıldı.

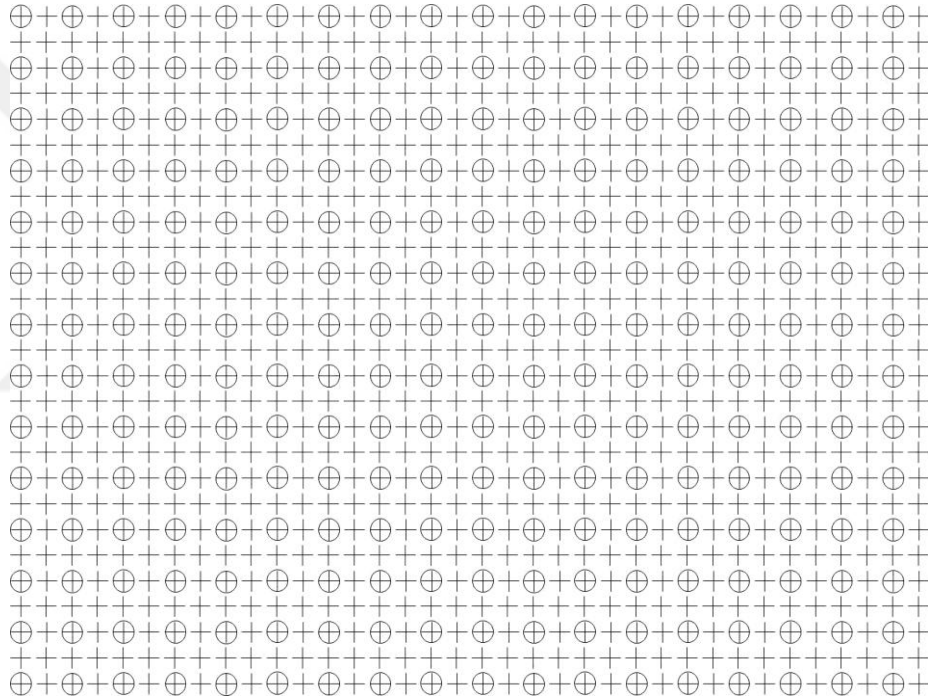
Tablo 2. Kesitlerin boyanması

Deparafinizasyon	60 °C Etüv	1 Gece
Deparafinizasyon	Ksilen	5 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen	5 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen	5 Dakika
Rehidratasyon	% 100 Alkol	5 Dakika
Rehidratasyon	% 96 Alkol	5 Dakika
Rehidratasyon	% 80 Alkol	5 Dakika
Rehidratasyon	% 70 Alkol	5 Dakika
Yıkama	Akarsu	5 Dakika
Boyama	Hematoksilen	10 Dakika
Yıkama	Akarsu	5 Dakika
Diferansiasyon	Asit-Alkol	1 Saniye
Yıkama	Akarsu	5 Dakika
Boyama	Eozin	2 Dakika
Yıkama	Akarsu	5 Dakika
Dehidratasyon	% 80 Alkol	1 Saniye
Dehidratasyon	% 96 Alkol	1 Saniye
Dehidratasyon	% 96 Alkol	1 Saniye
Şeffaflandırma	Ksilen	1 Saat
Kapama	Entellan	

3.6. Histomorfometrik ve stereolojik değerlendirmeler

Uygulama, elde edilen kesitlerdeki defekt alanına ait profil görüntülerinin kamera ilaveli bir mikroskop aracılığı ile bilgisayara aktarılmasıyla gerçekleştirildi (Korkmaz ve ark., 2003). Gruplardaki yeni kemik, bağ dokusu, osteosit ve osteoblast yoğunlukları hacim fraksiyonu (volume fraction) yöntemi kullanılarak karşılaştırıldı (Howard ve Reed, 1998). Karşılaştırmalarda gruplardaki bu parametrelerin defekt alanına

olan oranları kullanıldı. Bu oranların karşılaştırılmasında, bilgisayarda hazırlanan şablondan (lattice) yararlanıldı: sistematik dağılımlı noktalar içeren nokta şablonu, her bir nokta $0,6 \text{ cm}^2$ 'lik alanları temsil etmektedir (Şekil 10). Tüm noktalar hücre yoğunluklarının hesaplanmasında kullanılırken dairesel noktalar yeni kemik ve bağ dokusu yoğunlukları için kullanıldı. Asetat şablon defekt alanına düşürüldükten sonra noktalar sırasıyla 4x ve 20x objektif büyütmesinde sayıldı. Bu şekilde elde edilen değerler ilgili yapıların gerçek değerlerini temsil etmemekle birlikte, birbirleri ile olan oranları gruplar arasında karşılaştırma yapabilecek nispi bir parametre oluşturmaktadır. İlgili nokta sayıları oranlandıktan sonra her gruptaki ortalamaları alındı ve karşılaştırıldı.



Şekil 10: Sayım asetati. Asetat defekt alanına düşürülür. Osteosit ve osteoblastlara rasgelen tüm noktalar sayılırken yeni kemik ve bağ doku için sadece dairesel noktalar sayılmaktadır

4. BULGULAR

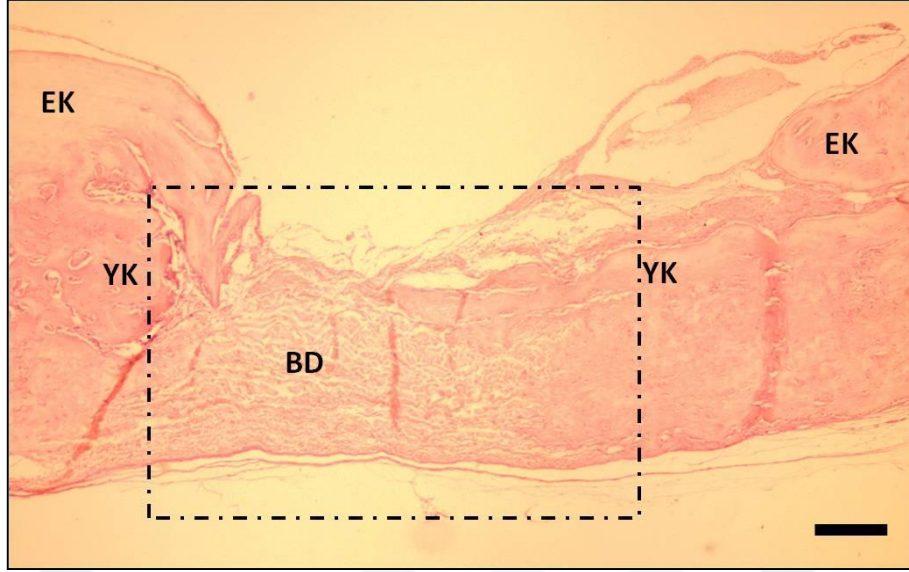
Bu çalışmada kritik boyutlu kemik defektlerinin iyileşmesinde kullanılan 3 farklı kemik greft materyalinin yeni kemik yapımı, osteoblast ve osteosit yoğunluğu üzerine etkisi karşılaştırıldı. Bu amaçla 4 gruba ayrılan toplam 32 deney hayvanının kalvaryasında 5 mm çapında kritik boyutlu kemik defekti oluşturuldu. Toplamda 5 hayvan kaybıyla iyileşme dönemi tamamlandı. İyileşme dönemini takiben deney hayvanlarının sakrifiye edilmesine geçildi. Tüm denekler 40. günde sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrasında histolojik takip prosedürü gerçekleştirildi ve kesitlerin alınmasını müteakip histolojik değerlendirmeler yapıldı.

4.1. Histolojik Bulgular

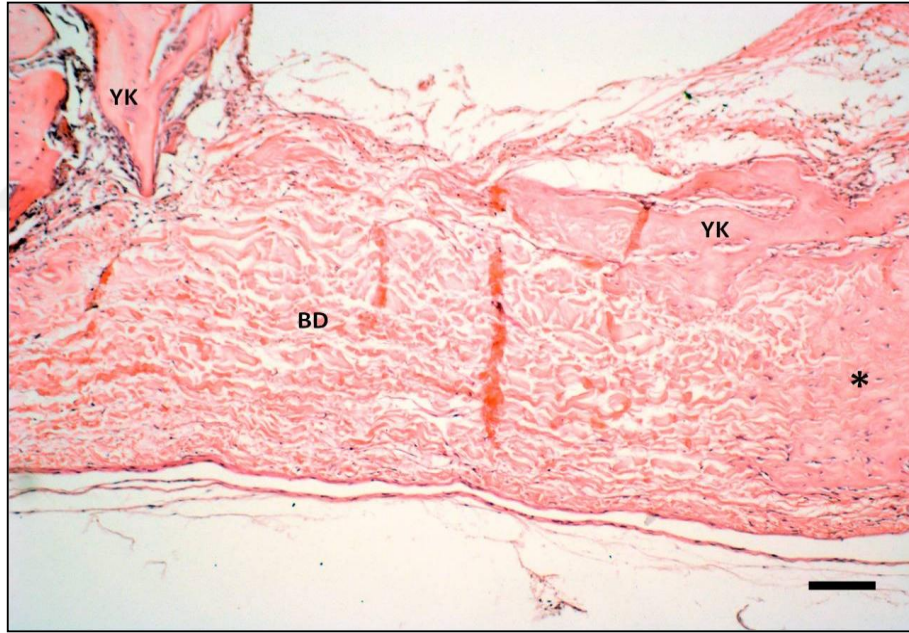
Bütün gruplarda 40. gün sonunda uygulanan greft materyalleri çevresindeki yeni kemik ve bağ dokusu oluşumu x4 ve x20 büyütmelemlerle elde edilen histolojik görüntülerde değerlendirildi.

4.1.1. Kontrol Grubu

Defekt alanında eski kemiğe yakın alanlarda yeni kemik oluşumu görüldü. Defekt merkezinde yoğun bağ doku oluşumu vardı. Kollajen demetlerinin paralel seyirli, organize bir yapı halinde olduğu görülmekteydi. Yeni kemiğin çoğunlukla immatür kemik tarzında olduğu gözlemlendi (Şekil 11 ve 12). Şekil 11'deki çizgili alanın büyütülmüş hali şekil 12'de görülmektedir.



Şekil 11. Grup 1'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x4). Oluşan yeni kemik dokusu YK, eski kemik EK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. Bar: 200 µm.

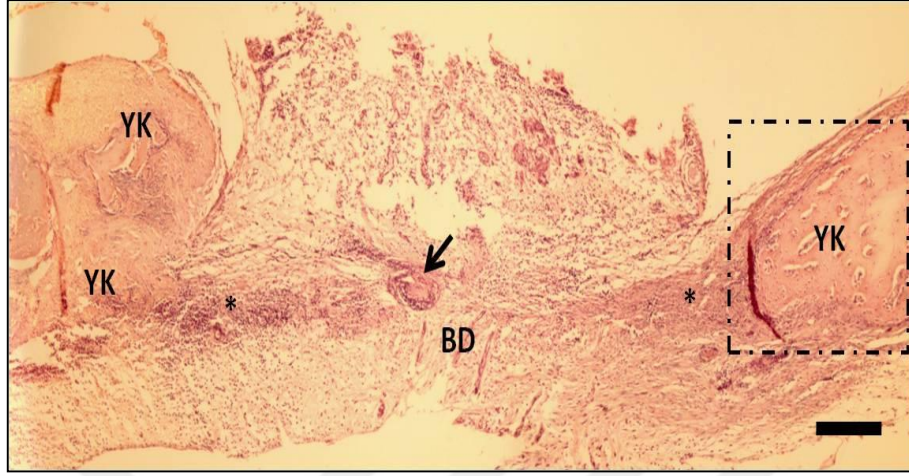


Şekil 12. Grup 1'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x20). Oluşan yenikemik dokusu YK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. *: yeni şekillenmekte olan kemik. Bar: 100 µm.

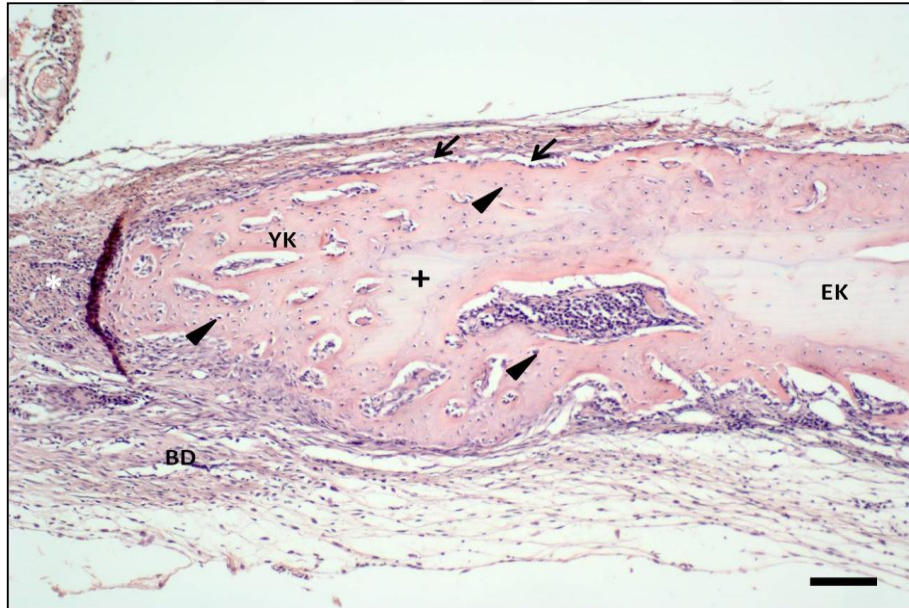
4.1.2. Otojen Kemik Grefti Uygulanan Grup

Çoğunlukla defekt sınırlarına yakın bölgede olmak üzere defekt alanında da yeni kemik oluşumu izlendi. Defekt alanını dolduran bağ dokusunda yer yer lökosit infiltrasyonu vardı (Şekil 13). Yeni şekillenen kemiğin büyük bölümünde immatür

kemiğin yanısıra matür kemik alanlarına da rastlandı (Şekil 14). Şekil 13'deki çizgili alanın büyütülmüş hali şekil 14'te görülmektedir.



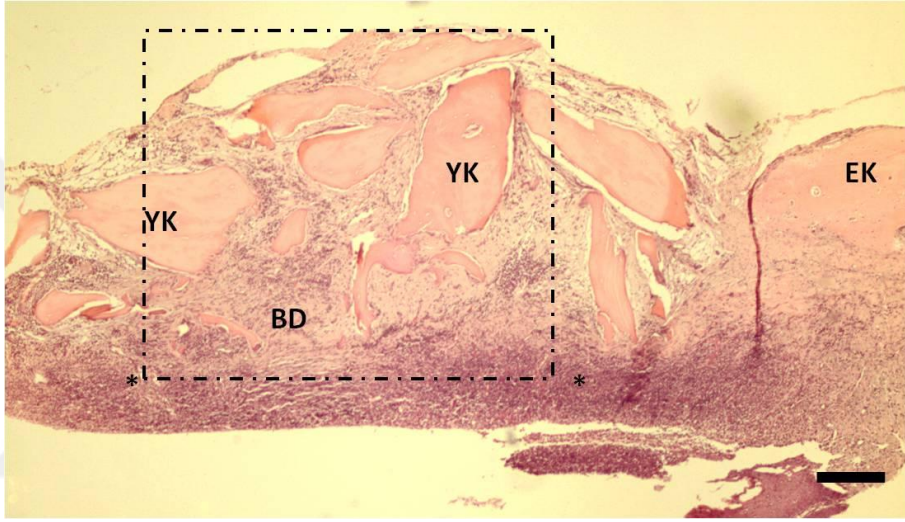
Şekil 13. Grup 2'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x4). Oluşan yeni kemik dokusu YK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. Ok: Defekt alanında şekillenmekte olan kemik alanı, *: Lökosit infiltrasyonu. Bar: 200 μ m.



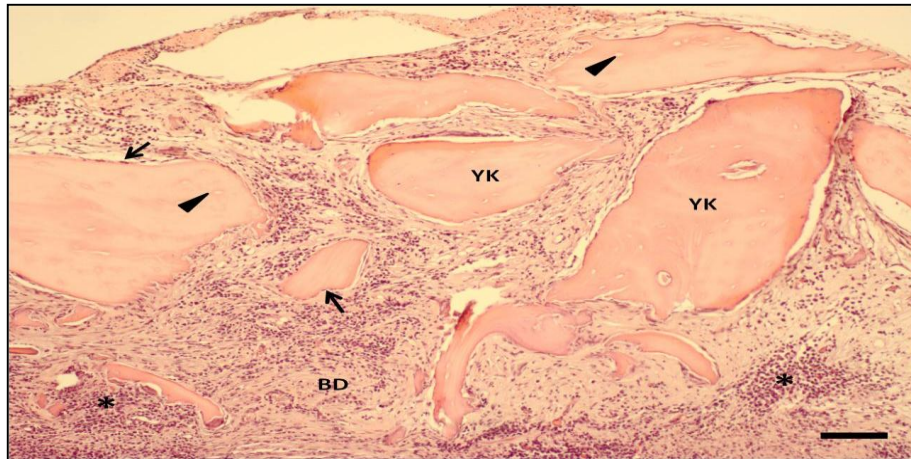
Şekil 14. Grup 2'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x20). Oluşan yeni kemik dokusu YK, eski kemik EK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. Oklar: Osteoblast, ok başları: osteosit, +: yeni kemikte matür kemik alanı, *: Lökosit infiltrasyonu. Bar: 100 μ m.

4.1.3. Allojenik Kemik Grefti (Mineros) Uygulanan Grup

Defekt alanında yeni kemik oluşumları bariz bir şekilde gözlemlendi. Yeni kemik etrafında defekt alanını dolduran bağ dokusunda yer yer yoğun lökosit infiltrasyonu görüldü (Şekil 15 ve 16). Oluşan yeni kemikteki osteoblast ve osteositler bariz şekilde gözlemlendi. Yeni kemik alanlarında yer yer matür kemik oluşumu izlendi (Şekil 16). Şekil 15'deki çizgili alanın büyütülmüş hali Şekil 16'da görülmektedir.



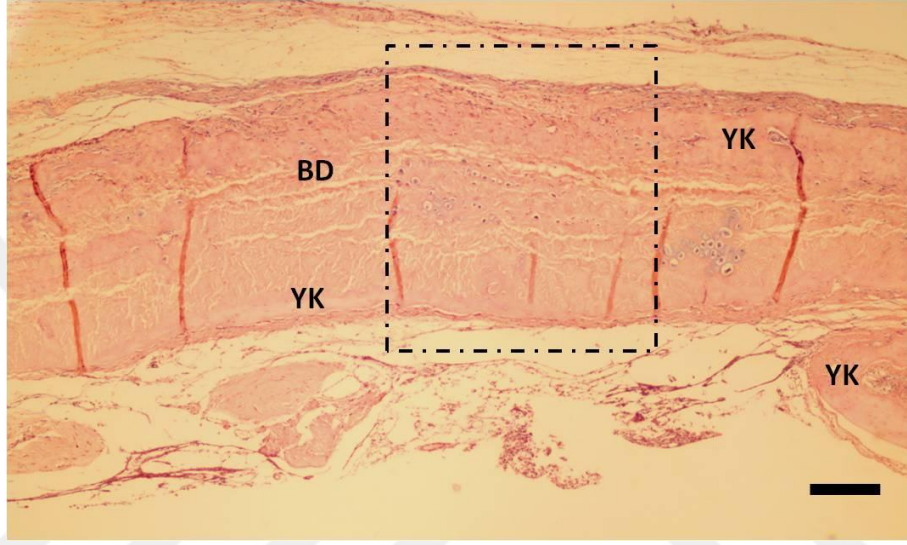
Şekil 15. Grup 3'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (4x). Oluşan yeni kemik dokusu YK, bağ dokusu BD ve eski kemik EK ile gösterilmiştir. *: Lökosit infiltrasyonu. Bar: 200 µm.



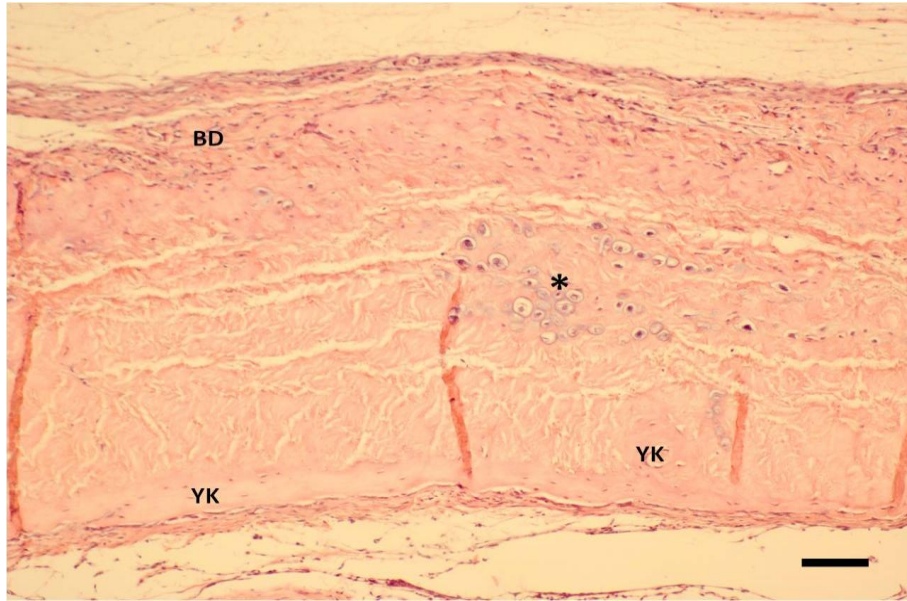
Şekil 16. Grup 3'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x20). Oluşan yeni kemik dokusu YK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. Oklar: Osteoblast, ok başları: osteosit, *: Lökosit infiltrasyonu. Bar: 100 µm.

4.1.4. Serbest Periosteum Grefti Uygulanan Grup

Defekt alanının çoğunlukla sıkı bağ dokusuna benzer alanlarla doldurulduğu gözlenmekle birlikte yer yer yeni kemik alanları da gözlendi (Şekil 17 ve Şekil 18). Yeni kemiğin çoğunlukla immatür olduğu görüldü. Defekt alanında ayrıca kıkırdak doku oluşumuna rastlandı (Şekil 18). Şekil 17'deki çizgili alanın büyütülmüş hali şekil 18'de görülmektedir.



Şekil 17. Grup 4'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x4). Oluşan yeni kemik dokusu YK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. Bar: 200 µm



Şekil 18. Grup 4'de 40 gün sonraki histolojik görüntü (x20). Oluşan yeni kemik dokusu YK ve bağ dokusu BD ile gösterilmiştir. *: kıkırdak alanları. Bar: 100 µm.

Tüm gruplarda stereolojik yöntemlerle elde edilen kesitlerde noktalı asetat aracılığıyla, oluşan yeni kemik ve bağ dokusu alanları hesaplandı. Bu ölçümler sonucu çıkan değerler birbirine oranlanarak ilgili değerlerin yoğunlukları hesaplandı. Elde edilen sonuçlar 0 ile 1 arasında çıkacak şekilde yüzdelik bir dilim ile ifade edildi. Bu değer nispi bir değer olup gruplar arasında karşılaştırma yapmak için yeterlidir. Aynı işlemler ayrıca yeni oluşan kemikteki osteoblast ve osteositler içinde uygulanarak sonuçlar yüzde olarak ifade edildi. Tablo 3 bu ölçümlerin yoğunluk olarak yüzde hesabı üzerinden ifade edilmişlerini özetlemektedir.

Tablo 3. Gruplara ve doku tiplerine göre düzenlenmiş histomorfometrik ölçüm sonuçları.

GRUP	DENEK	ORTALAMA YENİ KEMİK YOĞUNLUĞU (%)	ORTALAMA BAĞ DOKUSU YOĞUNLUĞU (%)	ORTALAMA OSTEOBLAST YOĞUNLUĞU (%)	ORTALAMA OSTEOSİT YOĞUNLUĞU (%)
Grup 1	1	0,38	0,62	0,005	0,008
	2	0,43	0,57	0,006	0,010
	3	0,37	0,63	0,004	0,008
	4	0,39	0,61	0,005	0,009
	5	0,41	0,59	0,006	0,011
	6	0,40	0,60	0,007	0,008
	7	0,40	0,60	0,006	0,009
Grup 2	1	0,58	0,42	0,013	0,022
	2	0,64	0,36	0,010	0,023
	3	0,61	0,39	0,012	0,021
	4	0,65	0,35	0,014	0,016
	5	0,59	0,41	0,009	0,017
	6	0,61	0,39	0,012	0,020
Grup 3	1	0,49	0,51	0,009	0,014
	2	0,51	0,49	0,008	0,014
	3	0,65	0,35	0,009	0,019
	4	0,56	0,44	0,010	0,019
	5	0,61	0,39	0,006	0,019
	6	0,59	0,41	0,012	0,014
	7	0,57	0,43	0,008	0,015
Grup 4	1	0,50	0,50	0,009	0,009
	2	0,54	0,46	0,010	0,014
	3	0,49	0,51	0,006	0,013
	4	0,48	0,52	0,009	0,011
	5	0,55	0,45	0,007	0,010
	6	0,53	0,46	0,008	0,011
	7	0,52	0,48	0,008	0,011

4.2. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel değerlendirmeler SPSS yazılımında (SPSS 17.0 for Windows) yapıldı. Her bir grup için oluşan yeni kemik yoğunluğu, bağ dokusu yoğunluğu, osteoblast hücre yoğunluğu ve osteosit hücre yoğunluğu tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmalar Tukey HSD testi ile yapıldı. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.2.1. Ortalama Yeni Kemik Yoğunluğu

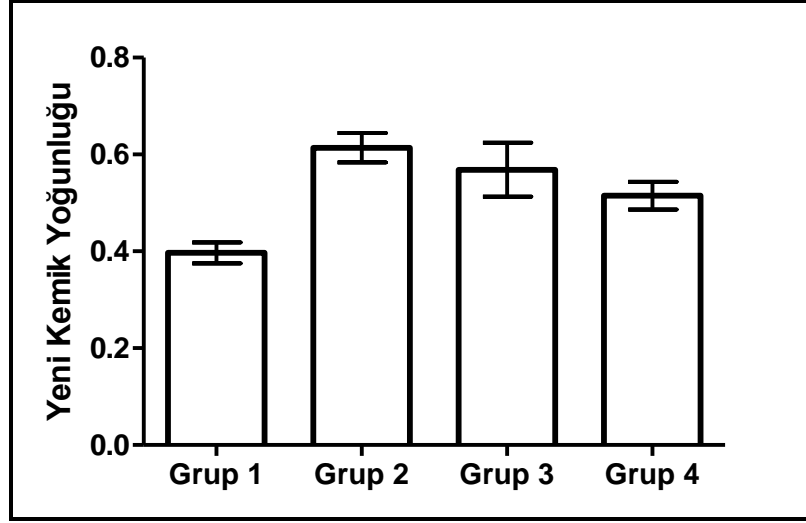
Operasyon sonrası 40. günde oluşan ortalama yeni kemik yoğunluğu herbir grup için değerlendirilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Bütün gruplarda oluşan ortalama yeni kemik yoğunluğu oranları.

Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama Yeni Kemik Yoğunluğu (%) ± Standart Sapma	Minimum Değer (%)	Maksimum Değer (%)
Grup 1	7	0,40±0,02 ^a	0,37	0,43
Grup 2	6	0,61±0,03 ^c	0,58	0,65
Grup 3	7	0,57±0,06 ^{bc}	0,49	0,65
Grup 4	7	0,52±0,03 ^b	0,48	0,55

* $p<0,05$

Tüm gruplar yeni kemik yoğunluğu açısından değerlendirilip karşılaştırıldığında en yüksek değer otojen kemik grefti grubunda; sonra sırasıyla allogreft ve serbest periosteum grubunda elde edilirken, en düşük değer kontrol grubunda elde edildi. Otojen kemik, allogreft ve serbest periosteum grubundaki değerler ile kontrol grubundaki değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Otojen kemik grefti grubu ile serbest periosteum grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), otojen kemik grefti ile allogreft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Allogreft ile serbest periosteum grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil19).



Şekil 19. Yeni kemik yoğunluğu bakımından grupların karşılaştırılması.

4.2.2. Ortalama Bağ Dokusu Yoğunluğu

Operasyon sonrası 40. günde oluşan ortalama bağ dokusu yoğunluğu her bir grup için değerlendirilmiştir (Tablo 5).

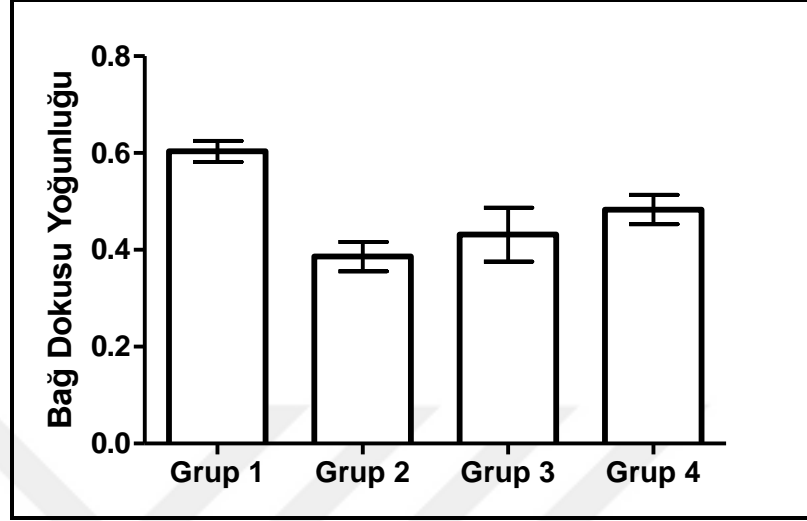
Tablo 5. Bütün gruplarda oluşan ortalama bağ dokusu yoğunluğu oranları.

Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama Bağ Dokusu Yoğunluğu (%)	Minimum Değer (%)	Maksimum Değer (%)
		± Standart Sapma		
Grup 1	7	0,60±0,02 ^c	0,57	0,62
Grup 2	6	0,39±0,03 ^a	0,35	0,42
Grup 3	7	0,43±0,06 ^{ab}	0,35	0,51
Grup 4	7	0,48±0,03 ^b	0,45	0,52

* p<0,05

Tüm gruplar bağ dokusu yoğunluğu açısından değerlendirilip karşılaştırıldığında en yüksek değer kontrol grubunda; sonra sırasıyla serbest periosteum ve allogreft grubunda elde edilirken, en düşük değer otojen kemik grefti grubunda elde edildi. Kontrol grubundaki değerler ile otojen kemik grefti, allogreft ve serbest periosteum grubundaki değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,05). Serbest periosteum grubu ile otojen kemik grefti grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (p<0,05), serbest periosteum ile allogreft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı

bulunmamıştır ($p>0,05$). Otojen kemik grefti ile allogreft grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 20).



Şekil 20. Bağ dokusu yoğunluğu bakımından grupların karşılaştırılması.

4.2.3. Ortalama Osteoblast Yoğunluğu

Operasyon sonrası 40. günde ortalama osteoblast yoğunluğu herbir grup için değerlendirilmiştir (Tablo 6).

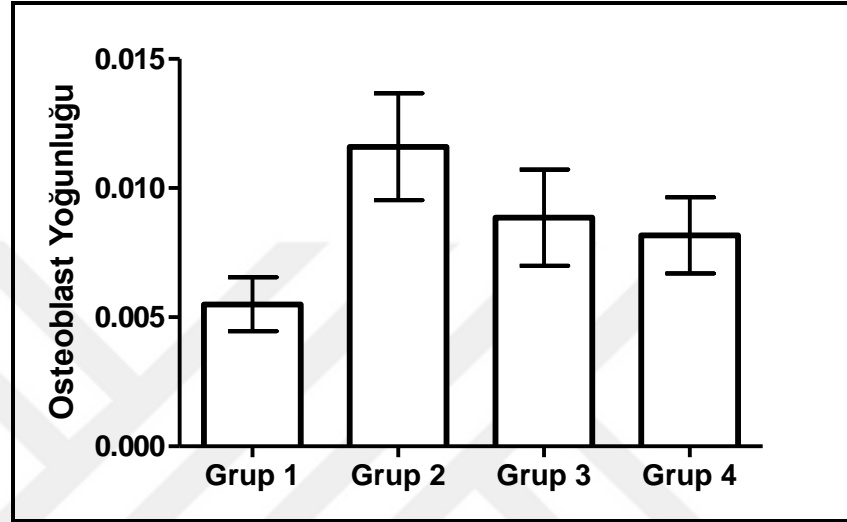
Tablo 6. Bütün gruplarda oluşan ortalama osteoblast yoğunluğu oranları.

Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama Osteoblast Yoğunluğu (%) ± Standart Sapma	Minimum Değer (%)	Maksimum Değer (%)
Grup 1	7	0,006±0,001 ^a	0,005	0,007
Grup 2	6	0,012±0,002 ^c	0,009	0,013
Grup 3	7	0,009±0,002 ^b	0,006	0,012
Grup 4	7	0,008±0,002 ^{ab}	0,006	0,010

* $p<0,05$

Tüm gruplar osteoblast yoğunluğu açısından değerlendirilip karşılaştırıldığında en yüksek değer otojen kemik grefti grubunda; sonra sırasıyla allogreft ve serbest periosteum grubunda elde edilirken, en düşük değer kontrol grubunda elde edildi. Otojen kemik grefti ve allogreft grubundaki değerler ile kontrol grubundaki değerler arasındaki

fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Otojen kemik grefti ile allogreft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Serbest periosteum grubu ile kontrol ve allogreft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), serbest periosteum ile otojen kemik grefti grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 21).



Şekil 21. Osteoblast yoğunluğu bakımından grupların karşılaştırılması.

4.2.4. Ortalama Osteosit Yoğunluğu

Operasyon sonrası 40. günde ortalama osteosit yoğunluğu herbir grup için değerlendirilmiştir (Tablo 7).

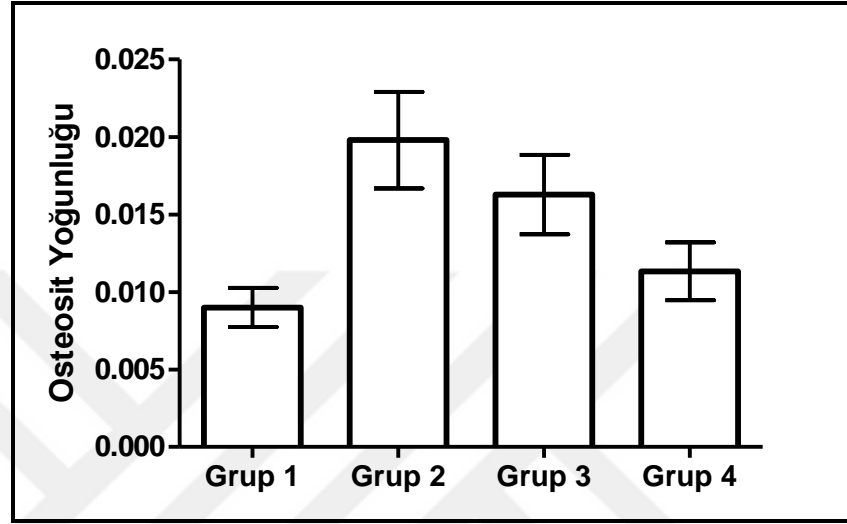
Tablo 7. Bütün gruplarda oluşan ortalama osteosit yoğunluğu oranları.

Gruplar	Örnek Sayısı	Ortalama Osteosit Yoğunluğu (%) ± Standart Sapma	Minimum Değer (%)	Maksimum Değer (%)
Grup 1	7	0,009±0,0001 ^a	0,008	0,011
Grup 2	6	0,020±0,003 ^b	0,016	0,023
Grup 3	7	0,016±0,003 ^b	0,014	0,019
Grup 4	7	0,011±0,002 ^a	0,009	0,014

* $p<0,05$

Tüm gruplar osteosit yoğunluğu açısından değerlendirilip karşılaştırıldığında en yüksek değer otojen kemik grefti grubunda; sonra sırasıyla allogreft ve serbest periosteum grubunda elde edilirken, en düşük değer kontrol grubunda elde edildi. Otojen kemik grefti

ve allogreft grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), her iki grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Serbest periosteum ve kontrol grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Serbest periosteum ile otojen kemik grefti ve allogreft grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 22).



Şekil 22. Osteosit yoğunluğu bakımından grupların karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Çene ve yüz defektleri konjenital, edinsel veya gelişimsel nedenler sonucu ortaya çıkabilir. Edinsel defektler arasında travmalar (ateşli silah yaralanmaları, trafik kazaları), tümöral veya kistik oluşumların cerrahi rezeksiyonu ve geç dönemlerinde nekrotizan özelliği olan enfeksiyöz hastalıklar (osteomyelit, sifiliz) sonucunda oluşan defektler sayılabilir. Dudak-damak yarıkları ve kraniyofasiyal yarıklar konjenital defektler grubuna girerken, sert ve yumuşak doku anomalileri ise gelişimsel defektlere örnek olarak gösterilebilir (Sipahi ve Aydınтуğ, 2011).

Oluşan defekt küçük boyutlu olduğunda kendiliğinden iyileşebildiği ancak belli bir boyutu aşan defektlerin iyileşmesi için ise kemik greft materyallerinin kullanılması gerektiği konusunda ortak bir görüş birliği mevcuttur (Naitoa ve ark., 2014). Bu amaçla kullanılacak olan kemik greftlerinin defekt iyileşmesi üzerine olan etkilerinin değerlendirilebilmesi için hayvan çalışmalarında oluşturulan yaranın kendiliğinden iyileşmeyecek kadar büyük olması gereklidir. Kendiliğinden iyileşme gösteremeyecek kemik defektlerine kritik boyutta kemik defekti adı verilir. Literatürde, ratların kalvaryalarında açılan kritik boyutta kemik defektlerinde yeni kemik oluşumunu değerlendiren birçok çalışma mevcuttur (Marden ve ark., 1993; Buser ve ark., 1998; Winn ve ark., 1999; Mardas ve ark., 2002; Gomez ve ark., 2006). Ancak kalvaryada oluşturulan bu kritik boyutta kemik defektinin boyutu ile ilgi farklı görüşler mevcuttur.

Akita ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada ratların kalvaryasında 4 mm çapında kemik defektleri oluşturmuşlar ve defekt alanlarına insan mezenşimal kök hücre emdirilmiş fosfat salin solusyonu, kemik morfojenik protein ve fibroblast büyüme faktörü uygulamışlardır.

Nagata ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada ratların kalvaryalarında 5 mm çapında kritik boyutta kemik defektleri oluşturmuş; defektlere otojen kemik grefti ve farklı konsantrasyonlarda trombosit zengin plazma uygulamışlardır. Hayvanların tümü 30 gün sonra sakrifiye edilmiş ve defekt bölgelerinde oluşan yeni kemik alanları değerlendirilmiştir.

Dupoirieux ve ark. (1999) ratlarda 6 mm çapında oluşturulan parietal defektlerde membran ve pentosan polisulfat kullanarak yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tekniği ile

çalışmışlar. Sonuçta bir örnek dışında tam bir iyileşme olmadığını bildirmişlerdir. Defektler küçülmüş ancak tam olarak kemikleşerek iyileşmemiştir. Fibröz doku oluşumu gözlenmiştir.

Pryor ve ark. (2006) rat kullanarak yaptıkları bir çalışmada deneklerin kalvaryasında 6 mm çapında, kritik boyutta kalvaryal kemik defektleri açmışlar ve defektlere trombosit zengin plazma uygulamışlardır. Ameliyat sonrası 4. ve 8. haftalarda denekler sakrifiye edilerek yeni kemik oluşumu yönünden değerlendirilmiştir.

Naaman ve Ouhayoun (1998) yaptıkları çalışmada ratlarda oluşturdukları kranial defektlerde boşluklara doğal mercan uygulayıp, defekt alanını poliglaktin 910 mesh ile kaplamışlar. Mesh uygulamasının greft materyalini boşluk içinde tuttuğunu ve kemik oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir. Çalışmacılar ratların kalvaryasında açtıkları kritik boyuttaki kemik defektinin çapını 8 mm olarak belirtmişlerdir.

Messori ve ark. (2008) ise rat kullanarak yaptıkları çalışmada deneklerin kalvaryalarında 8 mm çapında kritik boyutta kemik defektleri oluşturmuşlardır. Oluşturulan defektlere kalsiyum klorid ve tromboplastin solusyonu ile aktive edilen trombosit zengin plazma yerleştirmişlerdir. Hayvanlar ameliyat sonrası 4. ve 12. haftalarda sakrifiye edilerek defekt bölgesindeki yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir.

Çalışma sonuçları arasındaki bu farklılıklar, periosteumun sutureasyonu, ameliyat esnasındaki travma, gözlem süresi, yara bölgesindeki enfeksiyonlar gibi nedenlerden kaynaklanabilir. Ayrıca yaş ve hayvan türünün seçimi de kritik kemik defekti boyutunu etkileyebilir (Develioğlu, 2003).

Sunulan bu çalışmada kritik boyutta kemik defektinin çapı literatürle uyumlu olarak 5 mm olarak belirlenmiş ve bütün denek gruplarında trephine frez ile aynı çapta defekt alanı oluşturulmuştur. Çalışmamız gruplarından birisi olan kontrol grubunda (herhangi bir greft materyali kullanılmayan grup) oluşturmuş olduğumuz 5 mm çapındaki defekte kendiliğinden tam olarak iyileşme gözlenmemesi, defekt boyutunun kritik boyutlu kemik defekti için yeterli büyüklükte olduğunu ortaya koymuştur.

Kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine farklı greft materyallerinin etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda genellikle deney modeli olarak rat (sıçan), tavşan, köpek,

keçi, koyun, domuz gibi çeşitli hayvanların tercih edildiği görülmektedir (Walsh ve ark., 2003; Schlegel ve ark., 2004; Silva ve ark., 2005; Sarkar ve ark., 2006; Mooren ve ark., 2007). Laboratuvar sıçanları kolay ve hızlı üreme yetisine sahip hayvanlar oldukları için deneysel amaçla edinilmeleri de kolay olmaktadır. Sıçanlar küçük ve dayanıklı hayvanlar olduklarından çok sayıda hayvana uygun bakım ve beslenme koşulları daha düşük maliyetle hazırlanabilmektedir. Ayrıca deneysel amaçlı kullanımlarının rahat olması ve cerrahi araştırmaların nispeten basit koşullarda yürütülebilmesi en önemli üstünlüklerini oluşturmaktadır. Bakım kolaylıkları sayesinde temel şartlara sahip herhangi bir laboratuvar da sıçanla çalışmak için uygun ortam kolaylıkla sağlanabilmektedir. Bu nedenlerden ötürü sıçan, çok sayıda hayvan kullanılmasını gerektiren araştırmalarda hem en pratik hem de en ekonomik seçeneği oluşturmaktadır (Bayramiçli, 2005). Biz de kolay temin edilebildiğinden, bakımı kolay ve maliyeti de daha düşük olduğundan çalışmamızda rat kullanmayı tercih ettik.

Kritik boyutlu kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine yapılan hayvan çalışmaları, genellikle hayvanın kalvariumunda, mandibulasında veya tibası üzerinde yoğunlaşmıştır. Anatomik bölgeye göre de defektin boyutu değişkenlik göstermiştir. Çalışmamızda rat kalvariumunda defekt açılmasının nedeni, ratın kalvarial kemiği üzerinde cerrahi işlemin kolay yapılabilmesi ve özellikle kraniumun lateral bölgesinde kanamaya neden olabilecek önemli bir damar veya sinirin bulunmamasından dolayıdır. Ayrıca kalvarial defekt modelinin insan maksillofasial bölgesine birçok açıdan benziyor olmasıdır. Anatomik olarak kalvarium iki kortikal kemik ve arasında spongios kemikten oluşur ve de fizyolojik olarak kalvariumdaki kortikal kemik atrofik bir mandibulaya benzer (Frame, 1980; Schmitz ve Hollinger, 1986; Choi ve ark., 2010). Kalvaryanın dış yüzü periosteum ile kaplanmışken, iç yüzü ise dura mater ile döşenmiştir. Dolayısıyla kalvaryada açılan defektlerin tabanında dura mater bulunmaktadır. Dura mater de periosteum gibi osteoprogenitör hücreler içermekte ve kemikleşmede etkin bir rol oynamaktadır. İmmatür hayvanlarda dura materin yeni kemik oluşturma kapasitesi çok iyi bilinmektedir. Bilinemeyen sebeplerden ötürü olgun hayvanlarda ve 2 yaşından büyük insanlarda bu kapasite azalmaktadır. Birçok çalışmada dura materin kalvaryal defektlerin yeni kemik oluşumunda kritik bir düzenleyici olduğu ifade edilmiştir. Ancak olgun dura materin yeni kemik oluşumundaki rolü net olarak tespit edilememiştir (Greenwald ve ark., 2000). Sunulan bu çalışmada kalvaryumda açılan kritik boyuttaki kemik defektinin

iyileşmesi üzerine dura materin etkisi araştırılmamış, sadece uygulanan greft materyallerinin etkisi incelenmeye çalışılmıştır.

Literatürde rat kalvaryumlarında oluşturulan kritik boyutlu kemik defektlerinde materyal uygulamasından sonra beklenen süreler farklılık göstermektedir. Nyan ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada rat kalvaryasında 8 mm çapında kritik boyutlu kemik defekti oluşturmuşlar. Bir gruba kontrol amaçlı bir şey uygulamazken, defektlerin birine kalsiyum sülfat diğerine ise kalsiyum sülfat-simvastatin kombinasyonunu uygulamışlar; denekleri 2,4 ve 8 hafta sonra sakrifiye etmişlerdir. Soft X-ray radyografi ve dual energy X-ray absobsimetri ile incelendiğinde kalsiyum sülfat-simvastatin kombinasyonu uygulanan grupta 8 hafta sonra belirgin bir şekilde yeni kemik oluşumu gözleendiği rapor edilmiştir.

Kochi ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada ratların kalvaryalarında bilateral 5 mm çapında kritik boyutlu kemik defektleri oluşturmuşlar ve defektlerden birine hidroksiapatitli diğerine ise boş rezin kapak yerleştirmişlerdir. Operasyondan hemen sonra, 4., 8. ve 12. haftalarda mikrofokuslu bilgisayarlı tomografi ile kemik oluşumunu incelenmiş; 4. haftada sadece kemik defekt sınırlarına yakın bölgelerde yeni kemik oluşumu ve 8. haftada defekt sınırları arasında devamlılığını tamamlamış yeni kemik alanları gözleendiğini, 12. haftada ise kemik dokularının daha fazla mineralize olduğunu belirtmişlerdir.

Mariano ve ark. (2010) diabetik rat kalvaryalarında 5 mm çapında kritik boyutta defektler oluşturmuşlar ve hayvanları 2 gruba ayırmışlar. Bir grupta defektler boş bırakılırken, diğer gruba trombositten zengin plazma uygulanmıştır. Operasyondan 30 gün sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş, histolojik ve histometrik olarak yeni kemik oluşumu değerlendirilmiştir. İncelemeler sonucunda kontrol grubunda sadece defekt sınırına yakın bölgelerde ve az miktarda yeni kemik oluşumu gözlenirken, trombositten zengin plazma uygulanan grupta yeni kemik oluşumunun kontrol grubuna göre daha iyi olduğu belirtilmiştir.

Suzawa ve ark., (2009) rat kalvaryasında 4 mm çapında kritik boyutlu kemik defekti oluşturulmuşlardır. Çalışmada kullandıkları farklı materyallerin kemik iyileşmesine olan etkisini 4. ve 8. haftalarda radyolojik ve histopatolojik olarak

değerlendirmişlerdir. Çalışmada bir gruba hidroksiapatit, diğer gruba kalsiyum karbonat ve üçüncü gruba her ikisinin kombinasyonu uygulanmıştır. Diğer bir grup ise kontrol grubu olarak boş bırakılmıştır. Değerlendirme sonucunda kalsiyum karbonat uygulanan gruptaki değerlerin 8. hafta sonunda diğer gruplara göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Yukarıda belirtilen araştırmalar da göz önünde bulundurularak çalışmamızda, deneklerin kalvaryalarına açılan defektlere biyomateryal uygulaması gerçekleştirildikten sonra 40. günde hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

Kraniofasiyal ve maksillofasiyal kritik boyutta kemik deformite ve defektlerin tedavisinde kullanılacak olan ideal bir greft materyalinin osteogenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklere sahip olması; içerisinde kan damarlarının gelişmesi ve osteojenik hücrelerin yerleşmesi için iskelet görevi görmesi ayrıca immün reaksiyona neden olmaması arzu edilir (Pripatnanont ve ark., 2009).

Oluşan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu amacı ile günümüze kadar birçok greft materyali kullanılmakla birlikte, otojen kemik greftleri yüksek derecede osteojenik osteoindüktif ve osteokondüktif özellikte olmaları, büyüme faktörlerinden zengin hücre içermeleri, minimal antikor oluşturmaları ve enfeksiyon risklerinin düşük olmaları, karsinogenezis potansiyeli olmayışı, kısa sürede mükemmel damarlanma ve primer kallus oluşumu sağlaması gibi bazı özellikleri sebebi ile altın standart olarak kabul edilmektedir (Bernard, 1991; Babbush, 2001; Jensen ve ark.,2006).

Mokbel ve ark. (2008) ratlarda yaptıkları çalışmada hayvanların kalvaryumlarında oluşturdukları kemik defektlerine otojen, allojenik ve ksenojenik greft materyalleri uygulayıp, bu kemik grefti materyallerini yeni kemik oluşumu açısından otojen kemik grefti ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Denekler cerrahi işlemden 2 ay sonra sakrifiye edilip, yeni kemik oluşumu histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda otojen kemik grefti kullanılan grupta kemik iyileşmesi en iyi düzeyde bulunmuştur.

Athanasiou ve ark. (2010) tavşanlarda yaptıkları çalışmada hayvanların femurlarında oluşturdukları defektlere otogreft, allogreft, ksenogreft, kalsiyum fosfat HA

ve kalsiyum sülfat uygulayıp, kemik iyileşmesini değerlendirmişlerdir. Yapılan histolojik değerlendirmede en iyi kemik iyileşmesi otojen kemik greftinde bulunmuştur.

Hieu ve ark. (2010) yaptıkları maksiller sinüs yükseltmesi prosedüründe otojen kemik grefti ile sığırdan elde edilmiş çeşitli kemik greftlerini karşılaştırmışlar ve kemik oluşumunda otojen kemik greftlerinin etkinliğini üstün bulmuşlardır.

Bahsedilen birçok olumlu özellikleri olmasına rağmen otojen kemik grefti bazı önemli dezavantajlara da sahiptir. İntraoral alanlardan elde edildiğinde sınırlı hacimde elde edilmesinin yanında donör alan morbiditesine ve cerrahi süresinin uzamasına neden olmaktadır (Block ve Kent, 1997). Ekstraoral alanlardan elde edildiğinde ise hacimsel olarak yeterli miktarda kemik elde edilmesine rağmen ikinci bir cerrahi saha meydana getirmesi, enfeksiyon ve sinir hasarı oluşturma riski gibi dezavantajlara sebep olmaktadır (Nevins ve ark., 1996).

Bu dezavantajlar göz önüne alındığında elde edilen kemik miktarını artırmak ve greftleme sürecindeki morbiditeyi azaltmak için otojen kemik greftlerine alternatif materyaller araştırılmıştır. Allojenik, ksenojenik ve alloplastik kemik greftleri bu amaçla geliştirilen alternatif greft materyalleri arasındadır. Bu kemik greftlerinin kullanımı ile elde edilen klinik sonuçların öngörülebilir olması aynı zamanda hacimsel olarak rezorpsiyonlarının olmaması, tek bir cerrahi alanın olması ve postoperatif morbiditenin az olması doku tamirinde alternatif olarak göz önüne alınmalarına yol açmıştır (Nevins ve ark., 1996; Daelemans ve ark., 1997; Block ve Degen, 2004).

Allogreft kemik materyalleri, iskeletsel defektlerin rekonstrüksiyonu amacıyla en çok kullanılan materyallerden biridir (Delloye ve ark., 2007; Vastel ve ark., 2007; Vincent, 2012). Kadavra veya canlı donörden elde edilebilirler. Bu greftler osteokondüktif olmalarının yanı sıra osteindüktif potansiyele de sahip olabilirler. Fakat canlı hücrelerin yokluğundan dolayı osteojenik özellikleri yoktur (Habibovic ve de Groot, 2007).

Athanasiou ve ark. (2010) tavşanlarda yaptıkları çalışmada otogreft, allogreft, ksenogreft ve sentetik greftleri kemik defektlerindeki yeni kemik oluşturma potansiyellerini histolojik olarak karşılaştırmışlar; sığır kaynaklı allogreftin otojen kemik greftinden sonra ikinci en başarılı greft olduğunu, diğer greftlerin ise benzer etkinliğe

sahip olduğunu bildirmişlerdir. Mokbel ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada allojenik kemik grefti uygulanan grupta kemik iyileşmesinin otojen kemik greftinden sonra ikinci sırada geldiğini bildirmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ratların kalvaryalarından elde edilen otojen kemik grefti ve allojenik kemik grefti kritik boyutlu kemik defekti onarımında kullanıldı. Allojenik kemik grefti otojen kemik grefti ile karşılaştırıldığında 40. gün sonunda yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Bu sonuç her iki greft materyalinin yeni kemik oluşumu açısından eş değer etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Kemik; skar bırakmaksızın benzersiz iyileşme ve yeniden şekillenme kapasitesine sahip oldukça damarlı, dinamik bir dokudur (Kneser ve ark., 2006). Kemik iyileşmesi birçok karmaşık basamak içeren fizyolojik bir süreçtir. Bu fizyolojik süreç yeni kemik oluşumunun kontrolünü sağlarken bir yandan da hastalık veya yaralanma sırasında kemik yıkımına sebep olur. Osteoblast ve osteoklastlar bu mekanizmadan sorumlu iki esas hücre olarak fonksiyon yaparlar. Kemik greftlemede başarılı olunabilmesi için bu hücreler arasındaki ilişkinin dengede olması gerekir. Eğer bu dengede bozukluk meydana gelirse iyileşme sürecinde gecikme veya tamamlanamama durumu ortaya çıkar (Little ve ark., 2007).

Kemiğin dış kısmı periosteum ile sarılıdır. Periosteumun en iç tabakası (kemiğe en yakın kısmı) sürekli kemik yapımı (Allen ve Burr, 2005) ve tamiri yapan progenitör hücrelerden oluşur (Ozaki ve ark., 2000; Colnot, 2009). Periosteum osteoblast öncülerini ve dış korteksinde yeni kemik matriksi depolayan osteoblastlar içerir (Colnot ve ark., 2012). Kemik gelişiminde ve kırık iyileşmesinde periosteum önemli bir rol oynar. Normal kemik büyümesinde periosteumdan kaynaklanan hücreler direkt olarak osteoblastlara farklılaşır. Kırık iyileşmesinde ise periosteumdan kaynaklanan hücreler endokondral ve intramembranöz kemikleşmeye katılmak üzere kondrosit ve osteoblastlara farklılaşırlar (Hanada ve ark., 2001).

Periosteum; travma, tümör ve lenfosit mitojenlerin etkisiyle çoğalabilmek için uyarılabilme kabiliyetine sahip osteoprogenitör hücreler ihtiva eden bir kemik örtüsü olarak tanımlanabilir (Tran Van ve ark., 1982). Yapılan birçok çalışmada periosteumun progenitör hücreleri sayesinde kırıkta ve kemik rejenerasyonunu sağladığı gösterilmiştir (Hutmacher ve Sitter, 2003; Stevens ve ark., 2004). Periosteum; hem

doğal bir yapı iskelesi görevi görebilen hem de hücrelerin ve biyoaktif faktörlerin kaynağı olabilen, ihmal edilebilir bir donör saha morbiditesine sahip transplante edilebilir bir öğedir. Geniş yüzeyli kemiklerin yüzeyinden vaskülarize periosteal flebin kaldırılması ile ototransplantasyon için gelişmiş iyileşme potansiyeline sahip, kullanışlı bir canlı yapı iskelesi elde edilebilir (Malizos ve Papatheodorou, 2005).

Tavşanlarda yapılan bir çalışmada; bir grupta serbest kalvarial periosteumla sarılı hidroksiapatit çubukları, diğer grupta ise sadece hidroksiapatit çubukları hayvanların sırtına intramusküler olarak yerleştirilmiş ve ektopik alandaki osteojeniteleri araştırılmıştır. 3 ve 6 ay sonra çıkarılan çubuklar histolojik ve mikroradyografik olarak değerlendirilmiştir. Periosteumla sarılı çubuğun kullanıldığı grupta ektopik kemik oluşumunun sağlandığı, diğer grupta ise kemikleşmenin oluşmadığı gözlenmiştir (Kurashina ve ark., 1995).

Reynders ve ark., (1999) serbest periosteum greftinin, aşırı periosteal kayıp oluşan kırıklarda iyileşmeye olan etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla tavşan tibialarında transvers kırık oluşturmuşlar ve kırığın hem proksimal hem de distal taraflarından osteotomi hattının etrafından 1 cm kadar periosteum eksize etmişler. Bölgenin revaskülarizasyonu önlemek için kırık hattının anteromedial kısmı hariç üstü kısmını silikon bir tabakayla çevirmişler. Anteromedialde bırakılan kısım kontrol grubunda boş bırakılmış, deney grubunda ise karşı ekstremiteden alınan serbest periosteal greft ile kaplanmıştır. Sonuç olarak periosteal greft kullanılan grupta kontrol grubuna göre daha fazla periosteal kallus oluştuğunu görmüşlerdir. Bu çalışmada periosteum dokusunun devaskülarize haldeyken bile kırık iyileşmesini olumlu yönde etkileyebileceği gösterilmiştir.

Ueno ve ark., (2001) kemik oluşumundan önce meydana gelen kondrogenezisi değerlendirmek için tavşanlarda bir çalışma yapmışlardır. Bu amaçla tavşan tibiasından elde ettikleri periosteumu silindirik haline getirip, mandibula periosteumuna temas etmeksizin suprahoid kas içine transfer etmişlerdir. Denekleri radyografik olarak muayene etmişler ve 1, 7, 9, 14, 21, 35. günlerde greftleri çıkarıp histolojik olarak incelemişlerdir. 14, 21 ve 35. günlerde yapılan radyografik incelemelerde greft olarak yerleştirilen periosteumun giderek artan ve kalınlaşan kalsifiye bir kemik dokusuna

dönüştüğünü hatta 35. günde çift taraflı olarak mandibulaya kaynaştığını tespit etmişlerdir.

Dailiana ve ark., (2002) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada heterotropik şartlarda vaskülarize periosteal flebin osteojenik potansiyelini otojen ve ksenojenik kemik grefti ile kombine edilmiş vaskülarize periosteal flep ile karşılaştırmışlardır. Tavşanların arka ayaklarından elde edilen vaskülarize periosteal flebi silindirik kese hale getirip kas içine gömmüşlerdir. Keselerin bir tanesi otojen kemik grefti ile bir tanesi ksenojenik kemik grefti ile doldurulmuş, diğeri ise boş bırakılmıştır. Örnekler 1 ila 4 hafta arasında alınmış; radyografik, histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmiştir. Sonuçta vaskülarize periosteal flebin heterotropik şartlarda güçlü bir osteojenik kapasiteye sahip olduğunu bulmuşlardır.

Ratlarda yapılan bir çalışmada periosteumun cerrahi stimülasyonunun periosteal hücrelerin osteojenik kapasitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 54 rat kullanılmış ve dört grup oluşturulmuştur. Birinci grupta rat tibiasından elde edilen serbest periosteum hemen kalvaryal defekte uygulanmış, ikinci grupta periosteum serbestleştirilip yerine adapte edilmiş ve 7 gün sonra çıkarılıp defekte uygulanmış, üçüncü grupta subkutanöz insizyon ile periosteum açığa çıkarılmış ancak periosteum serbestleştirilmeksizin yara kapatılmış ve 7 gün sonra tekrar yara açılıp periosteum çıkartılarak defekte uygulanmış, dördüncü grupta ise defekte hiçbir materyal uygulanmayıp kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Kemik oluşumu greftleme işlemi sonrası 7, 14 ve 21 gün sonra histolojik, immünohistokimyasal ve radyografik olarak değerlendirilmiştir. Sonuçta cerrahi stimülasyonun periosteumun osteojenik potansiyelini arttırdığı ve kontrol grubu hariç diğer defektlerde enkonral kemikleşme gerçekleştiği gözlenmiştir (Kanou ve ark., 2005).

Ueno ve ark., (2007) periosteumun kemik tamirinde etkinliğini tespit etmek için in-vitro olarak elde ettikleri periosteum kaynaklı hücreleri rat kalvaryal defekt modelinde uygulamışlar. Ratın tibiasından elde ettikleri periosteumu kambiyum tabakası dışı gelecek şekilde kültür ortamına ekmişler ve hücreleri izole etmişlerdir. Daha sonra elde edilen bu hücre kültürünü kollagen bir skaffold ile kombine etmişler ve oluşan materyali kalvaryada oluşturdukları 4 mm çapında defekt içine yerleştirmişlerdir. Greftleme işleminden 30 ve 60 gün sonra dokuları çıkartarak, histolojik ve radyolojik olarak kontrol

grubuyla kıyaslamışlardır. Skaffold olmaksızın periosteal hücrelerin yerleştirildiği grupta 60 gün sonunda defekt merkezinde yeni kemik oluşmadığını, sadece eski kemiğin periferinde kemik formasyonunun oluştuğunu görmüşlerdir. Yeni kemik oluşumunun periosteal hücre-kollajen kompleksinde diğer gruplara nazaran daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ueno ve ark., (2008) yaptıkları başka bir çalışmada periosteum ve kemik iliğinin heterotropik kemik oluşturma potansiyelini histolojik olarak karşılaştırmışlar. Bu amaçla rat tibiasından elde ettikleri periosteum ve kemik iliği greftini beta-trikalsiyum fosfatla kombine ederek rat kalvaryal defekt modelinde uygulamışlar ve her iki grubu da kontrol grubuyla karşılaştırmışlar. Greftleme işleminden 10 gün sonra her iki greftin de uygulandığı defektlerde aktif hücre çoğalmasını gözlemlemişlerdir. 20 gün sonra kemik iliği uygulanan defektlerde kansellöz kemik oluşumunu, periosteal greft uygulanan defektlerde intramembranöz kemik oluşumunu gözlemlemişlerdir. 30 gün sonra kemik iliği greftinin kemik iliği benzeri kemik yapısı geliştirdiğini, periosteal greftin ise kortikal kemik yapısı ürettiğini bulmuşlardır.

Kaya ve ark., (2010) yaptıkları bir çalışmada tavşan radius kemiğinden alınan otolog segmenter kemik greftinin otoklavda bekletilerek intramedüller tespitle alındığı yere tekrar yerleştirilmesi ve periosteum dokusu ile bütünleşmesinin iyileşmeye etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla tavşanların sol radiusunun orta bölümünden 15 mm uzunluğunda kemik parça çıkarmışlar. Çıkarılan kemik parçalarını 120 °C'de 15 dakika otoklavize etmişler ve aynı yere yerleştirmişler. Tavşanları iki eşit gruba ayırmışlar ve birinci grupta greft-alıcı kemik birleşim bölgesini periosteum flebiyle örterken, diğer grupta greft-alıcı kemik bölgesine periosteum uygulamamışlar. Operasyon sonrası 2, 4, 6 ve 8. haftalarda denekleri radyolojik olarak değerlendirmişlerdir. 8. haftada birinci grupta ikinci gruba göre daha fazla kallus dokusuyla, daha erken ve daha fazla iyileşme elde edildiğini göstermişlerdir.

Köpeklerde yapılan bir çalışmada Bigham-Sadegh ve ark., (2013) serbest periosteal greft ve saplı omentum ile kemik doku mühendisliğini değerlendirmiş ve bunu subkutikular periosteal greftleme ile karşılaştırmışlardır. Bu amaçla deneklerin radiuslarından 1 cm² periosteum parçası alıp bir grupta köpeklerin abdomeninde açığa çıkarılan omentumun son kısmına sarmışlar, diğer grupta ise subkutanöz tabakaya suture

etmişlerdir. Operasyondan 2, 4, 6 ve 8 hafta sonra abdominal boşluktan radyograflar almışlar; 8 hafta sonra da denekleri sakrifiye ederek histopatolojik olarak incelemişlerdir. Sonuç olarak periosteum ile sarılmış omentumda daha fazla olmak üzere, hem omentum hem de subkutanöz bölgelerde uygulanan periosteum greftinin kemik oluşumunu sağladığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak serbest otojen periosteum greftinin tek başına yeni kemik oluşumundaki etkinliği araştırılmış ve kritik boyutlu kemik defekti onarımında başarılı olduğu sonucuna varılmıştır. Yeni kemik oluşumu açısından otojen kemik ve allojenik greft materyali arasında fark bulunmazken, otojen kemik greftine göre daha başarısız bulunmuştur. Greft olarak kullanılan serbest periosteum ve kemiğin her ikisi de otojen olmasına rağmen kemiğin daha üstün olduğu görüldü.

Çalışmamızda yeni kemik oluşumunun başka bir göstergesi olan osteoblastik aktivite de değerlendirilmiştir. Oluşan yeni kemik alanlarının etrafında görülen osteoblast hücreleri değerlendirildiğinde otojen kemik greftinin diğer greft materyallerinden daha üstün olduğu görüldü. Osteoblastik aktivite açısından serbest otojen periosteum grefti ile allojenik greft arasında fark görülmedi.

Osteositler olgunlaşmış osteoblast hücreleridir. Osteoblastların lakün içinde hapsolması ile meydana gelirler. Bu hücrelerin varlığı dinamik bir kemik yapısının olduğunu, kemikte sürekli yapım ve yıkımın gerçekleştiğini gösterir. Osteositlerin yoğunluğu değerlendirildiğinde otojen kemik grefti ile allojenik greft arasında bir fark bulunmazken her iki greft serbest otojen periosteum greftinden daha üstün bulunmuştur.

Literatürde bulunan kemik defekti iyileşmesi modelleriyle ilgili araştırmaların sayısı göz önünde bulundurulduğunda, bizim çalışmamızda olduğu gibi serbest periosteal greftin benzer modellerde kullanıldığı araştırma sayısı çok fazla değildir. Ayrıca bizim yaptığımız literatür araştırmasında serbest otojen periosteumun otojen kemik grefti ve/veya başka bir kemik grefti ile kombine edilmeden karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sayede serbest otojen periosteumun yeni kemik, osteoblast ve osteosit oluşturma potansiyeli direkt olarak incelenebilmiştir.

Karaoglu ve ark. (2002) tavşan ulnasında segmental kemik defekti oluşturmuşlar ve hayvanları 3 gruba ayırmışlardır. 1. grupta kemik defektine taze kansellöz otogreft, 2.

grupta DDKKA ve 3. grupta ise defekte otojen serbest periost ile sarılı DDKKA uygulamışlar. Denekleri kemik oluşumu, iyileşme ve remodeling açısından 1. günde ve 3, 6, 9 ve 12. haftalarda radyolojik olarak; operasyondan 12 hafta sonra ise hayvanları sakrifiye ederek histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. 1. ve 3. grupların sonuçlarını birbirine yakın ve 2. gruba göre daha üstün bulmuşlardır.

Tavşanlarda yapılan bir çalışmada Gemalmaz ve ark., (2013) otojen periosteum parçalarının sentetik kemik greft alternatifleriyle birlikte kullanımının, kaviter kemik defektlerinin iyileşmesindeki histolojik davranışını incelemişlerdir. Bu amaçla tavşan femurlarında 5 mm çapında defekt oluşturmuşlar ve denekleri 3 gruba ayırmışlardır. Bir gruba sadece seramik greft uygulanırken diğer bir gruba seramik kemik grefti ve tavşanların tibiasından elde edilen periosteum parçalarının kombinasyonunu uygulamışlar; her iki grubu kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Hayvanlar 6. hafta sonunda sakrifiye edildikten sonra sonuçları oluşan yeni kemik ve bağ dokusu açısından değerlendirmişlerdir. Seramik greft ve periosteum kombinasyonu olan grupta yeni kemik oluşumu açısından diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu bulmuşlardır.

Zhang ve ark., (2014) kemik defektlerinin tedavisinde serbest periosteum ve allogreft kombinasyonunun etkisini araştırmak için tavşan tibiasında kortikal defekt oluşturup, denekleri 3 gruba ayırmışlardır. 1. grupta defekt boş bırakılırken, 2. gruba otojen kemik grefti, 3. gruba ise periosteum ve allogreft kombinasyonu uygulamışlardır. Sonuçları operasyon sonrası 2, 4, 8 ve 12. haftalarda radyografik, histolojik ve moleküler olarak değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak kemik defektlerinin tedavisinde serbest periosteum ve allogreft kombinasyonunun etkisini otojen kemik grefti ile eşdeğer bulmuşlardır.

Bu çalışmanın sonucunda serbest periosteal greftin kritik boyutlu kemik defektlerinin tamirinde yeni kemik oluşumu, osteoblast ve osteosit yoğunluğu üzerine etkisi değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre daha fazla otojen kemik grefti ve allogreftte göre daha az potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Ancak periosteumun osteojenik potansiyelinin artırılması için başka osteoindüktif, osteokondüktif materyaller ile kombine edilmesinin daha iyi sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sınırlamaları dahilinde elde edilen sonuçlar ve yapılan öneriler şu şekildedir;

1. Kritik boyuttaki kemik defektlerinde herhangi bir greft materyali uygulanmadığında, defektin büyük bir kısmı bağ dokusu ile dolmakta ve kemikleşme minimum olmaktadır.

2. Boş bırakılan defektlerle karşılaştırıldığında her üç greft materyalinin de yeni kemik oluşumunda etkili olduğu görülmüştür.

3. Ortalama kemik yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde en yüksek değer beklendiği üzere otojen kemik greftinde bulunmuştur. Bunu sırasıyla allojenik greft ve serbest otojen periosteum izlemiştir.

4. Otojen kemik grefti ile allojenik greft arasında yeni kemik oluşturma potansiyeli açısından fark yoktur.

5. Allojenik greft ile serbest otojen periosteum grefti arasında yeni kemik oluşturma potansiyeli açısından fark yoktur.

6. Serbest otojen periosteum operasyon sırasında aynı bölgeden elde edilebilen, morbitidesi düşük ve güvenilir bir yöntem olarak, kemik defektleri içine uygulanabilir. Ancak büyük boyutlu kemik defektlerinde limitli elde edilebilme dezavantajı göz önüne alınarak osteokondüktif bir greft materyali ile birlikte kullanımının daha avantajlı olabileceğini düşünmekteyiz.

7. Allojenik greft materyallerinin maliyet ve halen tartışmalı olan enfeksiyon riski gibi dezavantajları mevcuttur. Bu açıdan serbest otojen periosteum bir alternatif olarak düşünülebilir.

8. Serbest otojen periosteum greftinin yeni kemik oluşumu açısından kontrol grubu ile karşılaştırılmasında serbest otojen periosteumun daha üstün bulunması nedeni ile oluşan kritik boyutlu kemik defektlerinde defektin tamamen boş bırakılması yerine komşu bölgeden alınacak periosteumun defekte yerleştirilmesinin, defekt boyutu büyük olduğunda ise osteokondüktif bir greft materyali ile kombine kullanılmasının kemik iyileşmesi açısından faydalı olacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E. Healing of Experimentally Created Defects: A review. *British J O MaxilloFac. Surg.* 1995;33:312-318.
- Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone Replacement Grafts, The Bone Substitutes. *Dental Clinics of North America.* 1998;42(3):491-503.
- Akita S, Fukui M, Nakagawa H, Fujii T, Akino K. Cranial Bone Defect Healing is Accelerated by Mesenchymal Stem Cells Induced by Coadministration of Bone Morphogenetic Protein-2 and Basic Fibroblast Growth Factor. *Wound Repair Regen.* 2004;12(2):252-259.
- Allen MR, Burr DB. Human Femoral Neck has Less Cellular Periosteum, and More Mineralized Periosteum, than Femoral Diaphyseal Bone. *Bone.* 2005;36:311-316.
- Andrew JG, Hoyland JA, Freemont AJ, Marsh DR. Platelet-Derived Growth Factor Expression in Normally Healing Human Fractures. *Bone.* 1995;16(4):455-460.
- Asaumi K, Nakanishi T, Asahara H, Inoue H, Takigawa M. Expression of Neurotrophins and Their Receptors (TRK) During Fracture Healing. *Bone.* 2000;26(6):625-633.
- Athanasίου VT, Papachristou DJ, Panagopoulos A, Saridis A, Scopa CD, Megas P. Histological comparison of autograft, allograft-DBM, xenograft, and synthetic grafts in a trabecular bone defect: an experimental study in rabbits. *Med Sci Monit.* 2010;16(1):24-31.
- Avera SP, Stampley WA, McAllister BS. Histologic and Clinical Observations of Resorbable and Nonresorbable Barrier Membranes Used in Maxillary Sinus Graft Containment. *Int J Oral Maxillofac Imp.* 1997;12:88-94.
- Babbush CA. *Dental Implants-The Art and Science.* W.B. Saunders Co. 2001.
- Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth Factor Regulation of Fracture Repair. *J Bone Miner Res.* 1999;14(11):1805-1815.
- Bauer TW, Muschler GF: *Bone Graft Materials. An Overview of The Basic Science.* Clin Orthop. 2000;371:10-27.
- Bauer TW, Togawa D. Bone Graft Substitutes: Towards a More Perfect Union. *Orthopedics.* 2003;26(9):925-6.
- Bayramiçli M. *Deneyisel Mikrocerrahi-Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri,* İstanbul. 2005
- Beck LS, Deguzman L, Lee WP. Rapid publication, TGF- β 1 induces bone closure of skull defects. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1991;6(11):1257-1265.
- Becker W, Dahlin C, Becker BE, Lekholm U, van Steenberghe, D, Higuchi, K, Kultje C. The use of e-PTFE Barrier Membranes for Bone Promotion Around

- Titanium Implants Placed into Extraction Sockets: A Prospective Multicenter Study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994;9(1):31-40.
- Behring J, Junker R, Walboomers XF, Chessnut B, Jansen JA. Toward guided tissue and bone regeneration: morphology, attachment, proliferation, and migration of cells cultured on collagen barrier membranes. A systematic review. *Odontology.* 2008;96:1-11.
- Beitlitum I, Artzi Z, Nemcovsky CE. Clinical Evaluation of Particulate Allogeneic with and without Autogenous Bone Grafts and Resorbable Collagen Membranes for Bone Augmentation of Atrophic Alveolar Ridges. *Clin Oral Implant Res.* 2010;21:1242-1250.
- Bernard GW. Healing and Repair of Osseous Defects. *Dent Clin North Am.* 1991;35:469-477.
- Bernstein S, Cooke J, Fotek P, Wang HL. Vertical Bone Augmentation: Where Are We Now? *Implant Dent.* 2006;15:219-228.
- Bigham-Sadegh A, Oryan A, Mirshokraei P, Shadkhast M, Basiri E. Bone Tissue Engineering with Periosteal-free Graft and Pedicle Omentum. *ANZ J Surg.* 2013;83:255-261.
- Block MS, Kent JN. Sinus Augmentation for Dental Implants: The Use of Autogenous Bone. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55:1281-1286.
- Block MS, Degen M. Horizontal Ridge Augmentation Using Human Mineralized Particulate Bone: Preliminary Results. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62:67-72.
- Blumenthal NM. The Use of Collagen Membranes to Guide Regeneration of New Connective Tissue Attachment in Dogs. *J Periodontol.* 1988;59(12):830-6.
- Bronner F, Farah-Carson MC, Roach HI. Bone and Development: Topics in Bone Biology Volume:6, London, Springer. 2010;2.
- Buck BE, Resnick L, Shah SM, Malinin TI. Human Immunodeficiency Virus Cultured from Bone. Implications for Transplantation. *Clin Orthop. Relat. Res.* 1990;251:249-253.
- Bunyaratavej P, Wang H.L. Collagen membranes: A Review. *J Periodontol.* 2001;72(2):215-229.
- Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized Ridge Augmentation Using Guided Bone Regeneration. 1. Surgical Procedure in the Maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1993;13(1):29-45.
- Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK. Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res.* 1998;9(3):137-50.

- Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided Tissue Regeneration: Comparison of Bioabsorbable and Non- Bioabsorbable Membranes. *Histologie and Histometric Study in Dogs. Periodontol.* 1994;65:583-591.
- Choi JY, Jung UW, Kim CS, Eom TK, Kang EJ, Cho KS, Kim CK, Choi SH. The Effects of Newly Formed Synthetic Peptide on Bone Regeneration in Rat Calvarial Defects. *J Periodontal Implant Sci.* 2010;40:11–18.
- Clavero J, Lundgren S. Ramus or Chin Grafts for Maxillary Sinus Inlay and Local Onlay Augmentation: Comparison of Donor Site Morbidity and Complications. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2003;5:54–160.
- Colnot C, Thompson Z, Miclau T, Werb Z, Helms JA . Altered fracture repair in the absence of MMP9. *Development.* 2003;130:4123-4133.
- Colnot C. Skeletal Cell Fate Decisions Within Periosteum and Bone Marrow During Bone Regeneration. *J Bone Miner Res.* 2009;24:274-282.
- Colnot C, Zhang X, Knothe Tate ML. Current insights on The Regenerative Potential of The Periosteum: Molecular, Cellular, and Endogenous Engineering Approaches. *J Orthop Res.* 2012;30:1869-78.
- Cordioli G, Mazzocco C, Schepers E, Brugnolo E, Majzoub Z. Maxillary Sinus Floor Augmentation Using Bioactive Glass granules and Autogeneous Bone with Simultaneous Implant Placement: Clinical and Histological Findings. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(3):270-278.
- Costa GF, Rosa Paz AH, Lora PS, Passos EP, Cirne-Lima EO. *World J Stem Cells.* 2012; 4(2):9-16.
- Cypher TC, Grossman JP. Biological Principles of Bone Graft Healing. *The J Foot and Ankle Surg.* 1996;5:413-416.
- Daelemans P, Hermans M, Godet F, Malevez C. Autologous Bone Graft to Augment the Maxillary Sinus in Conjunction with Immediate Endosseous Implants: A Retrospective Study up to 5 Years. *Int J Periodontics Restor Dent.* 1997;17(1): 27-39.
- Dailiana ZH, Shiamishis G, Niokou D, Ioachim E, Malizos KN. Heterotopic Neoosteogenesis from Vascularized Periosteum and Bone Grafts. *The Journal of TRAUMA, Injury, Infection, and Critical Care.* 2002;934-938.
- Damien CJ, Parsons JR. Bone Graft and Bone Graft Substitutes: A Review of Current Technology and Applications. *Journal of Applied Biomaterials.* 1991;2:187-208.
- Delloye C, Cornu O, Druez V, Barbier O. Bone allografts. What They Can Offer And What They Cannot. *J Bone Joint Surg [Br].* 2007;89(B):574-9.
- Develioğlu H. Kritik Boyutlu ve Kritik Boyutlu Olmayan Defektler. *Cumhuriyet Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi.* 2003;6(1):60-64.

- Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M. The Effect of Pentosan Polysulphate on Bone Healing of Rat Cranial Defects. *J Craniomaxillofac Surg.* 1999;27(5):314-20.
- El-Ghannam A. Bone Reconstruction: From Bioceramics to Tissue Engineering [review]. *Expert Rev Med Devices.* 2005;2(1):87–101.
- Erbe EM, Marx JG, Clineff TD, Bellincampi LD. Potential Of An Ultraporous β -tricalciumphosphate Synthetic Cancellous Bone Void Filler And Bone Marrow Aspirate Composite Graft. *Eur Spine J.* 2001;10:141-146.
- Ersu B. İmplant Diş Hekimliğinde kullanılan Ağız içi Otojen Kemik Greftleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi.* 2007;2(10):135-140.
- Fan W, Physiological Investigation of Periosteum Structure and Its Application in Periosteum Tissue Engineering, Queensland University of Technology Institute of Health and Biomedical Innovation Faculty of Built Environment & Engineering, Australia, PhD Thesis, 2010;21-22
- Fang J, Hall BK. Chondrogenic Cell Differentiation From Membrane Bone Periosteum. *Anat Embryol (Berl).* 1997;196:349-362.
- Fiedler J, Brill C, Blum WF, Brenner RE. IGF-I and IGF-II Stimulate Directed Cell Migration of Bone-marrow-derived Human Mesenchymal Progenitor Cells. *Biochemical and Biop Res Commun.* 2006;345:1177–1183.
- Finkemeier CG. Bone-Grafting and Bone-Graft Substitutes *The Journal Of Bone & Joint Surgery.* 2002; 84(3):454-464.
- Frame JW. A Convenient Animal Model for Testing Bone Substitute Materials. *J Oral Surg.* 1980;38:176–80.
- Friesel RE, Maciag T. Molecular Mechanisms of Angiogenesis: Fibroblast Growth Factor Signal Transduction. *FASEB.* 1995;9:919-925.
- Froum S, Cho SC, Rosenberg E, Rohrer M, Tarnow D. Histological Comparison of Healing Extraction Sockets Implanted with Bioactive Glass or Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft: A Pilot Study. *J. Periodontol.* 2002;73(1):94-102.
- Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*, 3rd ed., Philadelphia, Gartner W. B. Saunders. 2006;137-142.
- Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, Forster RA. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. *MD J Am Acad Orthop Surg.* 1995;3:1-8
- Gemalmaz HC, Bolukbasi S, Esen E, Erdogan D, Gürgen SG, Bardakci Y. Periosteal Adventitia is a Valuable Bone Graft Alternative. *Int J Artif Organs.* 2013;36(5):341-9.
- Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone Substitutes: An Update. *Int. J Care Injured.* 2005;36(3):20-27.

- Gomez G, Korkiakoski S, Gonzalez MM, Lansman S, Ella V, Salo T, Kellomaki M, Ashammakhi N, Arnaud E. Effect of FGF and Polylactide Scaffolds on Calvarial Bone Healing with Growth Factor on Biodegradable Polymer Scaffolds. *J Craniofac Surg.* 2006;17:935-42.
- Greenwald JA, Mehrara BJ, Spector JA, Fagenholz PJ, Saadeh PB, Steinbrech DS, Gittes GK, Longaker MT. Immature Versus Mature Dura Mater: II. Differential Expression of Genes Important to Calvarial Reossification. *Plast Reconstr Surg.* 2000;106(3):630-638.
- Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN. Bone-Graft Substitutes: Facts, Fictions, and Applications. *The J Bone And Joint Surg. Sup.2 ,Part 2.* 2001;83(A):98-103.
- Güven O, Saraçoğlu U. Bir Santral Odontojenik Fibroma Vakasında Otojen Kemik Grefti ve İmplant Uygulanması: Vaka raporu. *T Klin Diş Hek Bil.* 2000;6:158-162.
- Haas R, Haidvogl D, Donath K, Watzek G. Freeze-Dried Homogeneous and Heterogeneous Bone for Sinus Augmentation in Sheep. Part I: Histological Findings. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13:396-404.
- Habibovic P, de Groot K. Osteoinductive Biomaterials – properties and Relevance in Bone Repair. *J Tissue Eng Regen Med.* 2007;1:25–32.
- Hanada K, Solchaga LA, Caplan AI, Hering TM, Goldberg VM, Yoo JU, Johnstone B. BMP-2 Induction and TGF- β 1 Modulation of Rat Periosteal Cell Chondrogenesis. *J Cell Biochem.* 2001;81:284-294.
- Haug RH, Nuvonn E, Bredbenner T. An Evaluation of The Support Provided by Common Internal Orbital Reconstruction Materials. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57:564-570.
- Hauschka PV, Mavrakos AE, Iafrati MD, Doleman SE, Klagsbrun M. Growth Factors in Bone Matrix. Isolation of Multiple Types by Affinity Chromatography on Heparin-Sepharose. *J Biol Chem.* 1986;261(27):12665-12674.
- Hieu PD, Chung JH, Yim SB, Hong KS. A radiographical Study on the Changes in Height of Grafting Materials After Sinus Lift: A Comparison Between Two Types of Xenogenic Materials. *J Periodontal Implant Sci.* 2010;40:25-32.
- Howard CV, Reed MG. Unbiased Stereology, Three-dimensional Measurement in Microscopy. First Edition, BIOS Scientific Publishers, UK. 1998.
- <http://www.healthfixit.com>,2014
- Hurzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi J, Mota LF, Conradt J, Hutmacher D, Caffesse RG. Evaluation of a New Bioresorbable Barrier to Facilitate Guided Bone Regeneration Around Exposed Implant Threads: An Experimental Study in the Monkey. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1998;27(4):315-320.

- Hutmacher D, Hurzeler MB, Schliephake H. A Review of Material Properties of Biodegradable and Bioresorbable Polymers and Devices for GTR and GBR Applications. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(5):667-678.
- Hutmacher DW, Sitterling M. Periosteal Cells in Bone Tissue Engineering. *Tissue Eng*. 2003;9 Suppl 1:S45-64.
- Ito Y, Fitzsimmons JS, Sanyal A, Mello MA, Nukherjee N, O'Driscoll SW. Localization of Chondrocyte Precursors in Periosteum. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001;9(3):215-23.
- Jensen SS, Brogini N, Hjørting-Hansen E, Schenk R, Buser D. Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(3):237-43.
- Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology*. 10th ed., New York, McGraw-Hill. 2003; 144-146.
- Kalfas IH. Principles of Bone Healing. *Neurosurgery Focus*. 2001;10:1-4.
- Kanou M, Ueno T, Kagawa T, Fujii T, Sakata Y, Ishida N, Fukunaga J, Sugahara T. Osteogenic Potential of Primed Periosteum Graft in the Rat Calvarial Model. *Ann Plast Surg*. 2005;54:71-78.
- Karaoglu S, Baktir A, Kabak S, Arasi H. Experimental Repair of Segmental Bone Defects in Rabbits by Demineralized Allograft Covered by Free Autogenous Periosteum. *Injury*. *Int. J. Care Injured* 2002;33:679-683.
- Kaya A, Tuncay C, Kaya Ü, Demirörs H. Periost Dokusunun Otoklavize Kemik Grefti-Alicı Kemik Bütünleşmesine Etkisi: Tavşanlarda Deneysel Çalışma. *Eklem Hastalık Cerrahisi*. 2010;21(3):159-165.
- Keith JD Jr. Localized Ridge Augmentation with A Block Allograft Followed by Secondary Implant Placement: A Case Report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004;24:11-17.
- Kenley AR, Yim K, Abrams J. Biotechnology And Bone Graft Substitutes. *Pharmaceutical Research*. 1993;10(10):1393-1401.
- Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 1st ed., St. Louis, Mosby Inc. 2002;130-156.
- Kneser U, Schaefer DJ, Polykandriotis E, Horch RE. Tissue Engineering of Bone: The Reconstructive Surgeon's Point of View. *J. Cell. Mol. Med*. 2006;10(1):7-19.
- Klawitter JJ, Bagwell JG, Weinstein AM, Sauer BW. An Evaluation of Bone Growth into Porous High Density Polyethylene. *J Biomed Mater Res*. 1976;10(2):311-23.
- Kochi G, Sato S, Fukuyama T, Morita C, Honda K, Arai Y, Ito K. Analysis on the Guided Bone Augmentation in the Rat Calvarium Using a Microfocus Computerized

- Tomography Analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(6):42-8.
- Kolk A, Handschel J, Drescher W, Rothamel D, Kloss F, Blessmann M, Heiland M, Wolff K-D, Smeets R. Current Trends and Future Perspectives of Bone Substitute Materials - from Space Holders to Innovative Biomaterials. *J C.M.Fac Surg.* 2012;40:706-718.
- Korkmaz A, Ayas B, Çiftçi N, Tümkaya L. A Novel Systemic Field Sampling Approach for Relatively Large Reference Spaces Used in Neurostereological Studies. *Neuroanatomy, 2 (Abstracts Book).* 2003;20P.
- Kökden A, Türker M. Oral ve Maksillofasial Cerrahide Kemik Defektlerinde Kullanılan Kemik Greftleri ve Biyomateryaller. *C.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Dergisi.* 1999;2(2):134-140.
- Kubler A, Neugebauer J, Oh JH, Scheer M, Zoller JE. Growth and Proliferation of Human Osteoblasts on Different Bone Graft Substitutes: an in vitro study. *Implant Dent.* 2004;13(2):171-179.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbin's and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th., China, Elsevier Saunders. 2005;1274-1282.
- Kumta SM, Leung PC, Griffith JF, Roebuck DJ, Chow LT, Li CK. A technique for Enhancing Union of Allograft to Host Bone. *J Bone Joint Surg Br.* 1998;80(6):994-998.
- Kurashina K, Kurita H, Takeuchi H, Hirano M, Klein CP, de Groot K. Osteogenesis in Muscle with Composite Graft of Hydroxyapatite and Autogenous Calvarial Periosteum: A Preliminary Report. *Biomaterials.* 1995;16(2):119-123.
- Laffargue P, Fialdes P, Frayssinet P. Adsorption And Release Of Insulin-Like Growth Factor-I On Porous Tricalcium Phosphate Implant. *J Biomed Mater Res.* 2000;5;49(3):415-421.
- Lee JS, Park WY, Cha JK, Jung UW, Kim CS, Lee YK, Choi SH. Periodontal Tissue Reaction to Customized Nano-hydroxyapatite Block Scaffold in One-wall Intra-bony Defect: A Histologic Study in Dogs. *J Periodontal Implant Sci.* 2012;42(2):50-58.
- Leonetti JA, Koup R: Localized Maxillary Ridge Augmentation with A Block Allograft for Dental Implant Placement: Case Reports. *Implant Dent.* 2003;12:217-226.
- Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The Role of Growth Factors in The Repair of Bone. *J Bone Joint Surg.* 2002;84(6):1032-1044.
- Lin Z, Fateh A, Salem DM, Intini G. Periosteum: Biology and Applications in Craniofacial Bone Regeneration. *J Dent Res.* 2013;XX(X):1-8.
- Lind M. Growth Factor Stimulation of Bone Healing. Effects on Osteoblasts, Osteomies, and Implants Fixation. *Acta Orthop Scand Suppl.* 1998;283:2-37.

- Lind M, Eriksen EF, Bünger C. Bone Morphogenetic Protein-2 But not Bone Morphogenetic Protein-4 and -6 Stimulates Chemotactic Migration of Human Osteoblasts, Human Marrow Osteoblasts, and U2-OS Cells. *Bone*. 1996;18(1):53-57.
- Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth Factors For Bone Growth And Repair: IGF, TGFP AND BMP. *Bone*. 1996;19(1):1-12.
- Little DG, Ramachandran M, Schindeler A. The anabolic and catabolic responses in bone repair. *J Bone Joint Surg [Br]*. 2007;89(B):425–433.
- Liu F, Hata A, Baker JC, Doody J, Carcamo J, Harland RM, Massague J. A Human Mad Protein Acting as a BMP-Regulated Transcriptional Activator. *Nature*. 1996;381:620-623.
- Lu C, Miclau T, Hu D, Hansen E, Tsui K, Puttlitz C, Marcucio RS. Cellular Basis for Age-Related Changes in Fracture Repair. *J Orthop Res*. 2005;23:1300-1307.
- Lundgren S, Moy P, Johansson C, Nilsson H. Augmentation of The Maxillary Sinus Floor with Particulated Mandible: A Histologic and Histomorphometric Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(6):760-766.
- MacNeill SR, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. In Vivo Comparison of Synthetic Osseous Graft Materials. *Journal Clinical Periodontology* 1999;26:239-245.
- Malizos K.N, Papatheodorou L.K. The Healing Potential of The Periosteum Molecular Aspects. *Int. J. Care Injured*. 2005;36(3):13-19.
- Manjubala I, Suresh Kumar RV, Sastry TP. Biocompatibility Evaluation of Bisphasic Calcium Phosphate Ceryamics: An in vivo Study. *Trends in Biomaterials&Artificial Organs*. 2001;14(2):27-29.
- Mardas N, Kostopoulos L, Karring T. Bone and Suture Regeneration In Calvarial Defects by e-PTFE-membranes and Demineralized Bone Matrix and the Impact on Calvarial Growth: An Experimental Study In The Rat. *J Craniofac Surg*. 2002;13:453–62.
- Marden LJ, Fan RS, Pierce GF, Reddi AH & Hollinger JO. Platelet Derived Growth Factor Inhibits Bone Regeneration Induced by Osteogenin, A Bone Morphogenetic Protein, In Rat Craniotomy Defects. *Journal of Clinical Investigation*. 1993;92:2897–2905.
- Mariano R, Messori M, de Morais A, Nagata M, Furlaneto F, Avelino C, Paula F, Ferreira S, Pinheiro M, de Sene JP. Bone Healing in Critical-size Defects Treated with Platelet-rich Plasma: A Histologic and Histometric Study in the Calvaria of Diabetic Rat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;109(1):72-78.
- Marieb EN, *Essentials of Anatomy and Physiology*, 10th ed., USA, Pearson Education. 2012;116.

- Mauney JR, Volloch V, Kaplan DL: Role of Adult Mesenchymal Stem Cells in Bone Tissue Engineering Applications: Current Status and Future Prospects. *Tissue Eng.* 2005;11(5-6):787-802.
- Mc Allister BS, Margolin MD, Cogan AG, Buck D, Hollinger JO, Lynch SE, Eighteen-Month Radiographic and Histologic Evaluation of Sinus Grafting with Anorganic Bovine Bone in the Chimpanzee. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:361-368.
- Mescher AL. Junquera's Basic Histology Text and Atlas 13th ed., USA, McGraw-Hill Education. 2013;55-65.
- Messoria MR, Nagata MJ, Dornelles RC, Bomfim SR, Furlaneto FA, de Melo LG, Deliberador TM, Bosco AF, Garcia VG, Fucini SE. Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma activated by two different methods. A histologic and histometric study in rat calvaria. *J Periodontal Res.* 2008;43(6):723-9.
- Miller MD, Thompsan SR, Hart JA. *Review of Orthopadics*, 6th ed., Philadelphia, Elsevier Saunders. 2012;1-11
- Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2nd Ed., London: BC Decker Inc. 2004;192-193.
- Mish CM. Comparison of Intraoral Donor Sites for Onlay Grafting Prior to Implant Placement. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants.* 1997;12:767-76.
- Mokbel N, Bou Serhal C, Matni G, Naaman N. Healing Patterns of Critical Size Bony Defects in Rat Following Bone Graft. *Oral Maxillofac Surg.* 2008;12(2):73-8.
- Moore WR, Graves SE, Bain GI: Synthetic Bone Graft Substitutes. *ANZ J Surg.* 2001; 71(6):354-61.
- Mooren RECM, Merckx MAW, Bronkhorst EM, Jansen JA, Stoelinga PJW. The Effect of Platelet-rich Plasma on Early and Late Bone Healing: An Experimental Study In Goats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2007;36:626-631.
- Mundell RD, Mooney MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided Tissue Regeneration Using a Collagen Barrier Membrane. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51(9):1004-12.
- Naaman NBA, Ouhayoun JP: Bone Formation with Discs or Particles of Natural Coral Skeleton Plus Polyglactin 910 Mesh: Histologic Evaluation in Rat Calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13:115-20.
- Nagata MJ, Messoria M, Pola N, Campos N, Vieira R, Esper LA, Sbrana M, Fucini S, Garcia V, Bosco A. Influence of the ratio of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Orthop Res.* 2010;28(4):468-73.

- Naitoa Y, Terukinab T, Gallic S, Kozaid Y, Vandeweghee S, Tagamib T, Ozekib T, Ichikawaa T, Coelhof P.G, Jimboc R. The Effect of Simvastatin-loaded Polymeric Microspheres in a Critical-size Bone Defect in the Rabbit Calvaria. *Int J Pharm.* 2014;461:157–162.
- Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M, Wozney JA, Palmer R, Graham D. Bone Formation in the Goat Maxillary Sinus Induced by Absorbable Collagen Sponge Implants Impregnated Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2. *Int J Perio Rest Dent.* 1996;16(1):8-19.
- Nowzari H, Slots J. Microbiologic and Clinical Study of Polytetrafluoroethylene Membranes for Guided Bone Regeneration Around Implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1995;10(1):67-73.
- Nyan M, Sato D, Oda M, Machida T, Kobayashi H, Nakamura T, Kasugai S. Bone Formation With the Combination of Simvastatin and Calcium Sulfate in Critical-Sized Rat Calvarial Defect. *J Pharmacol Sci.* 2007;104:384–386.
- Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. Role of Fracture Hematoma and Periosteum During Fracture Healing in Rats: Interaction of Fracture Hematoma and the Periosteum in the Initial Step of the Healing Process. *J Orthop Sci.* 2000;5:64–70.
- Ozdemir MT, Kir MC. Repair of Long Bone Defects with Demineralized Bone Matrix and Aetogenous Bone Composite. *Indian J Orthop.* 2011;45(3):226-230.
- Palmer P, Palmer R. Dental Implants. 8. Implant Surgery to Overcome Anatomical Difficulties. *Br Dent J.* 1999;187(10):532-540.
- Park D, Spencer JA, Koh BI, Kobayashi T, Fujisaki J, Clemens TL, Lin CP, Kronenberg HM, Scadden DT. Endogenous Bone Marrow MSCs are Dynamic, Fate-Restricted Participants in Bone Maintenance and Regeneration. *Cell Stem Cell.* 2012;10:259-272.
- Petite H, Quarto R. Engineered Bone. Georgetown, Texas, U.S.A. Landes Bioscience. 2005;94.
- Precheur HV. Bone Graft Materials. *Dent Clin N Am.* 2007;51:729–746.
- Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S. Proportion of deproteinized bovine bone and autogenous bone affects bone formation in the treatment of calvarial defects in rabbits. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2009;38:356–362.
- Probst A, Spiegel HU. Cellular mechanisms of bone repair. *Journal of Investigative Surgery.* 1997;10:77-86.
- Pryor ME, Susin C, Wikesjo UM. Validity of Radiographic Evaluations of Bone Formation in a Rat Calvaria Osteotomy Defect Model. *J Clin Periodontol.* 2006;33(6):455-460.

- Reynders P, Becker JH, Broos P. Osteogenic Ability of Free Periosteal Autografts in Tibial Fractures with Severe Soft Tissue Damage: An Experimental Study. *J Orthop Trauma*. 1999;13(2):121-128.
- Reynolds MA, Aichelman-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The Efficacy of Bone Replacement Grafts in the Treatment of Periodontal Osseous Defects. A Systematic Review. *Ann Periodontol*. 2003;8:227-258.
- Robey PG, Young MF, Flanders KC, Roche NS, Kandaiah P, Reddi AH, Termine JD, Sporn MB, Roberts AB. Osteoblasts Synthesize and Respond to Transforming Growth Factor-Type β (TGF- β) In Vitro. *J Cell Biol*. 1987;105:457-463.
- Rosenberg E, Rose L. Biologic and Clinical Considerations for Autografts and Allografts in Periodontal Regeneration Therapy. *Dent Clin North America*. 1998;42(3):467-490.
- Ross MH, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas with Correlated and Molecular Biology*, 6th ed., China, Walters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins. 2011;220-241.
- Sarkar MR, Augat P, Shefelbine SJ, Schorlemmer S, Huber-Lang M, Claes L, Kinzl L, Ignatius A. Bone Formation in A Long Bone Defect Model Using a Platelet-rich Plasma-loaded Collagen Scaffold. *Biomaterials*. 2006; 27:1817–1823.
- Schlegel KA, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, Wiltfang J. De Novo Bone Formation Using Bovine Collagen and Platelet-rich Plasma. *Biomaterials* 2004;25: 5387–5393.
- Schmitt JM, Hwang YK, Winn SR, Hollinger JO. Bone Morphogenetic Proteins: An Update on Basic Biology and Clinical Relevance. *J Orthop Res*. 1999;17:269-278.
- Serrano J, Romol E, Bermu' dezl M, Narayanan A.S, Zeichner- David M, Santos L, Arzatel H. Bone Regeneration in Rat Cranium Critical-Size Defects Induced by Cementum Protein 1 (CEMP1). *PLOS ONE*. 2013;8(11):1-10.
- Seth J, Aeran H, Sharma A. Bone Augmentation Materials: A Literature Review. *J Dentofacial Sciences*. 2013;2(3): 1-6.
- Siegel HJ, Baird RC 3rd, Hall J, Lopez-Ben R, Lander PH. The Outcome of Composite Bone Graft Substitute Used to Treat Cavitary Bone Defects. *Orthopedics* 2008;31(8):754.
- Silva RV, Camilli JA, Bertran CA, Moreira NH. The Use of Hydroxyapatite and Autogenous Cancellous Bone Grafts to Repair Bone Defects in Rats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*. 2005;34:178–184.
- Schmitz JP, Hollinger JO. The Critical Size Defect as an Experimental Model for Craniomandibulofacial Nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 1986;205:299–308.
- Sipahi, C, Aydıntuğ YS. Mandibular Defektin Protetik Rehabilitasyonu: Olgu Sunumu. *Gülhane Tıp Derg*. 2011;53(1): 56-59.

- Stevens MM, Qanadilo HF, Langer R, Prasad Shastri V. A Rapid-curing Alginate Gel System: Utility in Periosteum-derived Cartilage Tissue Engineering. *Biomaterials*. 2004;25(5):887-94.
- Suba Z, Takacs D, Gyulai-Gaal S, Kovacs K. Facilitation of β -Tricalcium Phosphate-Induced Alveolar Bone Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Beagle Dogs: A Histologic and Histomorphometric Study *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(6):832-838.
- Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD, Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 7th ed., China, Churchill Livingstone. 2013;322-325.
- Suzawa Y, Funaki T, Watanabe J, Iwai S, Yura Y, Nakano T, Umakoshi Y, Akashi M. Regenerative Behavior of Biomineral/agarose Composite Gels as Bone Grafting Materials in Rat Cranial Defects. *J Biomed Mater Res Part A*. 2009;965-975.
- Swenson CL, Arnoczky SP. Demineralization for Inactivation of Infectious Retrovirus in Systemically Infected Cortical Bone: In Vitro And In Vivo Experimental Studies. *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85A(2):323-332.
- Szabo G, Suba Z, Hrabak K, Barabas J, Nemeth Z. Autogenous Bone Versus Beta-tricalcium Phosphate Graft Alone for Bilateral Sinus Elevations (2- and 3-dimensional computed tomographic, histologic, and histomorphometric evaluations): Preliminary Results. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001;16(5):681-692.
- Szpalski M, Gunzburg R: Applications of Calcium Phosphatebased Cancellous Bone Void Fillers in Trauma Surgery. *Orthopedics*. 2002;25(5 Suppl):601-609.
- Szpalski C, Barr J, Wetterau M, Saadeh PB, Warren SM. Cranial Bone Defects: Current and Future Strategies. *Neurosurg Focus*. 2010;29(6):1-11.
- Şimşek A, Çakmak G, Cila E. Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*. 2004;3:3-4
- Taichman RS. Blood and bone: Two Tissues Whose Fates Are Intertwined To Create The Hematopoietic Stem Cell Niche. *Blood*. 2005;105:2631-2639.
- Tadjoedin ES, de Lange GL, Holzmann PJ, et al: Histological Observation on Biopsies Harvested Following Sinus Floor Elevation Using a Bioactive Glass Material of Narrow Size Range. *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(4):334-344.
- Tadjoedin ES, de Lange GL, Lyaruru DM, Kuiper L, Burger EH. High Concentration of Bioactive Glass Material (BioGran) Autogeneous Bone for Sinus Floor Elevation. *Clin. Oral Implants Res*. 2002;13(4):428-436.
- Tadjoedin ES, Lange GL, Bronckers ALJ, Lyrauu DM, Burger EH. Deproteinized Cancellous Bovine Bone (bio-Oss) as Bone Substitute for Sinus Floor Elevation. *J Clin Periodontol*. 2003;30:261-270.

- Tarnow DP, Wallace SS, Froum SJ, Rohrer MD, Cho S-CH. Histologic and Clinical Comparison of Bilateral Sinus Floor Elevations with and without Barrier Membrane Placement in 12 Patients: Part 3 of an Ongoing Prospective Study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000;20:116-125.
- Taylor JF. The Periosteum and Bone Growth. In: Hall BK. *Bone*. Boca Raton: CRC Press. 1992;6:21-52.
- Thompson Z, Miclau T, Hu D, Helms JA. A model for Intramembranous Ossification During Fracture Healing. *J Orthop Res*. 2002;20:1091-1098.
- Tolman DE. Reconstructive Procedures with Endosseous Implants in Grafted Bone: A Review of The Literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995;10(3):275-294.
- Tran Van PT, Vignery A, Baron R. Cellular Kinetics of the Bone Remodeling Sequence in the Rat. *Anat Rec*. 1982;202(4):445-51.
- Trippel SB, Coutts RD, Einhorn TA, Mundy GR, Rosenfeld RG. Instructional Course Lecture. American Academy of Orthopaedic Surgeons. Growth Factors as Therapeutic Agents. *J Bone Joint Surg Am*. 1996;78:1272-1286.
- Trippel SB. Growth Factors as Therapeutic Agents. *Instr Course Lect*. 1997;46:473-476.
- Trotta DR, Gorny C Jr, Zielak JC, Gonzaga CG, Giovanini AF, Deliberador TM. Bone Repair of Critical Size Defects Treated With Mussel Powder Associated or not With Bovine Bone Graft: Histologic and Histomorphometric Study in Rat Calvaria, *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surg*. 2013;xxx:1-6.
- Turhani D, Weissenbock M, Watzinger E, Yerit K, Cvikl B, Ewers R, Thurnher D. In vitro study of Adherent Mandibular Osteoblast-like Cells on Carrier Materials. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34(5):543–550.
- Turunen T, Peltola J, Yli-Urpo A, Happonen RP. Bioactive Glass Granules as a Bone Adjunctive Material in Maxillary Sinus Floor Augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15(2): 135-141.
- Ueno T, Kagawa T, Mizukawa N, Nakamura H, Sugahara H, Yamamoto T. Cellular Origin of Endochondral Ossification From Grafted Periosteum. *The Anatomical Record*. 2001;264:348–357.
- Ueno T, Kagawa T, Kanou M, Shirasu N, Sawaki M, Imura H, Hirata A, Yamachika E, Mizukawa N, Sugahara T. Evaluation of Osteogenic Potential of Cultured Periosteum Derived Cells -Preliminary Animal Study- *J Hard Tissue Biology*. 2007;16(2):50-53.
- Ueno T, Honda K, Hirata A, Kagawa T, Kanou M, Shirasu N, Sawaki M, Yamachika E, Mizukawa N, Sugahara T. Histological Comparison of Bone Induced from Autogenously Grafted Periosteum with Bone Induced from Autogenously Grafted Bone Marrow in The Rat Calvarial Defect Model. *Acta histochemica*. 2008;110:217-223.

- Urist MR, Huo YK, Brownell AG, Hohl WM, Buyske J, Lietze, Tempst P, Hunkapiller M, Delange Rj. Purification of Bovine Bone Morphogenetic Protein by Hydroxyapatite Chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81(2):371-375.
- Urist MR, Strates BS. Bone Morphogenetic Protein. *Clin Orthop Relat Res*. 2009;50:3051-3062.
- Van der Stok J, MM. Van Lieshout E, El-Massoudi Y, H. Van Kralingen G, Patka P. Bone substitutes in the Netherlands-A systematic literature review. *Acta Biomateriala*. 2011;7:739-750.
- Vastel L, Lemoine CT, Kerboull M, Courpied JP. Structural Allograft and Cemented Long-stem Prosthesis for Complex Revision Hip Arthroplasty: Use of a Trochanteric Claw Plate Improves Final Hip Function. *Int Orthop*. 2007;31:851–857.
- Vincent Y. Risk of Disease Transmission With Bone Allograft. *Orthopedics*. 2012;35(8):679-681.
- Von Arx T, Hardt N, Wallkamm B. The TIME technique: a new method for localized alveolar ridge augmentation prior to placement of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(3):387-394.
- Walsh WR, Chapman-Sheath PJ, Cain S, Debes J, Bruce WJM, Svehla MJ, Gillies RM. A Resorbable Porous Ceramic Composite Bone Graft Substitute in A Rabbit Metaphyseal Defect Model. *Journal of Orthop Research*. 2003;21:655-661.
- Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J. The Research, Science and Therapy Committee. Periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*. 2005;76:1601-1622.
- Weissenboeck M, Stein E, Undt G, Ewers R, Lauer G, Turhani D. Particle Size of Hydroxyapatite Granules Calcified from Red Algae Affects the Osteogenic Potential of Human Mesenchymal Stem Cells In Vitro. *Cells Tissues Organs*. 2006;182(2):79–88.
- Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of The Risk of Transmitting Bovine Spongiform Encephalopathy Through Bone Grafts Derived from Bovine Bone. *Biomaterials*. 2001;22:1599-1606.
- Winn SR, Schmitt JM, Buck D, Hu Y, Grainger D & Hollinger JO. Tissue- engineered Bone Biomimetic to Regenerate Calvarial Critical-sized Defects in Athymic Rats. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1999;45:414–421.
- Yashavanta KC, Nalini KB, Jagdish M, Dilip KP, Benerji BH. Calcium Sulfate as Bone Graft Substitute in the Treatment of Osseous Bone Defects, a Prospective Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2013;7(12): 2926-2928.
- Younger EM, Chapman MW. Morbidity at Bone Graft Donor Sites. *J Orthop Trauma*. 1989;3:192-195.

- Zhang D, Huang D, Huang Y, Liu Y, Lin B, Yu C, Mou Y, Wu W, Zhang H, Lin H. Efficacy of Combined Therapy of Periosteum and Bone Allograft in a Critical-Sized Defect Model in New Zealand White Rabbits. *Med Sci Monit.* 2014;20:2394-2403
- Zhang X, Xie C, Lin AS, Ito H, Awad H, Lieberman JR, Rubery PT, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Gulberg RE. Periosteal Progenitor Cell Fate in Segmental Cortical Bone Graft Transplantations: Implications for Functional Tissue Engineering. *J Bone Miner Res.* 2005;20:2124-2137.
- Zhang Y, Wang L, Deng F, Qiu H, Wu X. Determination Of A Critical Size Calvarial Defect In Senile Osteoporotic Mice Model Based On In Vivo Micro-Computed Tomography And Histological Evaluation. *Archives of Gerontology and Geriatrics.* xxx 2015;xxx-xxx.
- Zhao S, Pinholt EM, Madsen JE, Donath K. Histological Evaluation of Different Biodegradable and Non-Biodegradable Membranes Implanted Subcutaneously in Rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2000;28(2):116-122.

EK-1 ETİK KURUL ONAYI



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 –113
Konu : Araştırma Projeniz hk.

30/12/2013

Doç. Dr. Bora ÖZDEN
Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı

2013/69 numaralı “Kemik Defektlerinin İyileşmesinde Otojen Periostun Etkinliğinin Otojen Kemik ve Allojenik Greft ile Karşılaştırılması: Histomorfometrik Çalışma” konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 27.12.2013 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılar ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

Doç. Dr. Ahmet GÜZEL
HADYEK Başkanı V.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Hızır İlyas Köse

Doğum Yeri: Rize

Doğum Tarihi: 04.09.1978

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2001

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Tokat Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi (2002-2007)

Bolu Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi (2007-2012)

Bartın Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi (2012-2013)

Sinop Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi (2014-2015)

E-posta: dtilyaskose@hotmail.com