



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2016; 30 (2): 131 - 136
http://www.fusabil.org

Koral ve Demineralize Kemik Matriksi'nin Kemik İyileşmesi Üzerine Olan Etkileri *

Ali Said DURMUŞ¹
Ali Osman ÇERİBAŞI²
Havva Nur CAN¹

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışma koral ve demineralize kemik matriksinin (DBM) tavşanlarda kemik iyileşmesi üzerindeki hızlandırıcı etkilerini değerlendirmek üzere yapılmıştır. On iki adet erkek Yeni Zelanda tavşanı iki eşit gruba ayrıldı. Genel anestezi altında bütün tavşanlarda bilateral olarak tibialarının proksimal bölümünde ikişer adet unikortikal kemik defektleri (3.5 mm çapında) oluşturuldu. On iki kemik defekti boş bırakıldı (Kontrol grubu). Diğer defektler (her bir grupta 12 adet defekt) sırasıyla koral, DBM ve koral+DBM ile dolduruldu. Klinik, radyografik ve histolojik muayeneler operasyon sonrasında, 30. ve 60. günlerde gerçekleştirildi. Radyolojik muayenelerde kemik iyileşmesinin koral, DBM ve koral+DBM gruplarında kontrol grubundan daha iyi olduğu belirlendi. Otuzuncu ve 60. günlerde yapılan histolojik muayenelerde kontrol grubuna göre kemik iyileşmesinin greft uygulanan gruplarda daha iyi olduğu belirlendi. Sonuç olarak koral, DBM ve koral+DBM uygulamalarının kemik iyileşmesinde olumlu etkilerinin bulunduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Koral, demineralize kemik matriksi, kemik grefti, kemik iyileşmesi

Effects of Coral and Demineralized Bone Matrix on Bone Healing

This study was conducted to evaluate the accelerator effects of coral and demineralized bone matrix (DBM) on bone healing in rabbits. Twelve male New Zealand white rabbits were divided into two equal groups. Under the general anaesthesia, two bone defects models (3.5 mm diameter) were constituted on the proximal part of the tibia of all rabbits bilaterally. Twelve bone defects were left empty (Control group). The other defects were filled with coral, DBM and coral plus DBM, respectively (twelve defects in each group). Clinical, radiographic and histologic examinations were performed after surgery on the 30th and 60th days. In radiological examinations, it was determined that the bone healing was better in coral, DBM and coral plus DBM groups than in the control group. Results of the histological examinations on the 30th and 60th day shown that bone healing was better in the grafted groups than the control group. It was concluded that coral, DBM and coral plus DBM are effective on bone healing.

Key Words: Coral, demineralized bone matrix, bone graft, bone healing

Giriş

Konjenital kemik defektleri, travma, kemik kistleri ve tümörlerinin rezeksiyonu ve korrektif ostektomilerden sonra oluşan kemik defektleri sıklıkla karşılaşılan bir problemdir. Kemik defektlerinin onarımında genellikle otojen, allojen, ksenojen kemik greftleri (1) ve alloplastik materyaller (2) kullanılmaktadır. Otojen kemik greftleri kemik iyileşmesinin hızlandırılmasında yaygın bir şekilde kullanılmakla birlikte kaynakların sınırlı olması ve donör bölge morbiditesi önemli bir problemdir. Günümüzde kemik greftlerine alternatif seçenekler üzerinde yapılan çalışmalar halen devam etmektedir (3-6).

Bir deniz vertebrasız olan mercan (koral) kemik defektlerinin onarımında kullanım alanı bulmaktadır (4). Koralın yüksek basınca dayanıklı, birbirleri ile ilişkili ve insan kansellöz kemiğine yakın poröz yapıda, rezorbe edilebilir, osteokondüktif ve biyoyumlu iyi bir biyomateryal olduğu bildirilmektedir (1, 7, 8).

Kemiklerin çeşitli kimyasal işlemlerden geçirilerek minerallerinden arındırılması ile elde edilen DBM'nin otojen kemik greftleri ile eşit osteoindüktif aktivasyonu olduğu, revaskülarizasyonu hızlı bir biçimde gerçekleştirdiği, kırık iyileşmesini arttırmada ve kemik defektlerinin onarımında kullanıldığı bildirilmektedir (9). DBM'nin en büyük avantajı istenilen miktarda kullanılabilmesi, operasyon süresinin kısaltması ve buna bağlı olarak kan kaybının azalmasıdır (10-14).

Bu çalışmada koral ve DBM'nin tek başına ve birlikte kullanımlarının tavşan tibia defekti modelinde kemik iyileşmesi üzerine olan hızlandırıcı etkilerinin klinik, radyografik ve histolojik bulgularının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

* Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (Proje No: VF.10.01) tarafından desteklenmiştir.

Geliş Tarihi : 27.04.2016
Kabul Tarihi : 09.05.2016

Yazışma Adresi Correspondence

Ali Said DURMUŞ
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

asdurmus@firat.edu.tr

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma 12 adet, 5-6 aylık, ağırlıkları 2.5-3 kg arasında değişen erkek Yeni Zelanda tavşanında gerçekleştirildi. Tavşanlara standart tavşan yemi ile ad libitum su verildi ve hayvanlar serbest hareket edecek şekilde barındırıldılar. Bu çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Çalışmada *Madreporaria* sp. genusuna ait koral kullanılmıştır. Bir koral parçası küçük parçalar halinde bölünerek granül haline getirilmiş ve uygun şekilde paketlenildikten sonra gama sterilizasyon yöntemi ile sterilize edilmiştir.

Demineralize kemik matriksinin putty (macun) formundaki steril hazır ticari preparatları (DBM-PUTTY, NBF-Netherlands Bone Bank Foundation, 1 cc) kullanılmıştır.

Koral+DBM ise greft materyallerinin operasyon esnasında eşit miktarlarda karıştırılması ile hazırlanmıştır.

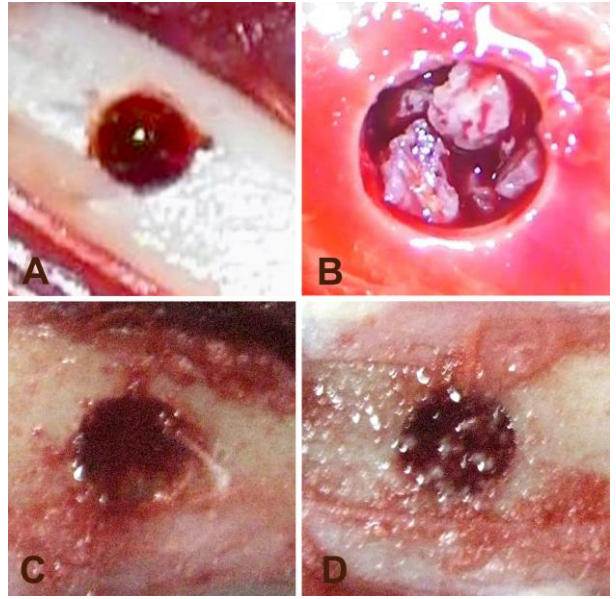
Anestezi için 5 mg/kg Xylazine hydrochloride'in (Rompun, Bayer, 23.32 mg/mL) intramusküler enjeksiyonundan 10 dakika sonra, 35 mg/kg Ketamin hydrochlorur (Ketalar, Parke-Davis, 50 mg/mL) intramusküler olarak enjekte edilmesi ile gerçekleştirildi.

Operasyon bölgesinin tıraşı ve %10'luk povidon iodine solüsyonu ile dezenfeksiyonundan sonra her iki tibianın proksimal medial yüzleri üzerinden tibia'ya ulaşıp periost ekarte edildi. Daha sonra her bir tibia da bir drill yardımıyla 3.5 mm çapında 2 adet unikortikal kemik defekti oluşturuldu. Böylece her bir tavşanda 4 adet olmak üzere toplam 48 adet kemik defekti elde edildi. Her bir grupta 12 adet defekt olacak şekilde, birinci grup defektler boş bırakılırken (kontrol grubu) (Şekil 1A), diğer kemik defektleri sırasıyla koral (Şekil 1B), DBM (Şekil 1C) ve koral+DBM (Şekil 1D) ile dolduruldu. Operasyon yaraları cerrahi kurallara uygun şekilde kapatılarak bir pansuman ile kapatıldı ve tavşanlara günde bir kez 400.000 IU prokain penisilin 5 gün süre ile uygulandı.

Operasyon sonrası, 30. ve 60. günlerde defekt bölgelerinin radyografileri alınarak kemik iyileşmesinin durumu incelendi. Daha sonra 30 ve 60 günlük izleme sürelerini tamamlayan tavşanlardan altışar adedi ötenazi edilerek tibiaları alındı. Makroskobik muayeneleri gerçekleştirilen tibialardan alınan kemik örnekleri %10'luk formalin solüsyonuna konularak tespit edildi. Örnekler dekalsifiye edilip rutin işlemlerden geçirildikten sonra Hematoksilin-eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Bulgular

Operasyonların yapılması, tavşanların anestezi ve anesteziden uyanması sırasında herhangi bir komplikasyonla karşılaşmadı. Greft materyalleri defektlere kolaylıkla yerleştirildi. Deri dikişleri 10. günde alındı ve operasyon yaralarının komplikasyonsuz iyileştiği gözlemlendi.



Şekil 1. Kemik defektlerinin postoperatif görünüşleri. **A.** Kontrol, **B.** Koral, **C.** Demineralize kemik matriksi (DBM), **D.** Koral+DBM uygulanan defektler

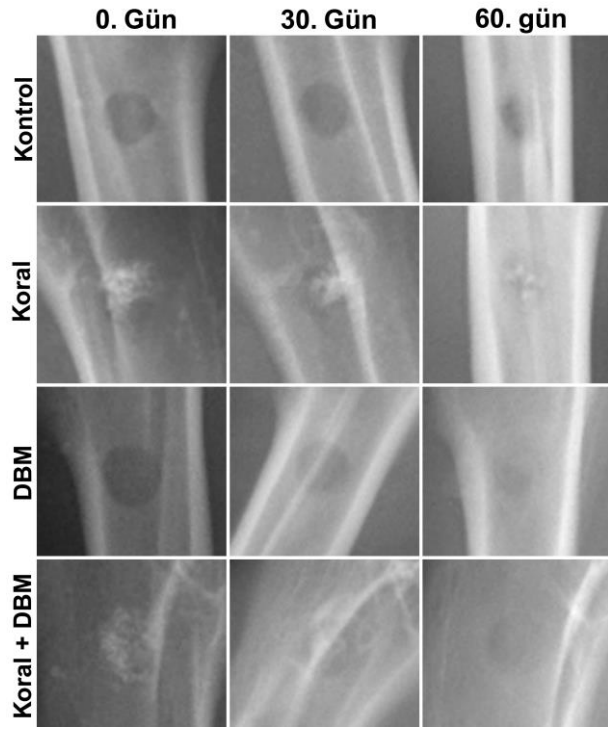
Operasyondan hemen sonra alınan radyografilerde kontrol grubundaki defektler açıkça gözlenebilirken, koral uygulanan defektlerin içindeki koral granülleri net bir şekilde belirlenebiliyordu. DBM grubunda greftlerin belirgin olduğu, bununla birlikte greftin normal kemik dansitesinden daha az yoğun olduğu gözlemlendi. Koral+DBM grubunda ise defektlere yerleştirilen koral granülleri belirgin şekilde gözlenebiliyordu (Şekil 2).

Otuzuncu günde alınan radyografilerde kontrol grubu defektlerinin açıkça gözlemlendiği, hafif bir yeni kemik aktivitesi görülse de defektin %25'ten azının dolduğu tespit edildi. Koral uygulanan defektlerde yeni kemik oluşumunun defektin %50'sini doldurduğu gözlemlenirken, koral granüllerinin rezorpsiyona uğramasıyla birlikte henüz rezorbe olmamış koral partikülleri de belirlendi. Yeni kemik oluşumunun DBM uygulanan defektlerin yaklaşık olarak %25-50'sini doldurduğu belirlendi. Koral+DBM grubunda koral granüllerinin rezorbe edilmeye başlanmasıyla birlikte koral granüllerinin radyodens yoğunluğunun azalan radyolüsent kontrasta dönüştüğü belirlendi. Yeni kemik oluşumunun koral+DBM grubunda defektlerin yaklaşık %25-50'sini doldurduğu gözlemlendi.

Altmışıncı günde alınan radyografilerde kontrol grubu defektlerinde yeni kemik oluşumunun devam ettiği görülmekle beraber hiçbir defektin kapanmadığı izlenmiştir. Bu dönemde oluşan yeni kemik formasyonu defektlerin %25-50'sini doldurmaktaydı. Koral grubu defektlerinde koral granülleri yer yer belirgindi. Bununla birlikte koral granüllerinin rezorpsiyonunun devam ettiği, granüllerin yoğunluğu azalmakla birlikte hiçbir defektte tam rezorpsiyonun bulunmadığı saptandı. Yeni kemik formasyonu defektlerin %75-100'ünü doldurmaktaydı. DBM grubu defektlerinde defekt bölgesinin

dansitesindeki artışla birlikte üç adet olguda defektler net olarak gözlenebiliyordu. Bu dönemde oluşan kemik formasyonu defektlerin %50-75'ini doldurmaktaydı. Koral+DBM grubunda, koral granüllerindeki rezorpsiyonun giderek artmasıyla birlikte radyodens yoğunluklarının azaldığı ve yeni oluşan kemik formasyonunun defektlerin yaklaşık %75'ini doldurduğu belirlendi.

Makroskopik incelemelerde, 30. günde kontrol grubuna ait defektlerin kapanmadığı, diğer gruplarda defektlerin çapında azalma olduğu gözlenirken, 60. günde geçen zamanla ilişkili olarak tüm gruplarda defekt çaplarında azalma saptandı. Koral ve koral+DBM gruplarında bazı defektlerde koral granüllerinin hala gözlenebildiği belirlendi. Defekt çapında gözlenen en hızlı azalmanın koral grubunda olduğu dikkati çekti.



Şekil 2. Defekt bölgelerinin radyografik görünümü. DBM= Demineralize kemik matrisi

Otuzuncu günde kontrol grubu defektlerinde kapillar damarlardan zengin granülasyon dokusu oluşumu ve çok az olarak yeni kemik doku gelişiminin şekillenmiş olduğu gözlemlendi. Koral grubunda defekt bölgesinin kısmen fibröz doku ile doldurulduğu, bu alanlarda kırık doku ve kemik oluşumlarının bulunmadığı dikkati çekti. Yeni kemik oluşumlarının greft materyali çevresinde başlamış olduğu gözlemlendi. DBM grubunda 30 günlük defekt alanlarının fibröz kallus ile doldurulduğu ek olarak bu doku içerisinde damar gelişimini izleyen kırık doku oluşumlarının başlamış olduğu gözlemlendi. Kemik iliğindeki greft materyaline karşı şiddetli derecede hücresel yanıt ve hemoraji şekillendiği dikkati çekti. Koral+DBM grubunda 30. günde defekt bölgesinin büyük bir kısmının fibröz

kallus ile doldurulmuş olduğu dikkati çekti. DBM greft çevresinde granülasyon dokusu daha baskın gözlenirken koral greft çevresinde spiküler tarzda yeni kemik oluşumları dikkati çekti. Mononükleer hücre infiltrasyonlarına özellikle DBM greft materyali çevresinde rastlandı.

Altmış günlük kontrol grubunda kapillar damarlardan zengin fibröz kallus içerisinde zayıf şiddette kırık doku oluşumları ve spiküler tarzda primer kemik doku oluşumları mevcuttu. Koral uygulanan 60 günlük grupta defekt bölgesinin tam olarak kırık doku ve trabeküler tarzda primer kemik doku ile doldurulduğu gözlemlendi. DBM grubunda 60. günde fibröz kallusun yerini immatür kemik dokunun aldığı, kemik iliğindeki şiddetli yangısal değişimlerin yerini fibröz dokunun aldığı ve bu dokunun greft materyalinin etrafını sardığı izlendi. Graft materyalinden kompakt kemiğe doğru yeni kemik oluşumlarının olduğu gözlemlendi. Koral+DBM uygulanan grupta 60. günde defekt bölgesinin ince bir tabaka halinde immatür kemik ile kapatılmış olduğu gözlemlendi. Kemik iliğindeki DBM greftine karşı gelişen hücresel reaksiyonun 30. güne oranla daha hafif şiddette olduğu saptandı. Otuz ve 60. gündeki histolojik görüntüler Şekil 3' te verilmiştir.

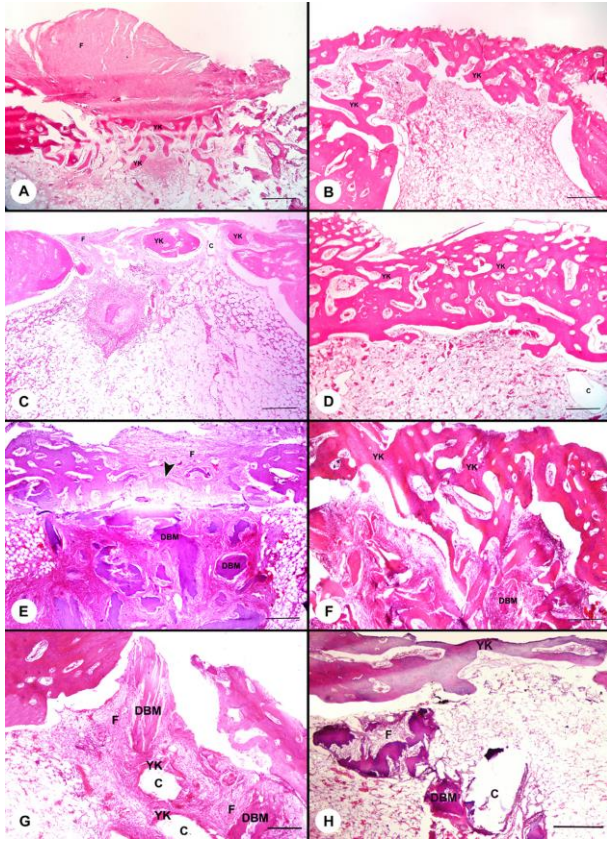
Tartışma

Kemik grefti kullanımındaki amaç kemik defektini doldurmak olduğu kadar greftlerin osteogenezisi başlatması ile birlikte osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerinden de yararlanmaktır. Otojen greftlerin osteojenik özelliklere sahip olması gibi avantajları bulunmasına rağmen bazı dezavantajları nedeniyle alternatif greftlerin araştırılmasına devam edilmektedir (1-3, 15-17).

Osteoindüktif greft materyallerinin osteokondüktif materyaller ile birlikte kullanıldığı çalışmalar kaynaklarda yer almaktadır (5, 6, 18, 19). Sunulan bu çalışmada, osteoindüktif bir greft materyali olan DBM ile osteokondüktif bir greft materyali olan koral'in tek başına ve kombinasyon halinde kullanılarak elde edilen bulguların tartışılması amaçlanmıştır.

Tavşanların genel anestezisi için Xylazine hydrochloride ve Ketamin hydrochlorur'un değişik dozları önerilmektedir (3, 6, 20). Bu çalışmada anestezi için intramusküler olarak 5 mg/kg Xylazine hydrochloride ve 35 mg/kg Ketamin hydrochlorur kullanılmıştır ve operasyonun yapılması ve tavşanların anesteziden uyanması sırasında herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmasıdır.

Kemik defektlerinin büyüklüğü kemik iyileşmesini önemli ölçüde etkilemektedir. Deneysel çalışmalarda kullanılacak greft materyallerinin osteojenik kapasitelerinin tam olarak değerlendirilebilmesi için oluşturulacak kemik defektlerinin kendiliğinden iyileşemeyecek boyutlarda olması önemlidir. Kritik Boyut Defekti (KBD) olarak isimlendirilen bu defektler deneysel çalışmalarda çalışma süresince iyileşemeyen defektleri ifade etmektedir (21).



Şekil 3. Kemik defektlerinin 30. ve 60. günlerdeki histolojik görünümleri. **A.** Kontrol grubu 30. gün, **B.** Kontrol grubu 60. gün, **C.** Koral grubu 30. gün, **D.** Koral grubu 60. gün, **E.** DBM grubu 30. gün, **F.** DBM grubu 60. gün, **G.** DBM+Koral grubu 30. gün, **H.** DBM+Koral grubu 60. gün. F = Fibröz doku, Ok başı = Kıkırdak doku, C = Koral, DBM = Demineralize kemik matrisi, YK = Yeni kemik. Kontrol, Koral ve DBM grupları için H-E Bar = 500 µ; DBM+Koral grupları için H-E Bar = 200 µ

Kemik iyileşmesi ile ilgili tavşanlarda yapılan çalışmalarda 0.5-8 mm arasındaki değişik boyutlarda kemik defekt modellerinin oluşturulduğu bildirilmektedir. Bununla beraber defektlerin kemik diyafiz genişliğinden büyük, özellikle 4 mm ve daha büyük olduğu durumlarda istenmeyen kırıklar oluşabilmektedir (3, 21). Yapılan bu çalışmada tibia'da oluşturulan 3.5 mm'lik defektin 2 aylık çalışma süresi için KBD olduğu düşünülmüştür. Çalışmada kontrol defektlerinin hiç birinin kapanmaması da oluşturulan defekt boyutlarının KBD olduğunu desteklemektedir.

Kemik grefti olarak kullanılan materyalin özellikleri greftin rezorpsiyon oranını belirlemektedir. Greft rezorpsiyonu için partikül büyüklüğü ve yüzey pörözitesi önemlidir. Büyük boyutlu greftler daha geç rezorbe olurken pörözite arttıkça greft daha kolay rezorbe olmaktadır (1, 7).

Birbirleriyle bağlantılı por yapısına sahip olan mercanların por çaplarının en az 150 µm olması osteoblast ve vasküler yapıların invazyonu ve osteoit

gelişimini kolaylaştırmaktadır. Osteoklastlar osteokondüktif özelliğe sahip olan koralin rezorpsiyonunu sağlarken, osteoblastlar ise yeni kemik oluşumunu başlatırlar (1, 5, 8, 22).

Bu çalışmada kullanılan koralin 400-800 µm çapında birbiriyle bağlantılı por yapısına sahip, *Madreporaria* takımından *Madracis* sp olduğu bu haliyle kansellöz kemiğe benzediği ve kalsiyum karbonat ve aragonit kristal yapısında olduğu belirlendi. Çalışmada kullanılan koralin osteokondüktif özelliğe sahip olduğu, vaskülarizasyon ve hücre göçü için önemli avantaja sahip olduğu görülmektedir.

DBM'nin partikül formunun macun (putty) formuna göre uygulandığı bölgeye tutunma oranının düşük olduğu belirtilmektedir (9, 10). Bununla birlikte macun formundaki greft materyali defekt bölgesine kolayca uygulanabilmektedir. Yapılan bu çalışmada da oluşturulan defektlere DBM'nin macun şeklinin rahatlıkla uygulanabildiği ve defektlerin şeklini kolaylıkla aldığı, koral ile birlikte kullanıldığında ise macun şeklindeki DBM'nin koral granüllerinin bir arada tutulmasına da yardımcı olduğu gözlenmiştir.

Radyografik muayenelerde implantasyondan hemen sonra defekt içerisindeki koral yapısının gözlenebildiği, geçen zamana bağlı olarak koralin rezorpsiyona uğradığı bildirilmektedir (1, 8, 22). Yapılan bu çalışmada, implantasyondan hemen sonra alınan radyografilerde koral greftleri ve porlu yapıları açıkça gözlendi. Çalışmanın 30. ve 60. günlerinde alınan radyografilerde koral greftlerin rezorpsiyonlarına bağlı olarak sahip oldukları radyodens yoğunluklarının azalan radyolüsent kontrasta dönüşmesi ve koral porları içerisinde ve rezorpsiyon sahalarındaki yeni kemik oluşumuna bağlı radyolojik değişimlerin gözlenmesi araştırmacıların bulguları ile uyumluluk göstermektedir.

Kemik iyileşmesi üzerinde greftlerin etkilerinin incelenmesinde histolojik muayeneler önemli yer tutmaktadır. Kemik defektlerinin iyileşmesi ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda histolojik muayeneler için farklı izleme süreleri belirlenmiştir. Kemikleşme 1-2. haftalarda başlamakta, 6-8. haftalarda ise defektler reorganize olarak dolmaktadır (1, 22-26). Yapılan bu çalışmada histolojik muayeneler 4. ve 8. haftalarda gerçekleştirilmiştir.

Kemik greftleri alıcı bölgeye uygulandıktan belli bir süre sonra rezorbe edilerek yerini yeni oluşan kemik dokuya bırakmalıdır. Greftlerin yeni kemik oluşumundan sonra kemik matürasyonu için gerekli olan sürede rezorbe olması tercih edilmekle birlikte osteoindüktif özelliği yüksek olan greft materyallerinin yeni kemik oluşumunu artırarak kısa sürede yerini yeni kemiğe bırakması istenilen bir durumdur. Bu çalışmada koral implantların literatürlerle (1, 5, 8, 22) uyumlu bir şekilde, zamanla rezorbe edilerek yerini yeni kemik oluşumlarına bıraktığı, herhangi bir yabancı cisim reaksiyonuna yol açmadığı, inflamatuvar bir yanıt oluşturmadığı gözlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada kontrol grubunun 30. gündeki histolojik muayenesinde granülasyon dokusunun gözlenmesi ve 60. günde fibröz kallus içerisinde zayıf kırık dokü oluşumlarının bulunması ve defektlerin tam olarak dolmaması literatür verileri (19, 26) uyumluluk göstermektedir. Diğer gruplarda 30. ve 60. günlerde yeni kemik oluşumu kontrol grubuna göre daha iyi olarak izlenmiştir.

Kemik greftlerinin osteoindüktif özelliğe sahip olması kemik iyileşmesi için avantaj olarak değerlendirilmektedir. DBM'nin kemik oluşumunu indükleyici etkisinin bulunduğu bildirilmektedir (11-13, 27, 28). Yapılan deneysel bir çalışmada (14) bilateral segmental ulnar defektlerin onarımında DBM ve otojen kansellöz kemik grefti kullanılmış, DBM'nin otojen kansellöz kemiğe olan ihtiyacı azalttığı, bununla birlikte her ikisinin beraber kullanıldığı grupta iyileşmenin daha iyi olduğu bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada ise kemik defektlerinin onarımında koral ve DBM kullanılmış ancak bu greft materyallerinin tek başına veya birlikte halinde

kullanılması arasında radyolojik bir farklılık gözlenmemiştir.

DBM'nin yüksek oranda osteoindüktif potansiyele sahip olduğu, yeni kemik oluşumunu teşvik ettiği ve kansellöz kemik çipslerine tercih edilebileceği bildirilmiştir (28). Başka bir çalışmada (27), DBM kısa ve uzun dönemde kansellöz allogreftlerle karşılaştırılmış ve yeni kemik oluşumunu uyarmada daha anlamlı bulunmuştur. Khoshzaban ve ark. (29) ratların kranium defektlerinin onarımında DBM kullanmışlar ve olumlu sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. Khorsand ve ark. (30) ise DBM kullandıkları kranial defektlerdeki kemik iyileşmesinin iyi olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise Khorsand ve ark. (30)'nın bulguları ile uyumlu olarak, DBM kullanılan gruptaki defektlerdeki kemik iyileşmesinin memnuniyet verici olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, kemik defektlerinin onarım sürecinin hızlandırılması, zaman, iş gücü ve ekonomik kayıpların en aza indirilebilmesi için kemik defektlerinin onarımında koral ve DBM'nin kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Durmuş AS, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel maddi kayıplı femur kırıklarında koral ve spongyöz otogref uygulamalarının karşılaştırması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2001; 15: 101-112.
2. Sarsılmaz F, Orhan N, Unsaldı E, Durmus AS, Colakoglu N. A polyethylene-high proportion hydroxyapatite implant and its investigation in vivo. Acta Bioeng Biomech 2007; 9: 9-16.
3. Can HN, Durmuş AS. Trombositten zengin fibrin'in kemik iyileşmesi üzerine etkileri. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2015; 29: 91-95.
4. Emara SA, Gadallah SM, Sharshar AM. Evaluation of coral wedge and composite as bone graft substitutes to induce new bone formation in a dog tibial defect. J Am Sci 2013; 9: 526-537.
5. Meimandi Parizi A, Oryan A, Shafiei-Sarvestani Z, Bigham AS. Human platelet rich plasma plus Persian Gulf coral effects on experimental bone healing in rabbit model: Radiological, histological, macroscopical and biomechanical evaluation. J Mater Sci: Mater Med 2012; 23: 473-483.
6. Parizi AM, Oryan A, Shafiei-Sarvestani Z, Bigham AS. Human platelet rich plasma plus Persian Gulf coral effects on experimental bone healing in rabbit model: Radiological, histological, macroscopical and biomechanical evaluation. J Mater Sci Mater Med 2012; 23: 473-483.
7. Durmuş AS. Kemik grefti yerine doğal bir biyoseramik: Deniz mercanı. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2015; 29: 145-150.
8. Guillemin G, Patat L, Fournie Y, Chetail M. The use of coral as a bone graft substitute. J Biomed Mater Res 1987; 21: 557-567.
9. Babbush C. Histologic evaluation of human biopsies after dental augmentation with a demineralized bone matrix putty. Implant Dent 2003; 12: 325-332.
10. Bender S, Rogalski J, Mills M, et al. Evaluation of demineralized bone matrix paste and putty in periodontal intraosseous defects. J Periodontol 2005; 76: 768-777.
11. Bigham AS, Dehghani SN, Shafiei Z, Torabi Nezhad S. Experimental bone defect healing with xenogenic demineralized bone matrix and bovine fetal growth plate as a new xenograft: Radiological, histopathological and biomechanical evaluation. Cell Tissue Bank 2009; 10: 33-41.
12. Bigham AS, Dehghani SN, Shafiei Z, Torabi Nezhad S. Xenogenic demineralized bone matrix and fresh autogenous cortical bone effects on experimental bone healing: radiological, histopathological and biomechanical evaluation. Orthopaed Traumatol 2008; 9: 73-80.
13. Bigham AS, Shadkhast M, Bigham Sadegh A, et al. Evaluation of osteoinduction properties of the demineralized bovine foetal growth plate powder as a new xenogenic biomaterial in rat. Res Vet Sci 2011; 91: 306-310.
14. Özdemir MT, Çakır M. Repair of long bone defects with demineralized bone matrix and autogenous bone composite. Indian J Orthop 2011; 45: 226-230.
15. Günay C, Sağlıyan A, Ünsaldı E, Yaman M. Köpek diz eklemine deneysel oluşturulan osteokondral defektlerin otojen kansellöz greft ile onarılması. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2005; 19: 107-113.
16. Sağlıyan A, Karabulut E, Unsaldı E, Yaman I. Evaluation of the activity of intraarticular hyaluronic acid in the repair of experimentally induced osteochondral defects of the stifle joint in dogs. Vet Med-Czech 2009; 54: 33-40.
17. Sağlıyan A, Han MC, Karabulut E, Özkaraca M. Research of the effects of autologous cancellous bone graft and hyaluronic acid on the healing of bone defects experimentally induced in rabbits. Turk J Vet Anim Sci 2016; 40: 374-381.

18. Nandi SK, Kundu B, Mukherjee J, et al. Converted marine coral hydroxyapatite implants with growth factors: In vivo bone regeneration. *Mater Sci Eng C* 2015; 49: 816-823.
19. Yuan J, Cui L, Zhang WJ, Liu W, Cao Y. Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous β -tricalcium phosphate. *Biomaterials* 2007; 28: 1005-1013.
20. Kılıç N. A comparison between medetomidine-ketamine and xylazine-ketamine anaesthesia in rabbits. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 921-926.
21. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg* 1990; 1: 60-68.
22. Durmuş AS, Eröksüz H. Subkondral defektlerde otojen spongiyöz kemik grefti ve koral implant uygulamalarının karşılaştırılması: Köpek diz ekleminde deneysel çalışma. *Dođu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi* 2008; 6: 93-99.
23. Bulut S, Durmuş AS, Köm M, Çobanođlu B. Köpeklerde femur ve tibia diyafizinin deneysel maddi kayıplı kırıklarında ulna distalinin segmental kortikal otogref olarak kullanımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2001; 7: 77-85.
24. Durmuş AS, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel maddi kayıplı femur kırıklarında otojen fibular kemik grefti kullanımı. *Dođu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi* 2004; 2: 144-150.
25. Durmuş AS, Eröksüz Y. Local autogenous osteochondral graft applications: an experimental study in dogs knee joints. *Dođu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi* 2008; 6: 72-77.
26. Miyamoto I, Tsuboi Y, Takahashi K, Hyon SH, Iizuka T. Enhancement of bone volume in guided bone augmentation by cell transplants derived from periosteum: An experimental study in rabbit calvarium bone. *Clin Oral Impl Res* 2004; 15: 308-314.
27. Atay MH, Kaya B, Atay Ç, Arslan SG. Demineralize kemik matriksinin osteoindüktivitesini etkileyen etmenler. *Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Dergisi* 2005; 9: 48-52.
28. Atay MH, Yılmaz FR. İki farklı kemik greftinin histopatolojik olarak incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2005; 32: 172-178.
29. Khoshzaban A, Mehrzad S, Tavakoli V, et al. The comparative effectiveness of demineralized bone matrix, beta-tricalcium phosphate, and bovine-derived anorganic bone matrix on inflammation and bone formation using a paired calvarial defect model in rats. *Clin Cosmet Investig Dent* 2011; 3: 69-78.
30. Khorsand A, Rasouli Ghahroudi AAR, Motahhari P, et al. Histological evaluation of Accell Connexus® and Bio-Oss® on quality and rate of bone healing: a single blind experimental study on rabbit's calvarium. *J Dent (Tehran)* 2012; 9: 116-127.