



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2019; 33 (1): 25 - 30
http://www.fusabil.org

Dicle FIRAT ÖZTOPALAN^{1, a}
Ali Said DURMUŞ^{2, b}
Ali Osman ÇERİBAŞI^{3, c}

¹ Bağlar İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Diyarbakır, TÜRKİYE

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

³ Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0001-8053-1570

^b ORCID: 0000-0003-4873-5690

^c ORCID: 0000-0002-6096-4042

Geliş Tarihi : 22.03.2019

Kabul Tarihi : 21.04.2019

Yazışma Adresi Correspondence

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

asdurmus@firat.edu.tr

DeneySEL Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerinde Biyoaktif Cam ile Mineralize ve Demineralize Kemik Matriksinin Etkisi: Histolojik Bulgular*

Bu çalışmanın amacı, biyoaktif cam, mineralize kemik matriksi (MBM) ve demineralize kemik matriksi (DBM)'nin tavşanlarda kemik defektlerinin iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek ve histolojik bulguların karşılaştırılması sonucunda en iyi greft materyalini tespit etmektir.

Bu çalışmada 14 adet Yeni Zelanda tavşanı (erkek, 4-5 aylık) kullanıldı. Tavşanlar rastgele, 30 ve 60 günlük postoperatif takipleri yapılmak üzere 7'şer adetlik 2 gruba ayrıldı. Genel anestezi altında, tavşanların tibialarının proksimal metafizine yakın ikişer adet olmak üzere her tavşanda dört adet tibial defekt oluşturuldu. Oluşturulan 56 adet defektten 14 adedi boş bırakıldı (Kontrol grubu). Oluşturulan diğer kemik defektleri her bir grupta 14 adet olmak üzere sırasıyla biyoaktif cam, MBM ve DBM ile dolduruldu. Böylece, her tavşanda tüm greft grupları oluşturuldu.

Postoperatif 30. ve 60. günlerde tavşanlar sakrifiye edildikten sonra greft uygulanan bölgeleri içeren kemik bölümü alınarak histolojik kontrolleri gerçekleştirildi. Histolojik muayeneler biyoaktif cam grubundaki kemik iyileşmesinin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu gösterdi.

Sonuç olarak, biyoaktif camın kemik iyileşmesini anlamlı derecede artırdığı ve iyi bir greft materyali olarak güvenle kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kemik iyileşmesi, greft, biyoaktif cam, mineralize kemik matriksi, demineralize kemik matriksi

Effects of Bioactive Glass, Mineralized and Demineralized Bone Matrix on Healing of Experimentally Induced Bone Defects: Histological Findings

The aim of this study was to evaluate the effects of bioactive glass, mineralized bone matrix (MBM) and demineralized bone matrix (DBM) on the healing of bone defects in rabbits and to determine the best graft material by comparison of the histological findings.

Fourteen New Zealand rabbits (4-5-month old male) were used in this study. The rabbits were randomly divided into 2 main groups as 30 and 60 day postoperative follow-ups and each group contained 7 randomly selected rabbits. Under general anesthesia, a total of four defects, two on the proximal metaphysis of tibiae of each rabbits were created. Fourteen of 56 bone defects created were left empty (control group). The other bone defects were filled with bioactive glass, MBM and DBM, respectively (n=14 in each group). Thus, all graft groups were formed in each rabbit.

On the postoperative 30th and 60th days, the rabbits were sacrificed. The bone sections containing the grafted regions were taken and histological examinations performed. Histological examinations showed that bone healing in the bioactive glass group was better than the other groups.

Consequently, bioactive glass was observed to significantly increase bone healing, and it is believed that it can be used confidently as a graft material.

Key Words: Bone healing, graft, bioactive glass, mineralized bone matrix, demineralized bone matrix

Giriş

Biyoaktif cam, kemik grefti olarak kullanıldığında yeni kemik oluşumunu sağlamaktadır. Biyoaktif cam osteokondüktiftir, kemik oluşturan bir hücre ile temas ettiğinde kemik şekillenir. Biyoaktif camın sadece kemiğe temas ettiği yerde değil, tüm yüzeyinde kemik yapımı görülür (1). Biyoaktif cam hem hemostatik hem de bakteriyostatiktir ve ara yüzeydeki bakteri üremesini inhibe eder. Biyoaktif cam partikülleri yeni kemik doku proliferasyonunu hızlandırmaktadır (1, 2).

Mineralize kemik matriksinin (MBM) kemik greftlerine alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanıldığı, osteokondüktif olduğu, yeni kemik oluşumu için iskelet görevi gördüğü bildirilmektedir (3, 4).

Demineralize kemik matriksi (DBM) bir bakıma kemiğin organik matriksinin serbestleştirilmiş halidir. Demineralizasyon, kemik matriksinde bulunan osteoindüktif

* Bu çalışma ilk yazarın doktora tezinden özetlenmiş olup, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 114O711 proje numarası ile Hızlı Destek Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

proteinleri açığa çıkararak bunların osteogeneziste rol oynamalarını sağlar (5). DBM osteoindüktif etkisini uygulandığı yerde yeni kemik formasyonunu, kemik mineralizasyonunu, osteoblast ve diğer bir kısım hücreleri stimüle ederek gösterir (6-8). DBM osteoindüktif olmasının yanında, yapısındaki kollajen sayesinde hızla revaskülarize olan ve orta derecede osteokondüktif potansiyeli olan bir greft materyalidir (8, 9).

Bu çalışmada biyoaktif cam, MBM ve DBM'nin kemik iyileşmesini artırıcı etkilerinin olup olmadığının histolojik olarak karşılaştırmaları amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylanmıştır (17.09.2014 tarih, 177 numaralı kararı).

Çalışmada 14 adet Yeni Zelanda tavşanı (4-5 aylık erkek) kullanıldı. Tavşanlar rastgele ve her grupta 7 adet olacak şekilde 30 ve 60 günlük izleme süreleri olmak üzere 2 ana gruba ayrıldı.

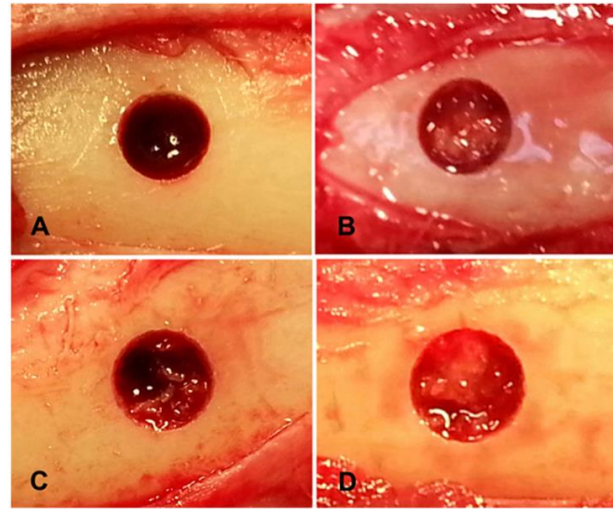
Anestezi için 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, 23.32 mg/mL) ve 35 mg/kg ketamin hidroklorür'ün (Ketalar, Parke-Davis, 50 mg/mL) kas içi enjeksiyonu ile gerçekleştirildi.

Rutin operasyon hazırlığından sonra sol ve sağ tibia proksimalinin medial yüzleri üzerinde derinin longitudinal ensizyonu ve kasların küt diseksiyonu sonrasında tibia açığa çıkarıldı. Periost ekarte edilerek, 3.5 mm çapındaki frezler ve tur motoru (mikromotor) yardımıyla aralarında 1 cm mesafe olacak şekilde 3.5 mm çapında medullar kanala ulaşan ikisi sağ ikisi sol tibiada toplam 4 adet unikortikal defekt oluşturuldu ve her hayvanda 4 adet, toplamda 56 adet kemik defekti elde edildi. Tavşanlardaki defektlerden biri kontrol grubu olmak üzere boş bırakıldı (Şekil 1A). Diğer defektler ise sırasıyla biyoaktif cam (Novabone Bioactive Synthetic Graft, Novabone putty, MTF, USA), (Şekil 1B), MBM (Biohorizons, Laddec Dental Bone Graft, 500 mg) (Şekil 1C) ve DBM (DBM putty, NBF-Netherlands Bone Bank Foundation, 1 cc) (Şekil 1D) ile dolduruldu. Operasyon bölgesi kurallara uygun olarak kapatıldı. Tavşanlara 5 gün süreyle 400.000 IU prokain penisilin kas içi uygulandı.

Postoperatif 30 ve 60 gün sonra 7 adet tavşan 30. günde, diğer 7 adedi ise 60. günde sakrifiye edilerek bölgelerini içeren kemik bölümü histolojik kontroller için alındı. Toplanan materyaller histolojik muayeneler için %10'luk tamponlu formalin solüsyonuna konularak 10 gün süreyle tespit edildi. Greft bölgesini içeren kemik örnekleri 12 hafta boyunca %10'luk etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) solüsyonunda dekalsifiye edildi. Solüsyon her hafta değiştirilerek kemik örneklerinde dekalsifikasyon kontrol edildi. Esneklik kazanan örnekler defekt bölgesi boyunca ikiye ayrılarak küçültme işlemi gerçekleştirildi. Bu sürenin sonunda 24 saat süre ile yıkamanın ardından doku örnekleri klasik işlemlerden geçirilip parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan 5 mđ kalınlığında alınan kesitler lamplara alındı. Kesitler

Hematoxylin-Eosin (10) yöntemine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Defektlerde oluşan kemik iyileşmesinin değerlendirmeleri modifiye histolojik skorlama kriterlerine göre gerçekleştirildi (Tablo 1) (11).

Histolojik skorlamaların istatistik değerlendirmelerinde SPSS (22.0 versiyonu) programı kullanıldı. Aynı hayvan üzerindeki kontrol, biyoaktif cam, MBM ve DBM grupları arasında karşılaştırmalar 30. günde non-parametrik Kruskal-WallisH testi, grup içi karşılaştırmalar ise Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. 60. günde gruplar arasındaki karşılaştırmalarda da yine aynı testler kullanıldı. Farklı hayvanlar üzerindeki her bir grubun 30. ve 60. günde grup içi karşılaştırmaları non-parametrik Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. Veriler \pm SEM değeri olarak sunuldu. $P < 0.05$ değeri önemli olarak kabul edildi.



Şekil 1. Operasyon sonrası kemik defektlerinin görünümü. **A)** Kontrol defekti, **B)** Biyoaktif cam, **C)** Mineralize kemik matriksi, **D)** Demineralize kemik matriksi uygulanan defektler.

Tablo 1. Defektlerdeki kemik iyileşmesinin histolojik skorlama parametreleri (11)

Parametre	Skor
Yalnız fibröz doku	1
Çok miktarda fibröz az miktarda kıkırdak doku	2
Baskın kıkırdak doku az miktarda fibröz doku	3
Baskın kıkırdak ve az miktarda trabeküler kemik doku	4
Eşit miktarda immatür kemik ve kıkırdak doku	5
Baskın trabeküler kemik ve az miktarda kıkırdak doku	6
Kompakt kemik doku	7

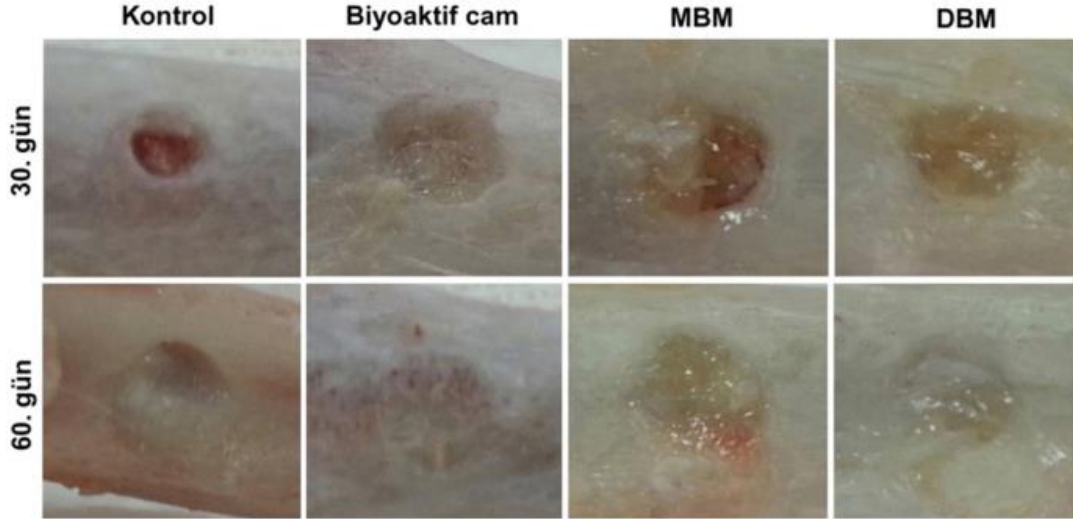
Bulgular

Makroskobik muayenelerde otuz günlük süre sonunda kontrol grubu ve MBM grubunda defektlerin tam olarak kapanmadığı görüldü. DBM grubunda defektlerin yeni kemik oluşumu ile dolmaya başladığı ancak bazı defektlerin merkezlerinde küçük boşlukların bulunduğu gözlemlendi. Biyoaktif cam kullanılan defektler

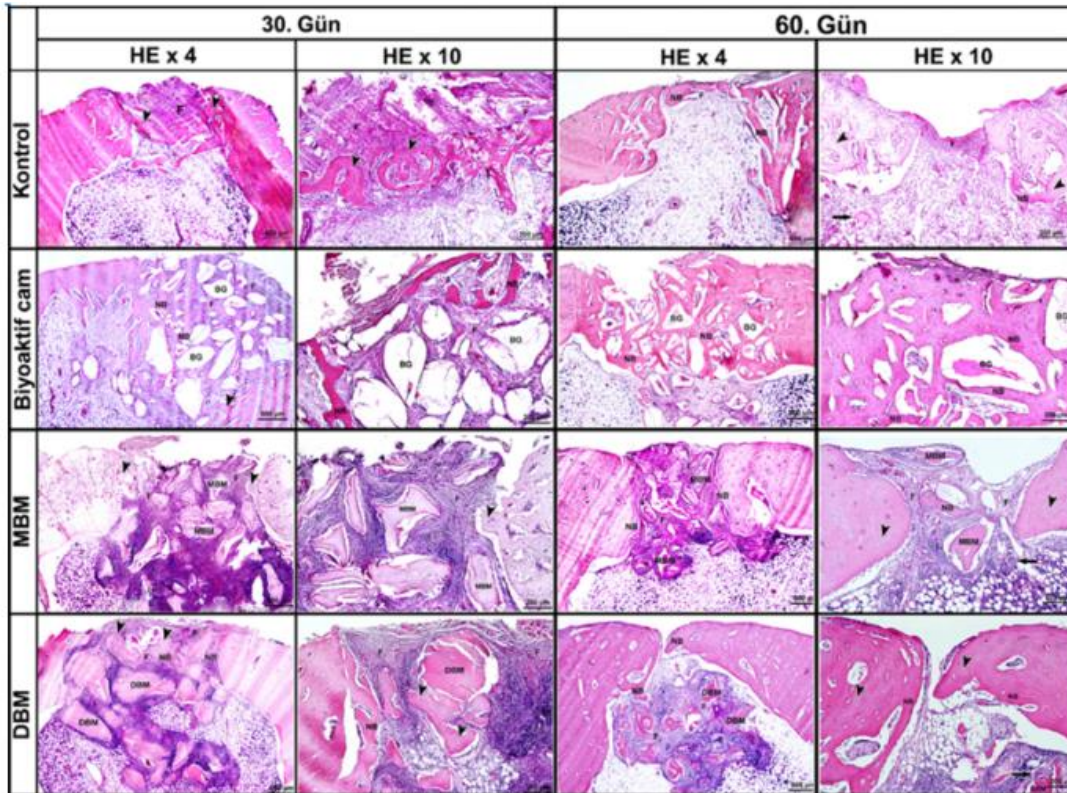
yeni kemik oluşumu ile dolarken, bazı olgularda defektlerin izleri gözleniyordu (Şekil 2). Altmış günlük süre sonunda ise kontrol ve MBM gruplarında defektlerin çaplarında azalma olduğu ancak tam olarak yeni kemik oluşumu ile doldurulmadığı belirlendi. DBM grubundaki üç adet defekt yeni kemik oluşumu ile tamamen dolarken, diğer defektlerin merkezinde ise yaklaşık

olarak 1 mm çapında boşluk bulunduğu gözlemlendi. Biyoaktif cam kullanılan defektlerin yeni kemik oluşumu ile tamamen doldurulduğu, ancak bazı defekt izlerinin hala belirlenebildiği dikkati çekti (Şekil 2).

Çalışma ile ilgili 30 ve 60. günlere ait histolojik bulgular Şekil 3 ve Tablo 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Defektlerin postoperatif 30. ve 60. günlerdeki makroskopik görünüşleri. MBM: Mineralize kemik matriksi, DBM: Demineralize kemik matriksi



Şekil 3. Gruplarda defekt bölgelerinin histolojik görünümü. BG: Biyoaktif cam, MBM: Mineralize kemik matriksi, DBM: Demineralize kemik matriksi, Ok başları: Kıkırdak doku, F: Fibröz doku, NB: Yeni kemik, I: Hücresel reaksiyon, Ok: Osteoklast.

Tablo 2. Modifiye histolojik skorlama kriterlerine (11) göre defektlerin 30. ve 60. günlerdeki değerlendirmeleri.

Gün	n	Kontrol	Biyoaktif cam	MBM	DBM	P
30	7	1.42±0.20 ^b	3.00±0.21 ^a	1.28±0.18 ^b	1.71±0.28 ^b	0.002
60	7	3.85±0.14 ^b	5.14±0.26 ^a	3.00±0.30 ^b	4.28±0.68 ^{ab}	0.008
P		0.001	0.001	0.003	0.006	

^{a,b} Aynı satırdaki gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Kontrol grubunda 30. günde defekt bölgesinin fibröz doku ile tam olarak kapandığı belirlendi. Bir kaç defekte ise fibröz kallus ile birlikte defekt kenarlarına komşu kısımlarda daha belirgin olmak üzere kıkırdak doku oluşumlarının bulunduğu gözlemlendi. Kıkırdak doku etrafında çok az miktarda spiküler tarzda kemik doku ve etrafında sıralanmış osteoblastların varlığı dikkati çekti.

Biyoaktif cam uygulanan tavşanlarda 30. günde defekt bölgesi fibröz kallus ile tam olarak kapanmıştı. Greft materyaline karşı gelişen hücrel reaksiyonun hemen hemen hiç oluşmadığı saptandı. Fibröz kallusa ek olarak greft materyalleri çevresinde şekillenmiş kıkırdak ve trabeküler tarzda yeni kemik doku oluşumlarına rastlandı. Bu kemik oluşumlarının etrafında çok sayıda osteoblastik hücrelerin yer aldığı gözlemlendi. Ancak belirgin bir greft rezorpsiyonuna rastlanmadı.

MBM grubunda 30. günde defektin sadece fibröz kallus ile doldurulduğu bu doku içerisinde DBM grubuna göre daha şiddetli lenfosit ve makrofajlardan oluşan hücrel reaksiyonun meydana geldiği, MBM parçacıkları etrafında henüz kıkırdak veya yeni kemik doku oluşumlarının başlamadığı dikkati çekti. Kemik iliğinde hemoraji baskın olan diğer bir değişimdi. MBM parçacıklarına karşı osteoklastik aktivitenin hiç başlamadığı ve materyal rezorpsiyonunun oluşmadığı belirlendi. Hafif düzeydeki yeni kemik doku oluşumlarına defekt sınırındaki kompakt kemik bölgesinde rastlandı.

DBM uygulanan tavşanlarda 30. günde defekt bölgelerinin fibröz kallus ile doldurulduğu ve bu doku içinde damar gelişimini izleyen kıkırdak ile çok az düzeyde yeni kemik doku oluşumlarının başladığı belirlendi. DBM parçacıklarına karşı osteoklastik aktivitenin hafif şiddette şekillendiği ve 30 günlük biyoaktif cam ve MBM gruplarına benzer şekilde bu grupta da materyal rezorpsiyonunun oluşmadığı belirlendi. Kemik iliğinde DBM'ye karşı şiddetli derecede lenfosit ve makrofajlardan oluşan hücrel yanıtın şekillendiği gözlemlendi.

Kontrol grubunda 60. günde defekt yüzeylerinin ince trabeküler tarzda kemik doku ile doldurulmuş olduğu gözlemlendi. Bazı örneklerde ise hala fibröz dokunun bulunduğu alanlar dikkati çekti.

Biyoaktif cam grubunda 60. günde tüm hayvanlarda defekt bölgelerinin büyük oranda trabeküler yeni kemik doku ile doldurulduğu gözlemlendi. Biyoaktif cam materyali çevresinde başlamış olan kuvvetli primer kemik doku oluşumlarının yer yer birleştiği, etrafında osteoblastik aktivitenin belirgin olduğu dikkati çekti. Yeni oluşan kemik doku içerisinde Havers kanallarının oluşmaya başladığı tespit edildi. Kemik iliğinde ve defekt bölgesindeki greft materyali rezorpsiyonunun çok az düzeyde olduğu, osteoklast hücrelerinin bulunmadığı ve

kompakt bir kemik oluşumunun meydana gelmediği saptandı.

MBM grubunda tüm örneklerde 60. günde bölgenin tam olarak vazkularizasyonu iyi, fibrositlerden zengin bağ doku ile kapandığı, kıkırdak doku oluşumu ile birlikte yer yer primer kemik doku oluşumlarının bulunduğu gözlemlendi. Materyal parçacıkları arasında iyi farklılaşmış trabeküler tarzda kemik doku oluşumları dikkati çekti. Bazı MBM greft materyallerinin kısmen rezorpsiyona uğradığı, bazı alanlarda ise osteoklastik aktivitenin belirgin olduğu saptandı. Hem fibröz kallus hem de kemik iliğinde, 30 günlük olgulardan daha hafif şiddette yangısal lenfosit infiltrasyonları mevcuttu. İyileşme bölgesindeki greft materyalleri çevresinde belirgin osteoblastik aktivite mevcuttu.

DBM grubunda 60. günde defekt onarımının tam olarak şekillenmediği tespit edildi. Bazı örneklerde defekt bölgesinde fibröz kallusun yerini immatür kemik dokusunun, kemik iliğindeki şiddetli yangısal değişimlerin yerini fibröz dokunun aldığı ve bu dokunun greft materyallerinin etrafını sardığı belirlendi. Yeni kemik oluşumlarının greft materyalinden kompakt kemiğe doğru oluştuğu gözlemlendi. Havers kanallarının kısmen yapıldığı ve yeni kemik iliği oluşumlarının oldukça iyi şekillendiği saptandı.

Tartışma

Ortopedinin önemli problemlerinden biri olan kemik defektlerinin onarımında kullanılan kemik greftlerinin yeni kemik oluşumundan sonra rezorbe olması ve yeni kemik oluşumunu artırarak yerini yeni kemiğe bırakması tercih edilmektedir (6, 12). Bu amaçla kemik greftleri ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir (8, 12-14).

Biyoaktif camın antibakteriyel ve hemostatik özelliklerinin kemikleşme üzerinde hızlandırıcı etkisinin olabileceği (2), enfekte dokuda bakteri artışını durdurduğu, kasten enfekte edilen olgularda bile kimyasal bağlanmanın etkilenmediği (1), cerrahi operasyonlar ve travmaya bağlı oluşan enflamatuvar yanıtı ve makrofaj aktivitesini minimize ettiği (15) bildirilmektedir. Ayrıca yeni kemikle doğrudan bağlantı sağladığı rapor edilmiştir (2, 16, 17).

Mineralize kemik greftlerinin kemiğe göre daha geniş bir iç yüzey ve poroziteye, kemik ile benzer kristal yapıya, elastikiyete, kimyasal bileşime ve kalsiyum/fosfor oranına sahip olduğu belirtilmiştir (18, 19). Hızlı bir rezorpsiyon ve replasman sağlamak ve otojen kemiğe alternatif sunmak amacıyla mineralize kemik grefti kullanıldığı çalışmalar bildirilmiştir (20).

DBM'nin otojen kemik grefti ile aynı hatta daha fazla osteoindüktif olduğu, kemik defektlerinin onarımında uygun bir materyal olduğu,

revaskülarizasyonu hızlandırdığı ve kırık iyileşmesini artırdığı bildirilmektedir (8, 21, 22). DBM'nin başka bir bireyden elde edilmesi dezavantaj olmakla birlikte herhangi bir olumsuzluk rapor edilmemiştir (22).

Tavşan tibia defekt modelinde defektlerin kemik diyafiz genişliğinden büyük olduğunda kırıkların meydana gelebildiği bildirilmektedir (7, 12). Yapılan bu çalışmada izleme süresince herhangi bir kırık gözlenmemesi 3.5 mm'lik unikortikal defektin uygun bir model olduğunu ortaya koymaktadır. Makroskopik değerlendirmelerde, kontrol defektlerinde gözlenen iyileşme yetersizliği defekt boyutlarının 2 aylık çalışma süresi için kritik büyüklükteki kemik defektleri olması ile açıklanabilir. Aynı zamanda histolojik değerlendirmelerden elde edilen bulgular da bu kanıyı güçlendirmektedir.

Kemik greftleri ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sürelerde histolojik muayeneler gerçekleştirilmiştir (12, 13). Ototogreft, hidroksiapatit ve yüksek derecede saflaştırılmış sığır ksenogreftinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (23) ilk ayda trabeküler kemik oluşumunun gözlemlendiği, 6. ayda epifizal yapının tamamen tamir edildiği bildirilmiştir. Kemikleşmenin 1. ve 2. haftalarda başlayıp, 6. ve 8. haftalarda ise defektlerin reorganize olduğu bilindiğinden (24), sunulan bu çalışmada histolojik muayenelerin 30. ve 60. günlerde gerçekleştirilmesi uygun bulunmuştur.

Kontrol grubunda defekt bölgesinin 30. günde fibröz doku ile doldurulması ve 60. günde ise ince trabeküler kemikle birlikte bazı olgularda fibröz dokunun hala varlığını devam ettirmesi daha önceki raporlarla (25) benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada biyoaktif cam grubunda greft materyaline karşı gelişen hücresel reaksiyonun hemen hemen hiç oluşmaması, biyoaktif camın enflamatuvar yanıtı ve makrofağ aktivitesini minimize ettiğini bildiren çalışmalarla (15) uyumluluk göstermektedir. Ayrıca biyoaktif cam grubunda 30. günde belirgin greft rezorpsiyonunun gözlenmemesi, biyoaktif camların biyobozonumlarının genelde yavaş olarak gerçekleştiğini bildiren çalışmalarla da (26) paralellik göstermektedir.

Kobayashi ve ark. (27) koyunlarda L3, L4 ve L5 vertebra gövdelerinde oluşturdukları defekt modelinde biyoaktif cam, biyoaktif cam+otojen kansellöz kemik grefti ve kontrol gruplarından oluşan çalışma sonucunda her üç grup arasında da anlamlı bir farklılık gözlemediklerini bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise Kobayashi ve ark. (27)'nin bildirdiklerinden farklı olarak otuzuncu günde yapılan histolojik muayenelerde biyoaktif cam uygulanan defektlerdeki iyileşmenin diğer gruplardan daha iyi olduğu anlaşılmaktadır ($P<0.002$). Altmışıncı günde histolojik değerlendirmelerde ise biyoaktif cam uygulanan defektlerdeki iyileşmenin kontrol grubu ve MBM uygulanan defektlerdeki iyileşmeye göre daha iyi olduğu gözlenirken ($P<0.008$), DBM grubundaki iyileşme ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

MBM uygulanan defektlerde greft rezorpsiyonunun gözlenmediği (28) veya az miktarda rezorpsiyon gözlemlendiği (29) bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada ise 30 günlük histolojik incelemelerde mineralize kemik

greftlerinde rezorpsiyonun oluşmadığı, 60. günde ise greft materyallerinin kısmen rezorpsiyona uğradığı gözlenmiştir.

Histolojik incelemelerde 30. günde MBM uygulanan grupta kemik defektleri sadece fibröz kallus ile doldurulmuş, tüm örneklerde 60. günde bölge tam olarak fibrositlerden zengin bağ doku ile kapanmış, kırık doku oluşumu ile birlikte yer yer primer kemik doku oluşumları bulunmuştur. Bununla birlikte iyileşme bakımından MBM grubu ile kontrol ve DBM grupları arasında hem 30. günde hem de 60. günde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Biyoaktif cam grubuna göre MBM grubundaki iyileşmenin hem 30. günde ($P<0.002$) hem de 60. günde ($P<0.008$) daha az gerçekleştiği gözlenmiştir.

DBM uygulanan bir çalışmada (7), 1. ayda histolojik bulgular defekt alanlarının fibröz kallus ile dolduğunu, 2. ayda ise yerini immatür kemik dokunun aldığı kaydedilmiştir. Clokie ve ark. (21) kritik boyutta kranial kemik defektlerini DBM ile greftlediklerinde, 6. hafta sonunda belirgin oranda kemikleşmenin ve kemik iliği oluşumunun gerçekleştiğini, 12. hafta sonunda ise büyük oranda kemik onarımının tamamlandığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada DBM uygulanan grupların 30. günde histolojik kesitlerinde defekt alanlarının fibröz kallus ile dolması, kırık doku ve çok az düzeyde yeni kemik doku oluşumlarının başlaması ve 60. günde histolojik kesitlerde ise defekt onarımının tam olarak şekillenmemesi literatür verileri (7, 25) benzerlik göstermektedir. DBM ile yapılan bir çalışmada (30) kranium defektlerinde uygulamasında olumlu sonuç alındığı bildirilirken, bazı çalışmalarda (7, 31) ise sonuçların memnuniyet verici olmadığı bildirilmiştir.

Sunulan bu çalışmada kullanılan greft materyallerinin daha önce yapılan çalışmalarda (7, 9, 13, 32) gibi zamanla rezorbe edildiği, ancak tam rezorpsiyonun hiçbir greft materyalinde oluşmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte kullanılan greft materyallerinin yabancı cisim reaksiyonuna neden olmadığı ve yangısal bir yanıt oluşturmadığı belirlenmiştir.

Histolojik bulguların 30. ve 60. günlerde grupların kendi içlerinde yapılan karşılaştırmalarındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Histolojik bulguların anlamlılığı kontrol, biyoaktif cam, MBM ve DBM gruplarında sırasıyla $P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.003$ ve $P<0.006$ olarak saptanmıştır. Elde edilen veriler tüm gruplarda ilerleyen zamana bağlı olarak defektlerde oluşan kemik iyileşmesinde artış kaydedildiğini göstermektedir. Bu çalışma 2 aylık bir in-vivo dönemi kapsadığı için oluşan değişimler bu süreçle sınırlı kalmıştır.

Sonuç olarak, elde edilen bulguların genel değerlendirilmesi yapıldığında, kemik defektlerinin iyileşmesinin hızlandırılmasında biyoaktif camın iyi bir greft materyali olduğu kanısına varılmıştır. Bununla birlikte kullanılan greft materyallerinin tamamen rezorpsiyonunun gerçekleşebileceği daha uzun süreli in-vivo çalışmaların yapılması ile bu greft materyallerinin uzun dönemdeki kemik iyileşmesine olan katkılarının daha iyi anlaşılacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Özsoy S. Biyoseramikler: Hydroxyapatit biocam. Veteriner Cerrahi Dergisi 1996; 2: 10-13.
2. Sakallıoğlu U, Yavuz Ü. İnterproksimal kemikiçi defektlerin rekonstrüksiyonunda biyoaktif cam içerikli alloplastların etkinliğinin incelenmesi. Hacettepe Üni Diş Hek Fak Derg 2006; 30: 17-24.
3. 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.
4. Leonetti JA, Koup R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: Case report. Implant Dent 2003; 12: 217-226.
5. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. J Bone Joint Surg Am 2002; 84A: 454-464.
6. Fırat Öztöpalan D, Durmuş AS. Biyoaktif cam ile mineralize ve demineralize kemik matriksinin kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin radyolojik olarak karşılaştırılması. F Ü Sağ Bil Vet Derg 2018; 32: 1-5.
7. Durmuş AS, eribaşı AO, Can HN. Koral ve demineralize kemik matriksinin kemik iyileşmesi üzerine etkileri. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2016; 30: 131-136.
8. Atay MH, Kaya B, Atay , Arslan SG. Demineralize kemik matriksinin osteoindüktivitesini etkileyen etmenler. Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Dergisi 2005; 9: 48-52.
9. Kawcak CE, Trotter GW, Powers BE, et al. Comparison of bone healing demineralized bone matrix and autogenous cancellous bone in horses. Vet Surg 2000; 29: 218-226.
10. Luna LG. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition, Newyork: Blakiston Division, McGraw-Hill, 1968.
11. Emery SE, Fuller DA, Stevenson S. Ceramic anterior spinal fusion. Biologic and biomechanical comparison in a canine model. Spine 1996; 21: 2173-2719.
12. Durmuş AS, Can HN. Trombositten zengin fibrinin kemik iyileşmesi üzerine etkileri. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2015; 29: 91-95.
13. Durmuş AS, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel maddi kayıplı femur kırıklarında koral ve spongiyöz otogref uygulamalarının karşılaştırması. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2001; 15: 101-112.
14. Durmuş AS. Kemik grefti yerine doğal bir biyoseramik: Deniz mercanı. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2015; 29: 145-150.
15. Sudağıdan M. Test of Biomaterials in Biological Systems (Fullfillment Disserrtation). Master of Science, İzmir: İzmir Institute of Technology, 2001.
16. Ceyhan T, Günay V, apaoğlu A, Sayrak H, Karaca . Production and characterization of a glass-ceramic biomaterial and in vitro and in vivo evaluation of its biological effects. Acta Orthop Traumatol Turc 2007; 41: 307-313.
17. Abdel Salam G, Ali AM, Ahmed OF, Ali IS. Histological study of the effect of bioactive glass on tibial bone repair in rats. International Journal of Clinical and Developmental Anatomy 2015; 1: 13-21.
18. Kasabah S, Simunek A, Krug J, Lecaro MC. Maxillary sinus augmentation with deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and impladent dental implant system. Part II. Evaluation of deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and implant surface. Acta Medica 2002; 45: 167-71.
19. Stephan EB, Jiang D, Lynch S, Bush P, Dziak R. Anorganic bovine bone supports osteoblastic cell attachment and proliferation. J Periodontol 1999; 70: 364-369.
20. Noubbissi SS, Lozada JL, Boyne PJ et al. Clinical, histologic and histomorphometric evaluation of mineralized solvent-dehydrated bone allograft (Puros) in human maxillary sinus grafts. J Oral Implantol 2005; 31: 171-179.
21. Clokie CM, Moghadam H, Jackson MT, Sandor GK. Closure of critical sized defects with allogenic and alloplastic bone substitutes. J Craniofac Surg 2002; 13: 111-121.
22. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. J Oral Maxillofac Surg 2002; 60: 1018-1025.
23. Chappard D, Zhioua A, Grizon F, Basle MF, Rebel A. Biomaterials for bone filling: comparisons between autograft, hydroxyapatite and one highly purified bovine xenograft. Bull Assoc Anat 1993; 77: 59-65.
24. Dumas A, Moreau MF, Gherardi RK, Basle MF, Chappard D. Bone grafts cultured with bone marrow stromal cells for the repair of critical bone defects: an experimental study in mice. J Biomed Mater Res A 2009; 90: 1218-1229.
25. Yuan J, Cui L, Zhang WJ, Liu W, Cao Y. Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous b-tricalcium phosphate. Biomaterials 2007; 28: 1005-1013.
26. Kumar C. Nanoscale bioactive silicate glasses in biomedical applications. In: Nanostructured Oxides. Wiley-VCH 2009: 203-216.
27. Kobayashi H, Turner AS, Seim HB, Kawamoto T, Bauer TW. Evaluation of a silica-containing bone graft substitute in a vertebral defect model. J Biomed Mater Res A 2010; 92: 596-603.
28. Valentini P, Abensur D, Densari D, Graziani JN, Hammerle C. Histological evaluation of Bio-Oss® in a 2 stage sinus floor elevation and implantation procedure. Clin Oral Implants Res 1998; 9: 59-64.
29. Merx M, Maltha J, Freihofer H, Kuijpers-Jagtman A. Incorporation of particulated bone implants in the facial skeleton. Biomaterials 1999; 20: 2029-2035.
30. 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 2012; 3: 69-78.
31. Khorsand A, Rasouli Ghahroudi AAR, Motahhari P, Rezaei Rad M, Soleimani Shayesteh Y. 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.
32. Durmuş AS, Eröksüz H. Subkondral defektlerde otojen spongiyöz kemik grefti ve koral implant uygulamalarının karşılaştırılması: köpek diz eklemine deneysel alışma. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi 2008; 6: 93-99.