



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**OTOKLAVİZASYON, PASTÖRİZASYON YÖNTEMLERİNİN KEMİK
KAYNAMASINA ETKİSİ**

Dr. Recep VURAL

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2006



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OTOKLAVİZASYON, PASTÖRİZASYON YÖNTEMLERİNİN KEMİK
KAYNAMASINA ETKİSİ**

Dr. Recep VURAL

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ufuk AYDINLI

BURSA - 2006

İÇİNDEKİLER

SAYFA

İÇİNDEKİLER.....	i
TÜRKÇE ÖZET.....	ii
İNGİLİZCE ÖZET.....	iv
GİRİŞ.....	1
GEREÇ VE YÖNTEM.....	12
BULGULAR.....	19
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	26
KAYNAKLAR.....	30
TEŞEKKÜR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	36

ÖZET

Günümüzde kemik tümörlerinin tedavisinde radikal rezeksiyon ön plandadır. Ancak radikal rezeksiyon sonrası meydana gelen kemik kayıplarının yeniden doldurulması önemli cerrahi sorunlardan bir tanesidir. Çıkarılan tümörlü kemikten tümör hücrelerinin uzaklaştırılıp yeniden kullanılması fikri son yıllarda üzerinde birçok araştırma yapılan konudur. Çıkarılan tümörlü kemik; Radyasyon, Likit Nitrojen, Otoklavizasyon (120 C⁰) işlemlerine tabi tutularak tümör hücrelerinden arındırılmaktadır. Bu işlemlerle tümör hücreleri yok edildiği gibi kemik kaynamasını sağlayacak olan, kemik yapım hücrelerinin de ortadan kalkması adı geçen yöntemlerin olumsuz yönüdür. Son yıllarda literatürde az sayıda yer almakla birlikte Pastörizasyon yöntemi (60 C⁰) ile de tümör hücrelerinin ortamdaki uzaklaştırıldığı ancak kemik yapım hücrelerinin korunduğu ileri sürülmektedir. Planladığımız bu çalışmadaki amacımız; yukarıda bahsi geçen yöntemlerden Otoklavizasyon ile Pastörizasyon arasında kemik kaynamasına etki açısından bir fark olup olmadığının deneysel olarak araştırılmasıdır.

Deneysel çalışma, 25 adet erkek Yeni Zelanda cinsi tavşanlardan rasgele seçilerek oluşturulan üç grupta gerçekleştirildi. Ulna diafizinin orta 1/3'ünden yaklaşık 20mm'lik kemik, kemik kesici ile proksimal ve distalden kesilerek çıkarıldı. Birinci grup Kontrol grubu olarak oluşturuldu. Bu gruptaki 5 tavşanın sağ ulnalarından çıkarılan 20mm'lik kemik blok hiçbir işleme tabi tutulmadı. İkinci gruptaki 10 adet tavşanın sağ ulnalarından çıkarılan kemik bloklar Otoklavizasyon işlemine (120 C⁰'de 20 dk., oda ısısında 15 dk., serum fizyolojik içerisinde 15 dk.) tabi tutuldu. Üçüncü grupta ise 10 adet tavşanın sağ ulnalarından çıkarılan kemik bloklar Pastörizasyon işlemine (60 C⁰'de serum fizyolojik içinde 30 dk., oda ısısında 15 dk., serum fizyolojik içerisinde 15 dk.) tabi tutuldu. Her üç grupta da kemik bloklar daha sonra yerlerine yerleştirilerek intramedullar K-teli ile fikse edildiler. Gruplar histolojik ve radyolojik incelenerek, birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Sonuçların istatistiksel analizlerinde; Heiple'nin histolojik değerlendirme skorlarına göre proksimal uç için grup 1-2-3 ve distal uç için grup 1-2, grup 2-3 arasında ki fark anlamlı bulundu ($p<0.05$), grup 1-3 arasında ki fark ise anlamsızdı ($p>0.05$); üçüncü hafta radyolojik skorlarında proksimal uç için gruplar arasında fark saptanmadı ($p>0.05$), distal uç için grup 1-2 ve grup 2-3 arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$), grup 1-3 arasında ise anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$); altıncı hafta radyolojik skorlarında proksimal ve distal uç için gruplar arasında fark saptanmadı ($p>0.05$). Altıncı hafta sonunda her ne kadar radyolojik olarak gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanamasa da histolojik olarak kaynamanın grup 3 de grup 2 den üstün olduğu gösterilmiştir.

Ortopedik tümör cerrahisinde tümörlü kemik dokunun uzaklaştırılması sonrası oluşan kemik boşluğun yeniden oluşturulması ekstremitte koruyucu yaklaşım ve ekstremitte fonksiyonları açısından önem arz eder. Hastanın çıkarılan kemik dokusuna uygulanan işlemler, tümörlü hücreleri tamamen ortadan kaldırmalı ve kemiğin biyolojik ve mekanik özelliklerini korumalıdır.

Sonuç olarak; çıkarılan kemik dokusunun Pastörizasyon işlemine tabi tutulması, bu deneysel çalışmada histolojik olarak üstünlüğü gösterildiği gibi kemiğin kaynama özelliklerini koruması nedeniyle kullanılabilircek daha iyi yöntem olduğu kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Kemik tümörü; Cerrahi tedavi; Otoklavizasyon; Pastörizasyon; Kemik kaynama.

SUMMARY

THE EFFECT OF AUTOCLAVIZATION AND PASTEURIZATION ON BONE HEALING

Today, radical resection is foremost important issue in the treatment of bone tumors. However, filling the bone defects after radical resection is one of the most important surgical problems. The idea of re-implantation of removed bone after being cleared of tumoral tissues came to mind during recent years in several investigations. For this purpose, radiation, liquid nitrogen, autoclavization (120 C⁰) is applied to the resected bone tissues to remove the tumoral tissues from them. With those techniques, the tumoral tissues are removed but the disadvantage is that they have a negative effect on bone-producing cells that are involved in healing the bone. Few studies in the literature in recent years stated that pasteurization method (60 C⁰) preserved biological characteristics of the bone while removing tumor cells. Our study is an experimental study in which we planned to compare the autoclavization and pasteurization effects on bone healing.

The experiment construct consisted of 25 New Zealand male rabbits which were randomly distributed to 3 groups. About 20 mm portion of the bone was removed from the 1/3 of middle part of ulna, in all animals. Group 1 was designated as the control group. In 5 rabbits of group 1, the removed 20 mm bone block replaced in its place without undergoing any process. Group 2, autoclavization was performed to osteotomized bones before re-implantation (bone blok kept in 120 C⁰ for 20 min., than at room temperature for 15 min., in serum physiologic solution for 15 min.). In group 3, pasteurization was performed to osteotomized bones before re-implantation (bone blok kept in 60 C⁰ serum physiologic solution for 30 min., than at room temperature for 15 min., in serum physiologic solution for 15 min.). In all groups resected bone blocks are re-implanted with intramedullary K-wire. All groups were compared to each other statistically in terms of histological and radiological findings.

The statistical analysis of results, by using Heiple histological assessment scoring system, showed significant differences between group 1-2-3 for proximal end of the osteotomy and group 1-2, group 2-3 for distal end ($p < 0.05$); and no difference between group 1-3 ($p > 0.05$). For radiological findings; no statistical differences were found between the groups at the end of three weeks for proximal osteotomy site ($p > 0.05$); and there was a statistically difference between group 1-2 and group 2-3 ($p < 0.05$) and no difference between group 1-3 ($p > 0.05$) at the end of three weeks for distal osteotomy site. At the end of six weeks proximal and distal ends, there were no statistical differences between the groups ($p > 0.05$). However there were no statistical differences in radiological evaluations between the groups for six weeks time for proximal and distal osteotomy sites, it is showed that histological union in group 3 is better than group 2 in six weeks.

The reconstruction of bone defect after tumor resection is important for limb-salvage surgery and for preservation of extremity functions. The procedures that are to be applied to the removed bone must make sure that it removes all tumor tissues while preserving the biological and mechanical characteristics of the bone. While comparing autoclavization and pasteurization; although both procedures have been reported to remove all tumoral tissue from the bone, in other investigations it was concluded that pasteurization is better than autoclavization in preserving biological and mechanical characteristics of the bone.

This experimental study showed statistically significant superiority in histological healing process of osteotomy sites in pasteurization group when compared to autoclavization group.

Key words: Bone tumor; surgical treatment; autoclavization; pasteurization; bone healing.

GİRİŞ

Tümörlü kemiğin rezeksiyonu sonrası kemik kaybına bağlı olarak gelişen boşlukları doldurmak, tümör cerrahisinin önemli sorunlarından biridir. Kemik greftlemeleri değişik şekilde uygulamaları ile rekonstruktif girişimlerde en eski olan ve halen en çok kullanılan ortopedik işlemdir. Kemik rekonstruksiyonu yapmak zorunda olan ortopedik cerrahın elinde son zamanlarda çeşitli seçenekler mevcuttur. Bunlar otogreft ve allogreftler; minerali alınmış kemik matriksi, kalsiyum fosfattan yapılan kemik greftleridir [1-3].

Kemik kaynaması ve kemik kayıplı bölgelerin doldurulması açısından biyolojik olarak en iyi greft otogreftler olmakla beraber, sorun istendiği kadar fazla miktarda otogreftin her zaman elde edilememesi ve donör bölge morbiditesidir. Tümör cerrahisi sonrası kemik kaybına bağlı oluşan boşluğun doldurulmasında hastanın kendi kemiğinin işlemlerden geçirilerek kullanılmasının, masif allogreft ile rekonstrüksiyonla kıyaslandığında daha avantajlı olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle son yıllarda tümörlü kemik dokusundan tümör hücrelerinin uzaklaştırılması sağlanarak aynı kemiğin tekrar kullanılması gündeme gelmiştir.

Tümörlü kemiğin rezeksiyonu sonrası rezeke edilen kemik; Radyasyon, Likid Nitrojen, Otoklavizasyon (120 C^0) yöntemlerine tabi tutularak tümörlü hücreler kemikten uzaklaştırılmaktadır. Fakat bu yöntemlerin en büyük dezavantajı tümörlü hücreler ile birlikte kemik kaynamasında etkili hücreleri de ortadan kaldırmasıdır. Son zamanlarda Pastörizasyon yöntemi (60 C^0) ile de tümör hücrelerinin ortamdaki uzaklaştırıldığı ancak kemik yapım hücrelerinin korunduğu ileri sürülmektedir. Bizim bu çalışmadaki amacımız; bahsi geçen yöntemlerden Otoklavizasyon ile Pastörizasyon arasında kemik kaynamasına etki açısından bir fark olup olmadığının deneysel olarak araştırılmasıdır.

KEMİK YAPI VE BİRLEŞİMİ

Kemik, diğer primer kas iskelet sistemi dokuları gibi, bol ekstrasellüler matriks içine gömülü mezenşimal hücrelerden oluşur [4]. Kemik matriksi, diğer doku matrikslerinde olmayan, dokuya kompresyon ve eğilmeye karşı büyük dayanıklılık ve sertlik sağlayan mineraller içerir. Kemik matriksinin organik kısmı, özellikle tip I kollajen, gerilmeye karşı kemiğe büyük dayanıklılık sağlar [4, 5]. Kemik oldukça iyi kanlanmaya sahiptir. Aynı zamanda sinir ve lenfatikler içerir.

Periost, kemiğin dış yüzeyini kaplar ve kırık iyileşmesinde önemli rol alır. İki tabakadan oluşur:

1. Dış Tabaka: Fibröz doku tabakasıdır.
2. İç Tabaka: Daha bol hücre ve damarsal yapı içeren tabakadır.

İki tip kemik dokusu vardır:

1. Kortikal veya kompakt kemik
2. Kansellöz veya trabeküler kemik

Uzun kemik diafizlerinin hemen hemen tamamı kortikal kemik içerir. Uzun kemiklerin metafizleri ise kısa ve yassı olup, ince kortikal kemik tabakası ve büyük hacimlerde kansellöz kemik dokusu içerirler.

Mekanik ve biyolojik özelliklerine göre kemik iki tipe ayrılır [6]:

1. Woven (örgüsel yapı) veya immatür (ilkel) kemik.
2. Lameller veya matür (olgunlaşmış) kemik.

İlkel kemik, embriyonik iskeleti oluşturur. İskelet geliştikçe yerini lameller kemiğe bırakır. İlkel kemiğin depolama ve resorpsiyon hızı lameller kemiğe göre daha fazladır. İlkel kemik; düzensiz mineralize olmuş matriks ve düzensiz örgüler şeklinde kollajen lifler içerir. Kollajen liflerdeki uyumsuzluk, düzensiz mineralizasyon, yüksek hücre ve su içeriğinden dolayı, ilkel kemiğin lameller kemiğe göre sertliği daha azdır ve daha kolay deforme olur. Erken

dönemde kırık onarım dokusu da ilkel kemikten oluşur. Kırık iyileşmesi ilerledikçe yerini lameller kemiğe bırakır.

KIRIK İYİLEŞMESİ

Kırık iyileşmesi benzersiz ve karmaşık bir biçimde oluşur. Primer olarak skar oluşumu ile iyileşen dokuların aksine, kemik karmaşık bir olay olan yeni gelişen kemik dokusu ile iyileşir [7].

Kırık iyileşmesi üç devreye ayrılır. Bunlar ardı ardına gelişen inflamasyon, onarım ve yeniden şekillenme devreleridir [8, 9]. Bu devrelerin süreleri; cins, yaş, kırığın yeri, beraberindeki yumuşak doku travmasının şiddeti gibi etkenlere bağlı olarak değişir. Kırık iyileşmesinin oluşmaması durumu dışında, koşullar ne olursa olsun bu üç evre ardışık olarak gelişir.

İNFLAMASYON DEVRESİ:

Kırık oluşunca, geçici arterioller vazokonstrüksiyonu takiben oluşan vazodilatasyona bağlı olarak kan akımında ve kapillerde geçirgenlik artar. Artan kapiller geçirgenlik plazmanın eksudasyonuna öncülük eder. Hemorajiye bağlı şişlik oluşur [9]. Dakikalar içinde dolaşımdaki nötrofiller, bazofiller ve mononükleer fagositler kemotaksis ile bölgeye çekilirler [10, 11]. Salınan doku faktörleri, pıhtılaşma mekanizmasını aktive eder. Yaralanan damarların büyük kısmı 24 saat içinde pıhtı ile kapatılır.

Kemiği kıran yaralanma, sadece hücreler, kan damarları ve kemik matriksini bozmakla kalmaz; aynı zamanda periost ve kası da içeren çevre yumuşak dokulara da zarar verir. Medullar kanal içinde, kırık uçları ve ayrılmış periost arasında hematoma birikir. Kemik kan damarlarının yaralanması ile osteositlerin beslenmesi bozulur. Kollateral kanalların birleşim yerine kadar osteositler ölür. Kırık uçları canlı hücrelerden yoksun kalır. Ciddi şekilde yaralanmış periost ve kemik iliği, diğer yumuşak dokular kadar kırık bölgesinde nekrotik materyalin birikmesine yol açar.

İnflamatuar devre boyunca kırık hematomu organize olur. Bu arada fagositler ve lizozomal mekanizmalarla nekrotik dokular temizlenir. İnflamatuar cevabın azalması ile nekrotik doku ve eksuda geri emilir. Fibroblastlar ortaya çıkar ve yeni matriks oluşumu başlar.

ONARIM DEVRESİ:

Bu devre; fibröz, kırıkta ve kemiksi elemanlar içeren kallus oluşumu ile karakterizedir. Kallus; kas, fascia, periost [12], endotel-perivasküler hücreler, kemik iliği ve kan hücrelerinden oluşan pluripotansiyel mezenkimal hücreler tarafından oluşturulur.

Kırık onarımında ilk adım, hematoma organizasyonudur. Kırık hematoma, fibrin ağı oluşturarak tamir hücrelerinin göçünü kolaylaştırır. Büyüme faktörü ve kırık hematomundaki hücreler tarafından üretilen diğer proteinler; hücre göçü, proliferasyon ve onarım dokusu matriksinin sentezi gibi kırık onarımındaki kritik başlangıç olaylarının koordinasyonunu sağlar [9].

Gerçekte, onarım dokusunun oluşumu, kırıktan sonra saatler içinde başlar ama baskın morfolojik karakter haline gelmesi 7-12 gün içinde olur. Parçalanmış periost içindeki mezenkimal hücrelerin proliferatif cevabı 16 saat gibi kısa bir süre içinde tespit edilir. En yüksek proliferatif cevap yaklaşık 32 saat içinde oluşur ve hızla yumuşak dokuya yayılır.

Yeni oluşan kallusta ilk diferansiye olan hücresel elemanlar, organize hematoma gelişen kapillerler boyunca yerleşen fibroblastlardır. Dördüncü günde, yeni kırıkta hücre kümeleri ve periosteal yeni kemik oluşumu görünür hale gelir. Yedi-onikinci günün sonunda kırık bölgesi, primer olarak fibröz doku ve kırıktan oluşan ama seyrek kemik parçacıkları içeren yumuşak kallus kitlesi ile çevrilir.

Oluşan yumuşak kallusun miktarı ve içeriği, kırık bölgesindeki hareket miktarına, yumuşak doku-kemik yaralanmasının şiddetine ve kırık bölgesinin

kanlanma miktarına göre değişir. Yumuşak kallusun sert kallusa dönüşmesi daha fazla zamansal değişkenlik gösterir. Osteoidin encondral ossifikasyonu ve mineralizasyonu, yaralanmadan bir hafta sonrasına kadar ışık mikroskobu ile görülmez. Bir ile üç hafta arasında mineralizasyon alanları röntgen filmlerinde radyodens benekler şeklinde görülür.

Mineralize kemiğin ilk oluşan parçacıkları örgü (woven) şeklinindedir. Polarize ışık mikroskobu altında düzensiz kollagen yapı gösterir. Zamanla organize trabekül ve daha düzenli lameller kemik görünümü kazanır. Üç ile altı hafta içinde yeni kemiğin trabeküler yapısı, radyolojik olarak gözlenebilir.

Mineralizasyon ilerledikçe, kemik uçları, fusiform yumuşak kallus kitlesi içinde kalır. Mineral içeriği arttıkça kırık kallusunun sertliği artar [13, 14]. İ ve dış kallus oluşumu ile kırık stabilitesinin artmasına ve klinik iyileşmeye karşın bu evrede kırık iyileşmesi tamamlanmaz. Bunu yeniden şekillenme devresi takip eder.

YENİDEN şEKİLLENME DEVRESİ:

Onarımın son safhasında, ilkel kemiğin yerini lameller kemiğe bıraktığı ve gerekli olmayan kallusun rezorbe olduğu onarım dokusunun yeniden şekillenmesi başlar. Fonksiyonların kazanılmış olmasına ve radyografik olarak kemikte tam kaynama görülmesine karşın, kırığın yeniden şekillenmesinin yıllar sonra bile devam ettiği, radyoizotop çalışmalar [15] ile gösterilmiştir. İkel kemik, lameller kemiğe dönüştükten sonra, yeniden şekillenme; gereksiz veya zayıf trabeklaların osteoklastik rezorbsiyonu ve gç çizgileri boyunca yeni kemik desteklerinin oluşumu ile devam eder.

Kırığın şekillenmesinde elektriksel alanların da etkisi vardır. Bir kemiğe stres uygulandığı zaman, kemiğin dış bükey yüzünde elektropozitivite, i bükey yüzünde ise elektronegativite oluşur. Yapılan çalışmada, elektropozitif bölgelerin osteoklastik, elektronegatif bölgelerin ise osteoblastik aktivite ile ilişkili olduğu görülmüştür. Kemik dokusu konkav tarafta artarken, konveks

tarafından eksilir ve açısal deformiteler düzelir. Rotasyonel deformiteler, yeniden şekillenme olayından çok az etkilenir [16].

KEMİK GREFTLEMESİ:

Job Van Meekeren'in 1668'deki kemik grefti uygulama girişiminden bu yana bir çok madde, implantasyon ve transplantasyon materyali olarak kullanılmıştır [17, 18].

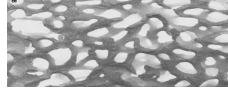
Kemik rejenerasyonunda üç temel mekanizma rol oynar [19, 20]:

1. Osteogenesis: Kemik oluşturma özelliği olan canlı hücrelerin bulunması.
2. Osteoindüksiyon: Mezenşimal hücrelerin osteojenik hücrelere dönüşümünün uyarılması (henüz farklılaşmamış peri-vasküler hücrelerin, osteoprogenitör hücreler meydana getirmeleri için mitozu ugramaları).
3. Osteokondüksiyon: Damarlanma ve oluşan yeni kemiğin içine doğru ilerlemesine izin veren, yerini yeni kemik dokusuna bırakma özelliği olan yapı iskeleti.

İdeal kemik greftlemesi şu özellikleri içermelidir [18] (Resim 1):

1. İstenilen miktarda elde edilebilir olmalı.
2. Antijen taşınamalı ve steril edilebilmeli.
3. Alıcı tarafından ayrıştırılabilmeli ve damarsal yapısı olan endojen dokuya dönüştürülebilmeli.
4. Kemik rejenerasyonunu kolaylaştırmalı.

1- Matriks (Osteokondüktif)



2- Hücreler (Osteojenik)



3- Growth Faktör (Osteoindüktif)







Resim 1: İdeal Kemik Grefti.

Potansiyel greft materyalleri (Tablo 1):

1. Otolog kemik greftleri.
2. Kemik iliği.
3. Demineralize kemik matriksi ve bone morfojenik protein [21, 22].
4. Kollagen ve kollagen olmayan proteinler [5].
5. Deproteinize kemik (Kiel bone, Owestry bone).
6. Mineral tuzları.
7. Seramikler [23, 24].
8. Büyüme faktörleri [25, 26].

Tablo 1: Bazı Kemik Greftleri ve Özellikleri.

	β -TCP	β -TCP+Kemik İliği	DBM	Otogreft
	 Osteokondüktif	 Osteopromotif	 Osteoindüktif	 Osteogenetik
Matriks	+++	+++	-	+++
Growth Faktör	-	+	+++	+++
Osteo progenitör Hücreler	-	+	-	+++

Greftlerin; osteojenik hücreler, osteoindüktif etkenler ve osteokondüktif matrikslerin seçilmiş birleşimleri karıştırılarak, özel klinik gereksinimlere uygun implantlar şeklinde kullanılmaları arzulanan bir olaydır (Tablo 2). Bu durumda potansiyel greft materyallerinin, kemik oluşum mekanizmasına olan gerçek katkılarını saptamada; deneysel çalışmaların önemi artmaktadır.

Tablo 2: Seçilmiş Bileşenlerin Karşılaştırılması.

	β -TCP	Kemik İliği	β -TCP+Kemik İliği	Otolog Kemik Grefti
Matriks	+	-	+	+
Biyolojik Faktörler	-	+	+	+
Stem Hücreleri	-	+	+	+
Osteogenesis	-	+	+	+
Osteoindüksiyon	-	+	+	+
Osteokondüksiyon	+	-	+	+
Morbidite ve Ağrı	-	-	-	+

Yapılan çalışmada; kemik iliğinin kırık iyileşmesinin özellikle erken döneminde yeni kemik doku oluşumu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu, koral greftin ise osteojenik etkisinin olmadığı, kemik iliği (osteojenik, osteoindüktif) ve koral greftin (osteokondüktif) birlikte kullanılmasının büyük defektlerin tedavisinde yararlı olacağı; kemik iliğinin 2-4. haftalar arasında kırık iyileşmesine olumlu yönde katkıda bulunduğu, primer kırık tedavisi ve kaynamamış kırık tedavisinde perkütan enjeksiyon şeklinde kullanılabileceği belirtilmiştir [27].

Otolog kemik grefti birçok durumda en etkin olanıdır. Çünkü kemik rejenerasyonu için gerekli olan üç temel mekanizma osteokondüksiyon, osteoindüksiyon ve osteojenik hücreleri içerir. Kansellöz greftlerin gözenekli ve üç boyutlu yapısı; hızlı bir şekilde fibrovasküler doku ile dolmasını sağlar. Kansellöz kemik matriksi özellikle BMPs olmak üzere birçok büyüme faktörü içerir ve böylece osteoindüksiyon ile mezenkimal hücrelerin osteoblastik

hücrelere dönüşmesini sağlar. Aynı zamanda greft ile birlikte transplante edilen periost ve osteoblastlar osteojenik yapıdadır [20].

İmplantasyon sonrası kansellöz greftler çevre dokular tarafından sarılır. Yeni kemik oluşumu kansellöz trabekülada meydana gelir. Greft mevcut olan kemik ile entegre olduktan sonra mekanik stres altında yeniden şekillenerek, yapısal kuvvet ve bütünlüğünü kazanır. Kortikal kemiklerde aynı süreçten geçer. Fakat korteksin yoğunluğu ve gözenekliliğinin olmamasından dolayı bu süreç daha yavaştır. Kortikal kemik gözenekliliğini arttırmak için resorpsiyona uğrar ve böylece vasküler invazyon sağlanır. Bunun sonucunda kemik entegrasyonu sağlanmış olur. Kortikal greftler sıklıkla başlangıç desteği için kullanılır. Fakat entegrasyon süreci boyunca yapısal kuvveti hızlı (6-18 ayda % 30 azalma) bir şekilde azalır [20].

Aydınlı ve ark'nın yaptıkları deneysel çalışmada; serbest otolog greftlerin iki hafta içinde resorpsiyona uğradığı ve kallus dokusunda kemik doku gelişiminin daha geç sürede başladığı, kas pediküllü greftler de ise resorpsiyona uğramadığı kallus dokusunda kemik gelişiminin kısa sürede başladığı belirtilmiştir. Kas pediküllü greftlerin kas pedikülü yoluyla canlılığını koruduğu, damarsal desteği nedeniyle zengin oksijenlenmeye ve sonuçta daha fazla osteojenik aktiviteye sahip olduğu söylenmiştir. Kaynamama sorunu olan olgularda, her zaman başarılı olmayan serbest kansellöz greftler yerine daha çok osteojenik aktiviteye sahip kas pediküllü greftlerin kullanılmasının sorunu çözmede büyük yararı olacağı kanısına varılmıştır [28].

Otolog kemik greftleri kemik defektleri için en uygun materyal olmalarına rağmen kaynakları sınırlıdır. Büyük defektlerde, yeterli düzeyde otolog kemik grefti bulunamaması önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Travma sonucu oluşan büyük kemik kayıpları, enfeksiyon, doğumsal anomaliler ve tümörlerde otolog kemiğin bazı dezavantajları vardır [17, 20]:

1. Büyük defektlerde, özellikle çocuklarda yeterli büyüklükte sağlanamaz.
2. Greft alınan bölgede operasyon sonrası önemli problemler gelişebilir (ağrı, kanama, yara sorunları, kozmetik sorunlar, enfeksiyon, sinir yaralanması) [29, 30].

Bu olumsuzluklar göz önüne alınarak birçok seçenekler denenmiştir. Bunlardan allogreftler, en sık kullanılmalarına karşın sıklıkla kemiğin kırılması, rezorbsiyon ve immunolojik redde bağlı kaynamama gibi sorunlara neden olabirler [31-34]. İmmunolojik reaksiyona sıklıkla yol açtıkları için heterolog kemik greftleri de uygun değildirler [17, 35].

OTOKLAVİZASYON VE PASTÖRİZASYON

Bazı yazarlar, kemik allogreftlerinin; geniş kemik kayıplarına bağlı oluşan boşlukların doldurulmasında en iyi metod olduğunu savunmaktadırlar. Fakat bu metod greftlerin elde edilmesi ve korunması yönünden komplike, pahalı ve aynı zamanda da yüksek komplikasyon oranı olan bir yöntemdir. Daha basit bir yöntem; tümürlü kemiğin rezeksiyonundan sonra Otoklavizasyon yöntemi (120 C⁰/20 dk) ile işlenip tekrar yerine konulmasıdır. Bu yöntemin rezeke edilen kemikte malign hücreleri yok ettiği, bununla birlikte kemiğin osteojenik ve yeniden şekillenme kapasitesini de azalttığı belirtilmektedir [36, 37].

Malign kemik tümörlerinin tedavisinde, tümürlü kemiğin rezeke edilip Pastörizasyon yöntemi (60 C⁰/30 dk)'ne tabi tutulup yerine implante edilmesi yeni bir tekniktir. Pastörizasyon yönteminin; malign hücreleri yok ettiği buna karşın greftin osteoindüksiyon özelliğini ve mekanik kuvvetini koruduğu iddia edilmektedir. Bu tekniğin kırık ve gevşeme gibi geniş endoprostetik replasmanın uzun dönem problemlerini içermediği, hastanın kendi kemiği kullanıldığı için greftin ebadı ve şeklinin hastaya tamamen adapte olduğu; iyi

bir kaynama ve yeniden şekillenmeye bağlı anatomik olarak mükemmel biyolojik rekonstrüksiyon sağladığı söylenmektedir [37, 38].

Osteogenezden sorumlu tüm kemik matriks büyüme faktörleri (TGF β , BMPs, IGFs) 70-80 C⁰'de aktivasyonunu kaybeder. Bu durum göz önüne alındığında Otoklavize kemik greftlerinin (120 C⁰) fiziksel ve biyolojik özelliklerini kaybettiği için kemik transplant cerrahisinde uygun olmadığı, buna karşın Pastörizasyon yöntemi (60 C⁰) ile kemik greftinin osteojenik özelliklerinin korunduğu belirtilmiştir [37, 39].

Bu çalışmada amaçlanan, tümör cerrahisinde geniş rezeksiyon sonrası tümörlü kemik dokusunu tümör dokusundan arındırıp, tekrar kullanılmasını sağlayan Otoklavizasyon ve Pastörizasyon yöntemleri arasında kemik kaynamasına etki açısından bir fark olup olmadığının deneysel olarak araştırılmasıdır. Bu amaçla, tavşanların ulnalarından çıkarılan blok kemiklere Otoklavizasyon ve Pastörizasyon yöntemleri uygulanarak elde edilen otogreftler üzerinde kaynamayı değerlendiren deneysel model oluşturuldu.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyisel çalışma, Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi'nin onayı (16.05.2006/3 Sayılı Kararı) ile, Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, ortalama ağırlıkları 2400 gr (2150-2750 gr) olan 25 adet erkek Yeni Zelanda cinsi tavşanlardan rasgele seçilerek oluşturulan üç grupta gerçekleştirildi.

Tavşanlara anestetik olarak 30-40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer Warner Lambert İlaç San ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) ve 3-5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer Türk Kimya San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) kas içine uygulandı [40].

Enfeksiyon profilaksisi için her bir tavşana 20 mg/kg sefazolin sodyum (Sefazol, Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kas içine uygulandı.

Tavşanların sağ üst ekstremitelerine mekanik kıl temizliği ve yıkama yapıldı (Resim 2).



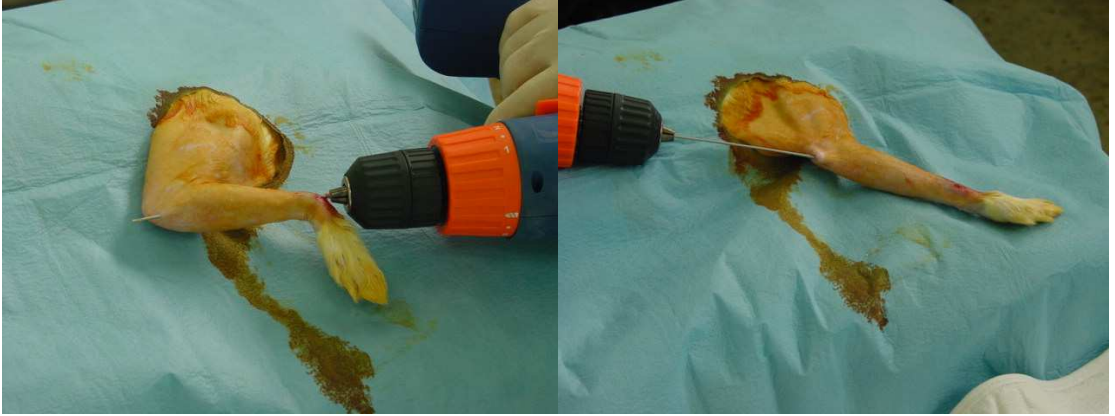
Resim 2: Sağ üst ekstremitede mekanik kıl temizliği.

Ameliyat sahası %10 polivinil pirolidon iyot solüsyonu (Batticon, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş., Samsun, Türkiye) ile boyanarak antisepsi yapıldıktan sonra tavşanların sağ üst ekstremitelerine steril şartlara özen gösterilerek cerrahi örtüm uygulandı (Resim 3).



Resim 3: Operasyon sahasının antiseptisi ve steril örtümü.

Tüm tavşanların sağ ulna kemiklerinin distalinden 2mm çapında K-teli intramedullar olarak retrograd yerleştirildi ve olekranondan K-telinin ucunun çıkması sağlandı (Resim 4). Daha sonra K-teli proksimal uçtan ulna proksimaline doğru çekildi (Resim 5).



Resim 4: K-telinin intramedullar retrograd yerleştirilmesi.

Resim 5: K-telinin proksimal uçtan çekilmesi.

Ulna diafizinin orta 1/3 kesimini ortaya çıkaracak şekilde anterolateralden longitudinal insizyon ile cerrahi yaklaşım yapıldı (Resim 6).



Resim 6: Cerrahi yaklaşım.

Ulna diafizinin orta 1/3' ünden yaklaşık 20mm'lik kemik, kemik kesici ile proksimal ve distalden kesilerek çıkarıldı (Resim 7, 8).



Resim 7: Ulna diafizinin orta 1/3'ünün kemik kesici ile kesilmesi.



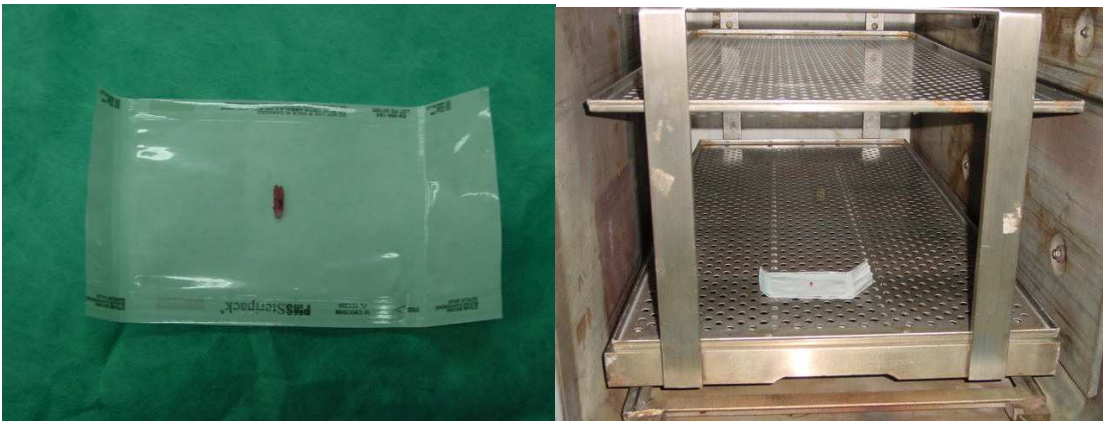
Resim 8: Çıkarılan 20mm'lik kemik blok.

Birinci grup Kontrol grubu olarak oluşturuldu. Bu gruptaki 5 tavşanın sağ ulnalarından çıkarılan 20mm'lik kemik blok hiçbir işleme tabi tutulmadan tekrar yerine yerleştirilerek intramedullar K-teli ile fiske edildi (Resim 9).



Resim 9: Kemik bloğun yerine K-teli ile fiksasyonu.

İkinci gruptaki 10 adet tavşanın sağ ulnalarından çıkarılan kemik bloklar Otoklavizasyon işlemine (120 C⁰'de 20 dk., oda ısısında 15 dk., serum fizyolojik içerisinde 15 dk.) tabi tutulduktan sonra tekrar yerlerine yerleştirilerek intramedullar K-teli ile fikse edildiler [36] (Resim 10, 11).



Resim 10: Otoklavize edilecek kemik. **Resim 11:** Otoklav.

Üçüncü gruptaki 10 adet tavşanın sağ ulnalarından çıkarılan kemik bloklar ise Pastörizasyon işlemine (60 C⁰'de serum fizyolojik içinde 30 dk., oda ısısında 15 dk., serum fizyolojik içerisinde 15 dk.) tabi tutulduktan sonra tekrar yerlerine yerleştirilerek intramedullar K-teli ile fikse edildiler [38] (Resim 12).



Resim 12: Su Banyosu.

Fiksasyon sonrası cerrahi sahanın serum fizyolojik ile yıkanmasını takiben fasya-cilt altı dokular 4-0 emilebilen iplik (Vicryl, Johnson & Johnson Sıhhi Malz. San. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye); cilt ise 4-0 emilemeyen iplik (Ethilon, Johnson & Johnson Sıhhi Malz. San. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) kullanılarak dikildi (Resim 13, 14).



Resim 13: Sütüre edilmiş fasya-cilt altı. **Resim 14:** Sütüre edilmiş cilt.

Yaraların üstüne antiseptik sprey (Opsite, Smith & Nephew Med. Ltd., İngiltere) sıkıldıktan sonra tavşanlara herhangi bir eksternal immobilizasyon cihazı kullanılmadan tekli olarak kafeslerine konuldular.

Tüm tavşanlara postoperatif dönemde kafeslerinde standart beslenme ve bakım uygulandı. Postoperatif analjezi (ilk 3 gün) hayvanların içme sularına konulan 1-2 mg/ml asetaminofen (Parol, Atabay İlaç Fabrikası A.Ş., İstanbul, Türkiye) ile sağlandı [40]. Operasyon sonrası üçüncü ve altıncı haftalarda tavşanların sağ üst ekstremitelerine sedasyon altında X-ray çekildi. Altı hafta sonunda tüm tavşanlar yüksek doz tiopental sodyum (Pentothal, Abbot SPA Aprilla LT., İtalya) ile sakrifiye edildiler. Tavşanların cerrahi uygulanan sağ üst ekstremiteleri (radius-ulna) kas dokularından sıyrılarak en blok çıkarıldı (Resim 15).



Resim 15: Patoloji bölümüne verilen, kas dokusu sıyrılmış radius-ulna.

Çıkarılan kemik blokları patoloji bölümünde 24 saat %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde tespit edildikten sonra, 15 gün %10'luk formik asit içerisinde dekalsifiye edildi. Her bir kemik blokdaki osteotominin proksimal ve distal uçlarından, kemiğin diafizer aksına paralel örnekler alındı. Rutin laboratuvar takip işlemleri sonrası 4 mikron kalınlığında kesitler alınıp, hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra proksimal ve distal bölgelerin kaynaması histolojik olarak incelendi.

Histolojik incelemede, Heiple [39, 41]'nin değerlendirme kriterleri kullanılarak skora yapıldı (Tablo 3).

Tablo 3: Heiple'nin Histolojik Değerlendirme Kriterleri.

	0	1	2	3	4	5
Greftin görünümü	Greftin proksimal ve distal uca kaynaması yok	Her iki uçta kaynamayla ilişkili hücresel aktivite mevcut	Her iki uçta tam kaynama	-	-	-
Kemik uçları ile devamlılık	Yok	Var	-	-	-	-
Kallus dokusu	Yok	Fibröz kal	Kıkırdak kal	Kemik kal	-	-
Kemik uçları	Nekrotik	Resorbe	Yeni kemik oluşumu	-	-	-
Yeni kemik kalitesi	-	Başlangıç apozisyonu	Woven kemik (tek nodul)	Woven kemik trabekülaları	Köprüleşen trabekülalar	Lamellar kemik trabekülaları

Radyolojik inceleme ise üçüncü ve altıncı haftalarda çekilen direk grafilere radyolojik skorlar verilerek yapıldı (Tablo 4).

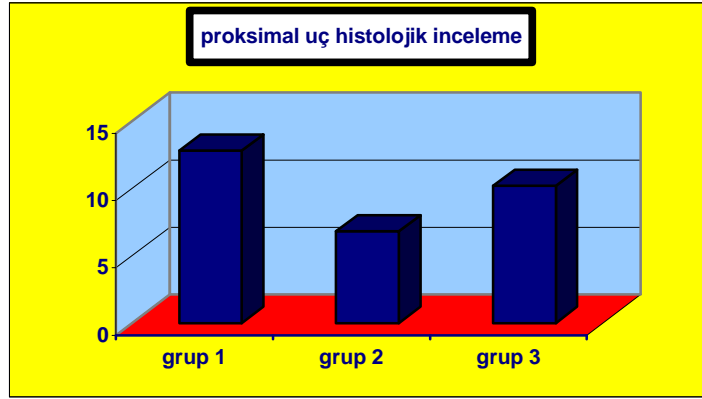
Tablo 4: Radyolojik Skora.

Skorlar	Radyolojik Görünüm
1	Kal dokusu yok
2	Kal dokusu var, fakat köprüleşme yok
3	Tam kaynama

Gruplar histolojik ve radyolojik olarak birbirleriyle karşılaştırıldı. İstatistiksel analizlerde Mann-Whitney Testi kullanıldı; $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

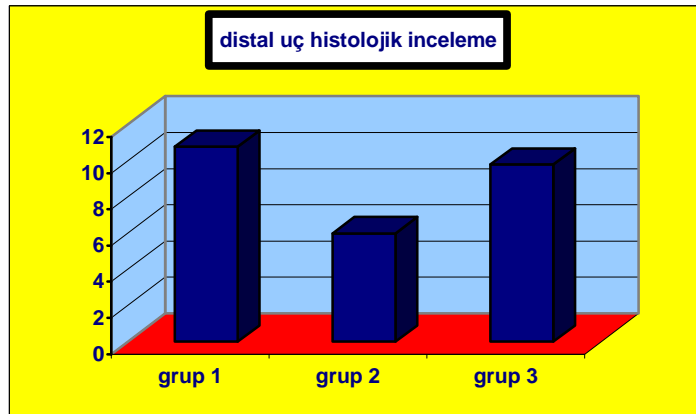
BULGULAR

Heiple'nin histolojik değerlendirme kriterlerine göre proksimal uç için Heiple skorları grup 1 için 12.8 ± 0.4 , grup 2 için 6.8 ± 1.2 ve grup 3 için 10.2 ± 1.9 olarak tespit edildi (Grafik 1). İstatistiksel analizlerde gruplar arasında anlamlı fark tespit edildi (grup 1-2, $p < 0.05$; grup1-3, $p < 0.05$ ve grup2-3, $p < 0.05$).



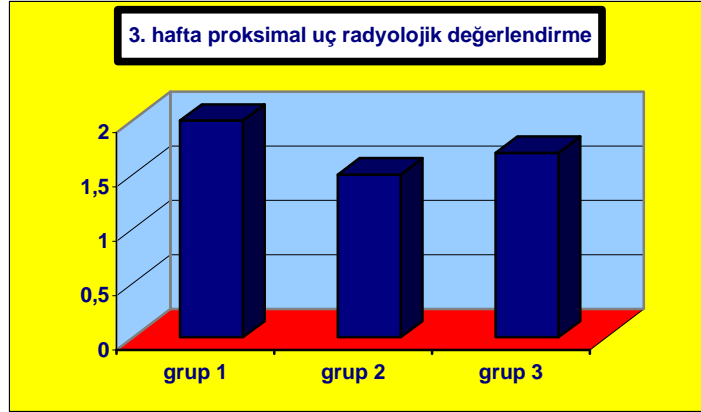
Grafik 1

Heiple'nin histolojik değerlendirme kriterlerine göre distal uç için Heiple skorları grup 1 için 10.8 ± 0.8 , grup 2 için 6.0 ± 1.1 ve grup 3 için 9.8 ± 1.5 olarak tespit edildi (Grafik 2). İstatistiksel analizlerde grup1-2 ve grup2-3 arasında anlamlı fark tespit edildi; grup1-3 arasında ise anlamlı fark tespit edilemedi (grup 1-2, $p < 0.05$; grup1-3, $p > 0.05$ ve grup2-3, $p < 0.05$).



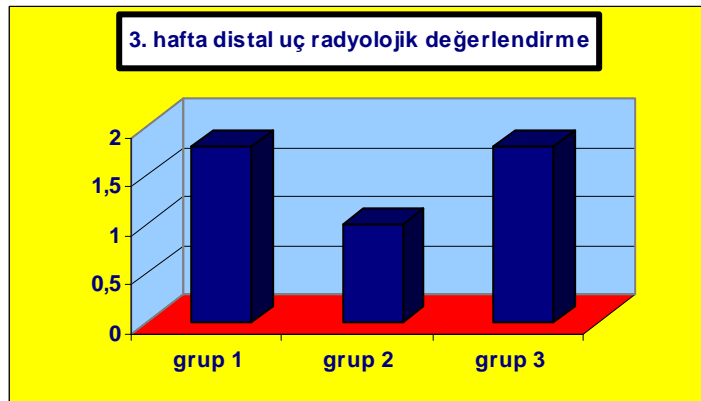
Grafik 2

Proksimal uç için üçüncü haftada yapılan radyolojik değerlendirme skorları grup 1 için 2.0 ± 0.7 , grup 2 için 1.5 ± 0.5 ve grup 3 için 1.7 ± 0.4 idi (Grafik 3). Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında fark saptanmadı ($p > 0.05$).



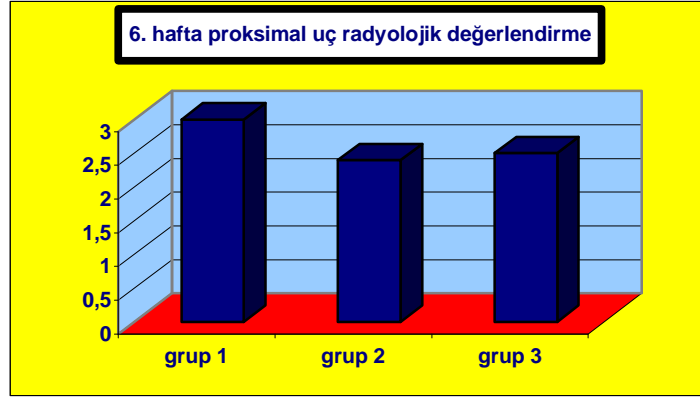
Grafik 3

Distal uç için üçüncü haftada yapılan radyolojik değerlendirme skorları grup 1 için 1.8 ± 0.4 , grup 2 için 1.0 ± 0.0 ve grup 3 için 1.8 ± 0.6 idi (Grafik 4). İstatistiksel analizlerde grup1-2 ve grup2-3 arasında anlamlı fark tespit edildi; grup1-3 arasında ise anlamlı fark tespit edilemedi (grup 1-2, $p < 0.05$; grup1-3, $p > 0.05$ ve grup2-3, $p < 0.05$).



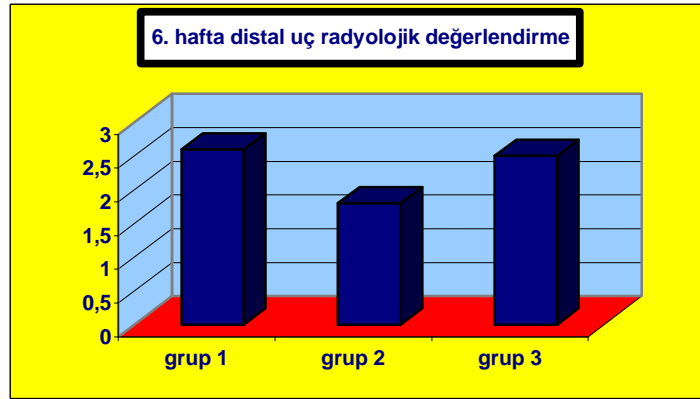
Grafik 4

Proksimal uç için altıncı haftada yapılan radyolojik değerlendirme skorları grup 1 için 3.0 ± 0.0 , grup 2 için 2.4 ± 0.5 ve grup 3 için 2.5 ± 0.5 idi (Grafik 5). Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında fark saptanmadı ($p > 0.05$).



Grafik 5

Distal uç için altıncı haftada yapılan radyolojik değerlendirme skorları grup 1 için 2.6 ± 0.4 , grup 2 için 1.8 ± 0.4 ve grup 3 için 2.5 ± 0.5 idi (Grafik 6). Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında fark saptanmadı ($p > 0.05$).



Grafik 6

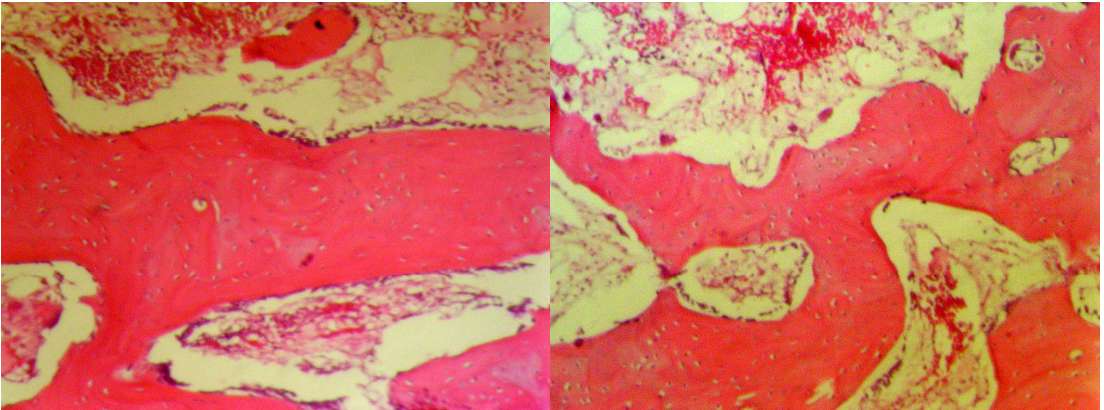
Kontrol grubundan (grup 1) 2 no'lu tavşanın (K-2) operasyon sonrası makroskopik, radyolojik ve histolojik görüntüleri görülmektedir (Resim16-20).



Resim 16: K-2'nin radius-ulnası.



Resim 17: K-2'nin 3. hafta X-ray'i. **Resim 18:** K-2'nin 6. hafta X-ray'i.



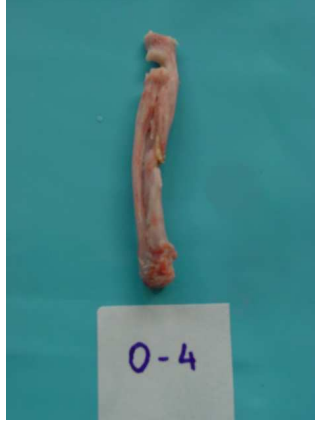
Resim 19: K-2 proksimali histolojisi.

Osteoblastik rim ile çevrili kemik trabeküla ve çevrede kanamalı fibröz doku (HE x 200).

Resim 20: K-2 distali histolojisi.

Birbiriyle anastomozlaşan osteoblastik hücreler ve çevresinde izlenen kemik trabekülaları (HE x 200).

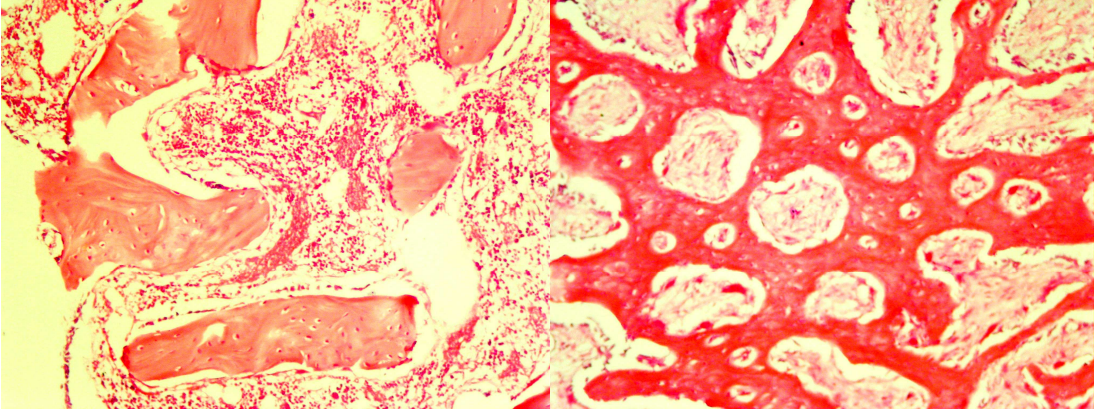
Otoklavizasyon grubundan (grup 2) 4 no'lu tavşanın (O-4) operasyon sonrası makroskopik, radyolojik ve histolojik görüntüleri görülmektedir (Resim 21-25).



Resim 21: O-4'ün radius-ulnası.



Resim 22: O-4'ün 3. hafta X-ray'i. **Resim 23:** O-4'ün 6. hafta X-ray'i.



Resim 24: O-4 proksimali histolojisi.

Kan elementleri arasında,
çevrelerinde osteoblastik
rim seçilen kemik
trabekülaları (HE x 200).

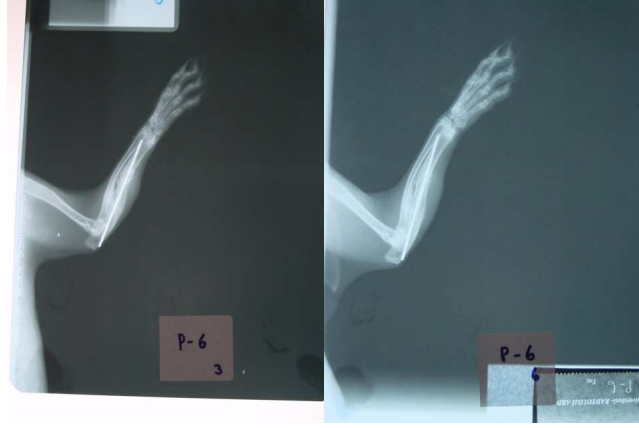
Resim 25: O-4 distali histolojisi.

Fibrotik zeminde
birbirleriyle anastomozlar
oluşturmuş kemik
trabekülaları (HE x 100).

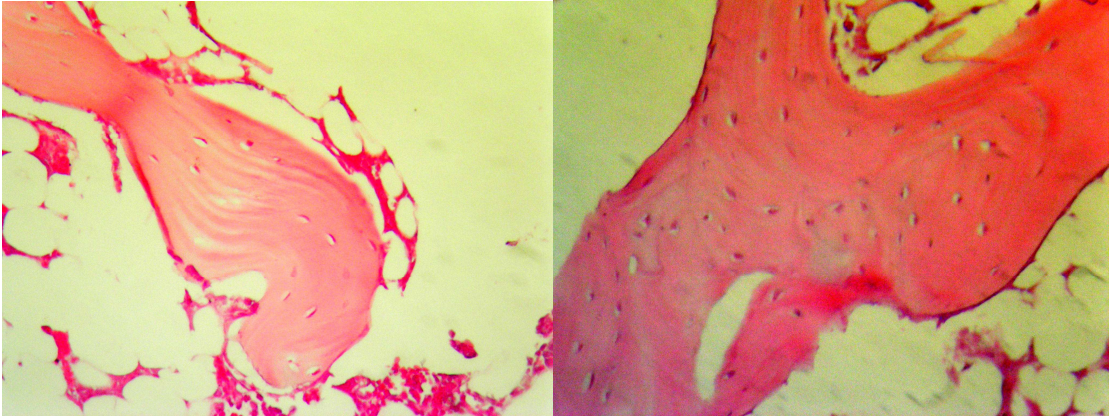
Pastörizasyon grubundan (grup 3) 6 no'lu tavşanın (P-6) operasyon sonrası makroskopik, radyolojik ve histolojik görüntüleri görülmektedir (Resim 26-30).



Resim 26: P-6'nın radius-ulnası.



Resim 27: P-6'nın 3. hafta X-ray'i. **Resim 28:** P-6'nın 6. hafta X-ray'i.



Resim 29: P-6 proksimali histolojisi.

Lamellöz karakterdeki
kemik trabekülası
(HE x 100).

Resim 30: P-6 distali histolojisi.

Matür kemik
trabekülası (HE x 200).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Ortopedik onkolojik cerrahi sonrası oluşan geniş kemik boşluklarının doldurulmasında çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Ekstremitte koruyucu cerrahi olarak protez replasmanı seçeneklerden biridir. Protez teknolojisinde son yıllardaki ilerlemeler sayesinde kemik kayıplarını dolduracak birçok protez dizaynı ortaya atılmış ve bu yeni implant dizaynlarının biyomekanik avantajlarından bahsedilmeye başlanmıştır. Gevşeme, protez kırılması ve aşınma sık karşılaşılan sorunlardır [37, 42-45] ve bu sorunların artan oranlarda görülmesi bu alanda araştırmacıları biyolojik rekonstrüksiyon yöntemlerin bulunmasına doğru yönlendirmiştir.

Aynı zamanda, epifiz ve eklem mesafesinin tutulmadığı ve tümörün sadece kemiğin diafizini tuttuğu olgularda endoprostetik rekonstrüksiyon yöntemleri yerine hastada biyolojik rekonstrüksiyon daha uygundur. Bu sayede eklem fonksiyonları korunacak ve protez fiksasyonuna bağlı yetersizlikler ortadan kalkacaktır. Ayrıca, protez cerrahisine bağlı morbidite ve mortalitede göz önünde bulundurulduğunda yeni yöntemlerin uygulanabilir olması daha da önem kazanmaktadır [42].

Allogreft kullanımı ikinci sıklıkla başvuru olan cerrahi yöntemdir. Fakat, bu yöntemde geniş bir kemik bankası gerekliliği, allogreftle ilgili immunolojik reaksiyonlar, hastalık geçişi ve yüksek kaynamama komplikasyonlarından dolayı sonuçları tartışmalıdır [37, 44, 46-48]. Dolayısıyla, rekonstrüktif cerrahide alternatif bir yöntem ihtiyacı vardır.

Kemik ve yumuşak doku tümör cerrahisinde rezeksiyon sonrası oluşan kemik kayıplarının doldurulmasında gerek kayıpların çok büyük olabilmesi gerekse de yapısal allogreftler ile birlikte olabilecek kaynama ve hastalık geçişi sorunlarından dolayı, hastanın kendi kemik dokusunun tümör hücrelerinden arındırılarak yeniden rekonstrüksiyonda kullanılması fikri son yıllarda ortaya atılan ve üzerinde birçok araştırma yapılmakta olan bir konudur [39, 49-52]. Bu amaçla geliştirilmesi gereken en ideal yöntem kemik dokudaki

tümör hücrelerinin tamamen yok edilmesi, bu işlemin intraoperatif şartlarda steril ortamda hızlı olarak yapılması ve bu işlemleri gerçekleştirirken kemiğin osteoindüktif özelliklerinin korunarak implantasyon sonrası kaynama problemlerine yol açılmamasıdır.

Bu yöntemin uygulanabilirliğinde en önemli husus tekrar implante edilecek kemik dokunun tümör hücrelerinden tamamen arındırılmış olmasıdır. Ancak bu sayede küratif bir tedavi imkanı sağlanmış olacaktır. Aynı zamanda kemiğin biyolojik ve mekanik özelliklerinin en az hasara uğraması da istenilen bir özelliktir ki bu sayede implantasyon sonrası kaynama komplikasyonları ile az karşılaşılması önem arz etmektedir. Tümör hücrelerinin arındırılmasında kullanılan Otoklavizasyon ve Pastorizasyon yöntemleri aynı zamanda allogreftlerde sterilizasyon amaçlı da kullanılmaktadır. Yine bu amaçlı çıkarılan tümörlü kemik dokunun Radyasyon'a tabi tutulması da bir yöntem olarak bildirilmiştir [42, 53].

Ortopedik tümör cerrahisinde geniş kemik kayıplarına bağlı oluşan boşlukların doldurulmasında Otoklavize kemik allogreftleri uzun zamandır kullanılmaktadır. Bazı yazarlar, allojenik kemik greftlerinin bu uygulama için en iyi metod olduğunu savunmaktadırlar. Fakat bu metod greftlerin elde edilmesi ve korunması yönünden hem komplike hem de pahalı, aynı zamanda da yüksek komplikasyon oranı olan bir yöntemdir. Daha basit bir yöntem; tümörlü kemiğin rezeksiyonundan sonra Otoklavizasyon yöntemi (120 C⁰/20 dk) ile işlenip tekrar yerine konulmasıdır. Otoklavize kemik greftlerinin dezavantajları ise osteojenik ve yeniden şekillenme kapasitesinin düşük olmasıdır [36, 37]. Ancak, Otoklavizasyon ile kemiğin osteokondüktif özellikleri kaybolmamakta ve bu özelliği sayesinde yapısal olarak kemik kaybına bağlı oluşan boşluğun doldurulmasında kullanılabilir [54].

Aynı zamanda, Köhler ve ark. [55]'nin bildirdiği tavşanlar üzerinde gerçekleştirilen biyomekanik bir çalışmada Otoklavizasyon'un kemik greftinin gücü, mukavemeti ve ağırlığı üzerinde azaltıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun sebebinin de 70 derecenin üzerindeki ısının, kemiğin

kollajen yapısını bozduğu (kollajen denaturasyonu) ve mukavemetini azalttığı şeklinde açıklanmıştır. Ayrıca, kemiğin Otoklavizasyon sonrası ağırlılığının azalması da kollajenin ısı etkisiyle jelatin solusyonu formuna dđnmesi olarak izah edilmiştir.

Pastörizasyon işleminin (60 C⁰/30 dk) tümör hücrelerini dokudan elimine ettiği ve daha önemlisi bu etkiyi gösterirken kemik matriksinde bulunan ve osteoindüksiyondan sorumlu olan büyüme faktörlerini etkilemediği gösterilmiştir [39, 56, 57]. Başka çalışmalarda da [37, 38] Pastörizasyon'un kemiğin mekanik kuvvetini koruduğu bildirilmiştir.

Biz bu çalışmada, yukarıda bahsedilen literatürlere dayanarak tümör cerrahisi sonrası oluşan geniş kemik kayıplarına bağlı boşluğun doldurulmasında tümörlü kemiği Pastörizasyon işlemine tabi tuttuktan sonra tekrar yerine konulmasıyla; kemiğin kaynama özelliklerinin korunacağı, dolayısıyla daha iyi bir kaynama elde edileceği ve bunun da kemik kaynaması açısından daha iyi bir yöntem olacağı hipotezinden yola çıkarak bir hayvan modeli oluşturup Otoklavizasyon ve Pastörizasyon işlemlerini karşılaştırdık.

Bu karşılaştırmada yöntemlerin birbirlerine üstünlüklerinin farkını ortaya koymak amacıyla kantitatif histolojik ve semikantitatif radyolojik incelemeler yaptık. Histolojik incelemelerde Heiple kriterleri kullanıldı; özellikle greftin görünümü, oluşan kal dokusu ve yeni kemik kalitesi incelenerek işlemden geçirilip tekrar yerine konan kemik dokusunun osteoindüktif özellikleri karşılaştırılarak yorumlar yapılmıştır. Bu özellikler radyolojik incelemeler ile desteklenmeye çalışılmış fakat literatürde Heiple'nin histolojik değerlendirme skalasına benzeyen kantitatif radyolojik değerlendirme kriterleri tanımlanmadığı için, radyolojik skorumlama basite indirgenerek kemik iyileşmesi hakkında yorum yapılmaya çalışılmıştır.

Ehara ve ark. [58] yaptıkları çalışmada Pastörize otolog kemik greftleri kullanılan 8 hastanın 5'inde tam radyolojik kaynamanın olduğunu, bir hastada

enfeksiyon diğer 2 hastada ise greft resorpsiyonuna bağlı psödoartroz geliştiğini bildirmişlerdir.

Reimplantasyon bölgesindeki kaynama sorunları otolog greftin tabi tutulduğu sterilizasyon işleme bağlı olduğu kadar, implante edilen kemiğin kan akımı ve ağırlık verilip verilmemesi gibi hasta ile ilgili faktörlere de bağlıdır. Konakçı-greft arasındaki kan akımı sintigrafi ile ortaya konabilir ve ilerde yaşanabilecek muhtemel kaynama sorunları hakkında bilgi verebilir [58].

Otoklavizasyon alışma grubumuzdaki 2 tavşanda greftin resorpsiyonu ve distal uçta kaynamama ile karşılaşıldı. Pastörizasyon ve Kontrol alışma grubunda benzer komplikasyonlara rastlanmadı. Çalışma grubumuzda; Pastörizasyon işleme tabi tutulan tavşanlarda kaynamanın histolojik ve radyolojik değerleri Kontrol grubuna yakın olarak tespit edilmiştir. Altıncı hafta sonunda her ne kadar radyolojik olarak gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanamasa da histolojik olarak kaynamanın Pastörizasyon grubunda, Otoklavizasyon'dan üstün olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak; çıkarılan kemik dokusunun Pastörizasyon işleme tabi tutulması, bu deneysel çalışmada histolojik olarak üstünlüğu gösterildiği gibi kemiğin kaynama özelliklerini koruması nedeniyle kullanılabilir daha iyi yöntem olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Friedlaender GE. Current Concepts Review. Bone grafts. J. Bone Joint Surg. 1987;69(A):786-90
2. Boer HE. The History of Bone Grafts. Clin. Orthop. 1998;226:292-8
3. Finkemeier CG. Bone grafting and bone-grafting substitutes. J. Bone Joint Surg Am. 2002;84(3):454-64
4. Burstein AH, Zika JM, Heiple KG, Klein L. Contribution of Collagen and Mineral to the Elastic-Plastic Properties of Bone. J. Bone Joint Surg. 1975;57(A):956-61
5. Ashhurst DE, Phill D. Collageus Synthesized by Healing Fractures. Clin. Orthop. 1990;255:273-83
6. Buckwalter JA, Crvess RL. Healing of the Musculoskeletal Tissue. Rockwood and Green's Fractures in Adults. J.B. Lippincott Company Philadelphia. Chap 2.1991
7. Richard AB, Rubin CT. Fracture Healing in: Mc Collister CE. Surgery of the Musculoskeletal System. Churchill Livingstone Inc. Sect 7.1990
8. Turek SL. Orthopedics, Principles and Their Application. J.B. Lippincott Company, Philadelphia. Chap 3. 1977
9. Hult A. Current Concepts of Fracture Healing. Clin. Orthop. 1989;249:265-84
10. Frost HM. The Biology of Fracture Healing: An Overview for Clinicians. Part I. Clin. Orthop. 248:283-93
11. Frost HM. The Biology of Fracture Healing: An Overview for Clinicians. Part II. Clin. Orthop. 248:294-304
12. Chalmers J, Gray DH, Rush J. Observations on The Induction of Bone in Soft Tissue. J. Bone Joint Surg. 1975;57(B):36
13. Irwing JT. Theories of Mineralization of Bone. Clin. Orthop. 1973;97:225-36
14. Howell DS. Current Concept of Calcification. J. Bone Joint Surg. 1971;53(A):250

15. Aro HT, Wipperfurth B. Prediction of Properties of Fracture Callus, by Measurement of Mineral Density Using Micro-Bone Densitometry. *J. Bone Joint Surg.* 1989;71(A):1020-30
16. Bassett CAL, Valdes MG, Hernandez E. Modification of Fracture Repair with Selected Pulsing Electromagnetic Fields. *J. Bone Joint Surg.* 1982;64(A):888-95
17. Lane JM, Sandhu HS. Current Approach to Experimental Bone Grafting. *Orthop. Clin. North America.* 1987;18(2):213-25
18. Schweiberer L, Stüzle H, Mandelkow HK. Bone Transplantation. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* 1989;109:1-8
19. Miller TA, Ishida K, Kobayashi M, Wollman JS, Turk AE, Holmes RE. The Induction of Bone by an Osteogenic Protein and the Conduction of Bone by Porous Hydroxyapatite A Laboratory Study in the Rabbit. *Plast. And Reconst. Surg.* 1991;87-95
20. James H, Beaty. Bone Healing and Grafting. *Orthopaedic Knowledge Update 6.* American Academy of Orthopaedic Surgeons. Chapter 2. 1998;25-35
21. Harakas NK. Demineralized Bone-Matrix Induced Osteogenesis. *Clin. Orthop.* 1984;188:239-51
22. Lindholm TS, Nilson OS, Lindholm TC. Extraskelatal and Intraskelatal New Bone Formation Induced by Demineralized Bone Matrix Combined with Bone Marrow Cells. *Clin. Orthop.* 1982;171:251-5
23. Uchida A, Nade SML, Mc Cartney ER, Ching W. The Use of Ceramics for Bone Replacements. A Comparative Study of Three Different Porous Ceramics. *J. Bone Joint Surg.* 1984;66(A):269-75
24. Lemons JE. Bioceramics: Is There a Difference? *Clin. Orthop.* 1990;261:153-8
25. Canalis E. Bone-Related Growth Factors. *Triangle.* 1988;27:11-9
26. Hauschka PV, Mavrakos AE, Jafrazi MD, Doleman SE, Klagsbrun M. Growth Factors in Bone Matrix. *The Journ. Of Biolog. Chem.* 1986;261:12665-74

27. Sönmez M, Durak K, Bilgen ÖF. Kemik onarımında kemik iliği ve koral greft uygulamalarının sonuçları. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 1996;30:76-9
28. Aydın U, Gedikoğlu Ö. Serbest ve Kas Pediküllü Kemik Greftlerinin Kırık İyileşmesine Etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergisi.* 1985;3(1):67-70
29. Lavrie SWS, Kaban LB, Mulliker JB, Murray JE. Donor-Site Morbidity after Harvesting Rib and Iliac Bone. *Plast. And Reconst. Surg.* 1984;73(6):933-8
30. Younger EM, Chapman MW. Morbidity at Bone Graft Donor Site. *J. Orthop. Trauma.* 1989;3:192-5
31. Weiland AJ. Current Concepts Review: Vascularized Free Bone Transplants. *J. Bone Joint Surg.* 1981;63(A):166
32. Mankin HJ, Doppelt S, Tamford W. Clinical Experience with Allograft Implantation. *Clin. Orthop.* 1983;174:69-86
33. Pekler RK, Friedlander GE, Markham TC. Biomechanical Properties of Bone Allografts. *Clin. Orthop.* 1983;174:54-8
34. Friedlander GE. Immune Responses to Osteokondral Allografts. *Clin. Orthop.* 1983;174:58-68
35. Salama R. Xenogeneic Bone Grafting in Humans. *Clin. Orthop.* 1983;174:113-21
36. Köhler P, Kreicbergs A. Incorporation of Autoclaved Autogeneic Bone Supplemented with Allogeneic Demineralized Bone Matrix. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 1987;May:247-58
37. Manabe J, Ahmed A.R, Kawaguchi N, Matsumoto S, Kuroda H. Pasteurized Autologous Bone Graft in Surgery for Bone and soft Tissue Sarcoma. *Clin Orthop.* 2004;419:258-66
38. Ahmed A.R, Manabe J, Kawaguchi N, Matsumoto S, Matsushita Y. Radiographic analysis of pasteurized autologous bone graft. *Skeletal Radiol.* 2003;32:454-61

39. Zoricic S, Bobinac D, Lah B, Maric I, Cvijanovic O, Bajek S, Golubovic V, Mihelic R. Study of the Healing Process after Transplantation of Pasteurized Bone Grafts in Rabbits. *Acta Medica Okayama*. 2002;56(3):121-28
40. Hrapkiewicz K, Medina L, Holmes DD (eds) *Clinical Medicine of Small Mammals and Primates, An Introduction*. 2nd edition. Manson Publishing. 1998;135-72
41. Heiple KG, Chase SW, and Herndon CH. A comparative study of the healing process following different types of bone transplantation. *J. Bone Joint Surg*. 1963;45:1593-616
42. Böhm P, Fritz J, Thiede S, Budach W. Reimplantation of extracorporeal irradiated bone segments in musculoskeletal tumor surgery: clinical experience in eight patients and review of the literature. *Langenbecks Arch Surg*. 2003;387:355-65
43. Cannon SR. Massive prostheses for malignant bone tumors of the limbs: Instructional course lecture. *J. Bone Joint Surg*. 1997;79(B):497-506
44. Gitelis S, Piasecki P. Allograft prosthetic composite arthroplasty for osteosarcoma and other aggressive bone tumors. *Clin Orthop*. 1991;270:197-201
45. Haris IE, Leff AR, Gitelis S, Simon MA. Function after amputation, arthrodesis, or arthroplasty for tumors about the knee. *J. Bone Joint Surg*. 1990;72(A):1477-85
46. Alman BA, De Bari A, Krajbich JI. Massive allografts in the treatment of osteosarcoma and Ewing sarcoma in children and adolescents. *J. Bone Joint Surg*. 1995;77(A):54-64
47. Gebhardt MC, Roth YE, Mankin HJ. Osteochondral allografts for reconstruction in the proximal part of the humerus after excision of a musculoskeletal tumor. *J. Bone Joint Surg*. 1990;72(A):334-45
48. Quill G, Gitelis S, Morton T, Piasecki P. Complications associated with limb salvage for extremity sarcomas and their management. *Clin Orthop*. 1990;260:242-50

49. Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL, Coleman TR, Bottenfield S, Conley LJ, Kohlenberg SH, Castro KG, Dahan BA, Schable CA, Rayfield MA and Rogers MF. Transmission of human immunodeficiency virus type I from a seronegative organ and tissue donor. *N Engl J Med.* 1992;326:726-32
50. Schratt HE, Regel G, Lobenhoffer P and Tscherne H. Organisation of a bone and tissue bank. Consequences for organization of bone and tissue banks after HIV and hepatitis C infections. *Unfallchirurg.* 1996;99:880-8
51. Bettin D, Dethloff M, Polster J, Steinbeck J, Fiedler R. HIV-screening in bone transplantation. *Unfallchirurg.* 1993;96:636-40
52. Norman-Taylor FH, Villar RN. Bone allograft: A cause for concern? *J. Bone Joint Surg.* 1997;79:178-80
53. Araki N, Myoui A, Kuratsu S, Hashimoto N, Inoue T, Kudawara I, Ueda T, Yoshikawa H, Masaki N, Uchida A. Intraoperative Extracorporeal Autogenous Irradiated Bone Grafts in Tumor Surgery. *Clinical Orthopaedics And Related Research.* 1999;368:196-206
54. Asada N, Tsuchiya H, Kitaoka K, Mori Y, Tomita K. Massive autoclaved allografts and autografts for limb salvage surgery. *Acta Orthop Scand.* 1997;68(4):392-5
55. Köhler P, Kreicbergs A, Strömberg L. Physical properties of autoclaved bone. Torsion test of rabbit diaphyseal bone. *Acta Orthop Scand.* 1986;57:141-5
56. Stevenson S, Horowitz M. The response to bone allografts. *J. Bone Joint Surg.* 1992;74:939-50
57. Uemura Y, Yang YHJ, Heldebrant CM, Takechi K, Yokoyama K. Inactivation and elimination of viruses during preparation of human intravenous immunoglobulin. *Vox Sang.* 1994;67:246-54
58. Ehara S, Nishida J, Shiraishi H, Tamakawa Y. Pasteurized intercalary autogenous bone graft: radiographic and scintigraphic features. *Skeletal Radiol.* 2000;29:335-9

TEŞEKKÜR

Bu günlere gelmemi sağlayan baŐta annem ve babam olmak üzere aileme ve tüm öğretmenlerime; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Ortopedi Travmatoloji AD'da uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen baŐta Prof. Dr. Gayyur Kurap olmak üzere tüm hocalarıma; birlikte görev yaptığım asistan arkadaşlarıma, hemŐire, sekreter ve personellere; tezime katkı ve desteklerinden dolayı Uzm. Dr. Çaęatay Öztürk'e, Patoloji AD'dan Uzm. Dr. Ulviye Yalçinkaya'ya, Radyoloji AD'dan Doç. Dr. Zeynep Yazıcı'ya, Deney Hayvanları Merkezi'nden Vet. Hekim Faruk Küçükyıldız'a ve bölümlerin tüm çalışanlarına, teşekkür ederim.

Benden eğitimim süresince desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Ufuk Aydınlı ve her türlü özveriye göstererek her zaman yanımda olan sevgili eŐim NeŐe ve kızım Sude' ye ayrıca teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

8 Mayıs 1968'de Yenisarıbey Köyü-Karacabey-Bursa'da doğdum. İlköğrenimi Yenisarıbey Köyü İlkokulunda bitirip, 1979 yılında Sarıbey Ortaokulu'nda ortaöğretime başladım. Ortaokul 3. sınıfı Karacabey Lisesi'nde tamamlayıp,1982-1985 yılları arasında Karacabey Lisesi'nde lise eğitimimi aldım. Trakya üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1985 yılında tıp eğitimine başlayıp, 1991 yılında mezun oldum. Tıp doktoru olarak 1991-1993 yılları arasında, Sağlık Bakanlığı'na bağlı Konya-Doğanhisar Devlet Hastanesi ve Merkez Sağlık Ocağı'nda zorunlu hizmetimi tamamladıktan sonra, 1993-2002 yılları arasında Edirne-Keşan Devlet Hastanesi ve Merkez Sağlık Ocağı, Edirne-Enez Devlet Hastanesi'nde görev yaptım. Askerlik görevimi, 1994-1995 yıllarında Manisa Kırkağaç Jandarma Komando Er Eğitim Alayı'nda yedek subay olarak yerine getirdim. Uzmanlık eğitimime 7 Ocak 2002'de Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda başladım. Evliyim ve bir çocuk babasıyım.