

İki Farklı Kemik Greftinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Mehtap Herdem Atay*, Fetin Rüştü Yılmaz**

ÖZET

Bu çalışma, demineralize kemik matriksinin jel formu ile solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipslerinin yeni kemik oluşumu üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Araştırmamız 3 aylık 20 adet dişi rat üzerinde yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 20 rat her biri 10 rattan oluşan 2 gruba ayrılmıştır. Ratların femurları üzerine kemik kavileri açılarak I. gruptaki ratlara demineralize kemik matriksinin jel formu, I. gruptaki ratlara solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipsleri uygulanmıştır. 4 ve 8 haftalık dönemlerde, femurlar çıkarılarak histopatolojik incelemeye alınmışlardır.

Çalışmamızda; demineralize kemik matriksinin gerek kısa gerekse uzun dönemde solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipslerine göre yeni kemik oluşumunu indüklemeye daha etkili olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Demineralize kemik matriksi, solventlerle dehidrate edilmiş allogreftler, kemik rejenerasyonu, kemik rezorpsiyonu, kemik defektleri

Investigation Histopathologically of two Different Bone Grafts

SUMMARY

This study was carried out to investigate the effects of demineralized bone matrix in gel form and cancellous bone chips dehydrated with solvents, on new bone formation.

This study was conducted on 20 female rats of 3 months. Twenty rats included into the study were divided into 2 groups, each comprising 10 rats. Bone cavities were opened up on femurs of the rats, and demineralized bone matrix in gel form was applied to the rats in group I and cancellous bone chips dehydrated with solvents to those rats in group II. At the periods of 4 and 8 weeks, femurs were removed and investigated histopathologically.

In our study, it was observed that demineralized bone matrix, whether in short or long terms, was more effective in inducing new bone formation with respect to cancellous bone chips dehydrated with solvents.

Key Words: Demineralized bone matrix, allograft dehydrated with solvents, bone regeneration, bone resorption, bone defects

GİRİŞ

İskelet sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi, oral ve maksillofasial bölgenin travmatik, dejeneratif, enfeksiyöz, kistik ve neoplastik lezyonlarının oluşturduğu akkiz ve konjenital kemik deformitelerinin rekonstrüksiyonunda kemik greftlerine gereksinim duyulmaktadır.

Bu deformitelerinin rekonstrüksiyonunda; osteoindüktif, osteokondüktif potansiyele ve osteojenik hücrelere sahip olan otojen kemik

greftleri öncelikli olarak tercih edilmekle birlikte, bu greftlerin ikinci bir cerrahi işleme ihtiyaç göstermesi, dönör bölgede morbidite oluşturması ve istenilen miktarda elde edilememesi gibi bazı dezavantajları mevcuttur (1,2).

Otojen kemik greftlerinin bu dezavantajlarından dolayı allogreftler, ksenogreftler ve sentetik materyallerin kullanımı gündeme gelmiştir. Bu greft materyallerinin her birinin sterilizasyon ve işlenme yöntemine bağlı

* Dicle Üniv. Diş Hek. Fak. Ağız-Diş-Çene Hast. ve Cerrahisi A.D.

** Diyarbakır Devlet Hast. Patoloji Bölümü



olarak birtakım avantajları ve dezavantajları vardır (1). Örneğin, taze dondurulmuş kemik osteoindüktif potansiyele sahip olmakla birlikte, güçlü bir immün cevaba neden olmaktadır (3). Yine ksenogreft preparasyonları da kuvvetli bir immün cevaba sebep olmaktadır (4). Dondurup kurutma işlemi, kemik greftine karşı inflamatuvar cevabı önemli oranda azaltmasına rağmen, bunun yanında greftin mekanik özelliklerini de azaltmaktadır (5). Dondurulup kurutulmuş kemik greftlerinin iyileşmesi, rezorpsiyon ve osteokondüksiyon ile olurken, bu greftlerde, osteoindüksiyon görülmemektedir (6). Sentetik materyallerin de osteoindüktif özelliği bulunmamaktadır (1). Demineralize kemik allogreftlerinin kullanımında ise, iyileşme osteoindüksiyon ile gerçekleşmektedir (7-9). Araştırmacılar, klinik uygulamalarda değişen düzeyde başarı elde edilmesini, demineralizasyon ve sterilizasyon işlemlerinde osteoindüktif proteinlerin her zaman yeterince prezerve edilememesine bağlamaktadırlar (7). Üretici firma tarafından iyileşmenin osteoindüksiyon ile sağlandığı iddia edilen solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipsleri hakkında ise literatürde kapsamlı ve yeterli sayıda çalışmaya rastlanmamıştır (6).

Bu görüşlerden hareketle çalışmamızda, son dönemlerde kullanıma giren allogreftlerden demineralize kemik matriksi ile solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipslerinin rat femurlarında oluşturulan kemik içi kavileri kullanılarak osteoindüktif potansiyel, fibröz doku gelişimi, enflamasyon, yabancı cisim reaksiyonu, fiziksel ataçman, greftte rezorpsiyon ve biyokompatibilite yönüyle iki greft materyalinin karşılaştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, ağırlıkları 200-240 gram arasında değişen 3 aylık dişi 20 adet rat üzerinde yapılmıştır.

Çalışmamızda, allogreft olarak demineralize kemik matriksi'nin jel formu (Grafton Demineralized Bone Matrix Gel 1 cc, Osteotech, USA) ve solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz mikro çips granülleri (Tutuplast Cancellous Micro Chips 1mm, Tutogen Medikal, Germany) kullanılmıştır.

Uygulamanın yapılacağı deneklerin anestezileri, 0.6 mg ketamin hidroklorürün (Ketalar, Eczacıbaşı) intramüsküler enjeksiyonu ile sağlandı. Çalışmaya dahil edilen 20 rat her biri 10 rattan oluşan 2 gruba ayrıldı. Ratların sağ bacağına iç yüzü traş edildikten sonra, %10 Povidone-Iodine solüsyonu (Betadine, Kansuk, Türkiye) ile silindi. Femurun her iki ucu palpe edilerek 15 numara bistürü ile femura paralel 1 cm'lik deri insizyonu yapıldı. Bunu takiben künt diseksiyon ile femur açığa çıkartıldı. 0.14 numara rond frez (Komet, Germany) kullanılarak, femur üzerinde serum fizyolojik irrigasyonu altında 10 mm uzunluğunda, 3 mm derinliğinde ve 2 mm genişliğinde kavite açıldı. I. Gruptaki ratların kemik kavitesi demineralize kemik matriksi ile, II. gruptaki ratların kemik kavitesi de %0.9'lük serum fizyolojik solüsyonu içerisinde minimum 30 dakika süre ile rehidratasyon işlemi yapılan kansellöz mikro çips granülleri ile dolduruldu. Periost ve cilt altı dokular, 3.0 poliglalin (Vicryl, Ethicon Limited, Belgium) sütür ile, cilt ise 3.0 ipek (Boz, Türkiye) sütür ile primer olarak kapatıldı.

Postoperatif dönemde herhangi bir medikal tedavi veya özel bir diyet uygulanmadı. İyileşme döneminde, sadece demineralize kemik matriksi uygulanan bir ratta osteomyelit gelişti.

Her iki gruptaki deney hayvanlarının yarısı 4. haftanın sonunda, geriye kalanlar ise 8. haftanın sonunda aşırı doz sodium thiopentone'un (Pental Sodyum, İ.E. Ulugay İlaç San. T.A.Ş.) intraperitoneal enjeksiyonu ile sakrifiye edildi ve daha önce tarif edildiği şekilde femur açığa çıkartıldı.

Elde edilen örnekler %10'lük formalinde fikse edildiler. Diyarbakır Devlet Hastanesi Patoloji Bölümünde %15'lik formik asitte dekalsifiye edilerek parafin bloklara gömüldüler. Parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında seri kesitler alınarak preparatlar hematoksil-eozin ile boyandı ve ışık mikroskobu altında incelendi. Bu histopatolojik incelemede; osteoindüktif potansiyel, fibröz doku gelişimi, enflamasyon, yabancı cisim reaksiyonu, fiziksel ataçman, greftte rezorpsiyon ve biyokompatibilite kriterleri dikkate alındı



BULGULAR

Klinik olarak demineralize kemik matriksi uygulanan bir örnekte gelişen osteomyelit dışında tüm implantasyon bölgelerinin normal olarak iyileştiği görüldü.

Demineralize Kemik Matriksi Uygulanan Grup (1. Grup):

4 haftalık dönemde; Osteoindüktif potansiyelin zayıf olduğu izlendi. Fibröz doku gelişiminin orta derecede olduğu ve bu dokunun oldukça vaskülarize olduğu görüldü. Bu dönemde yeni oluşan kemik iliğinin varlığı dikkat çekiyordu. Enflamasyon vakaların çoğunda hafif derecede idi, yalnız bir vakada belirgin bir osteomyelit tespit edildi. Yabancı cisim reaksiyonu tespit edilmedi. Yine bu dönemde fiziksel ataçmanın iyi olduğu ve greftte rezorpsiyonun olmadığı görüldü. Biyokompatibilite iyi olarak değerlendirildi (Tablo 1), (Resim 1,2).

Tablo 1. Demineralize Kemik Matriksi Uygulanan Grup

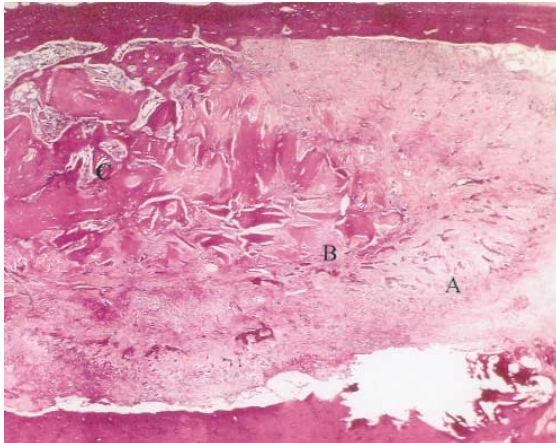
Kriterler	4 Haftalık	8 Haftalık
Osteoindüktif Potansiyel	+	++
Fibröz Doku Gelişimi	++	+
Enflamasyon	+	+/-
Yabancı Cisim Reaksiyonu	-	-
Fiziksel Ataçman	++	+++
Greftte Rezorpsiyon	-	-
Biyokompatibilite	++	+++

Yok: -

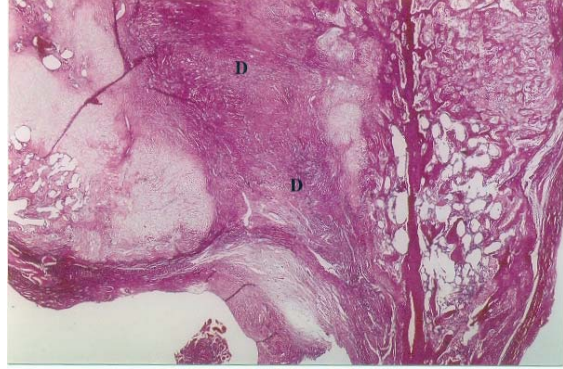
Zayıf: +

İyi: ++

Daha iyi: +++

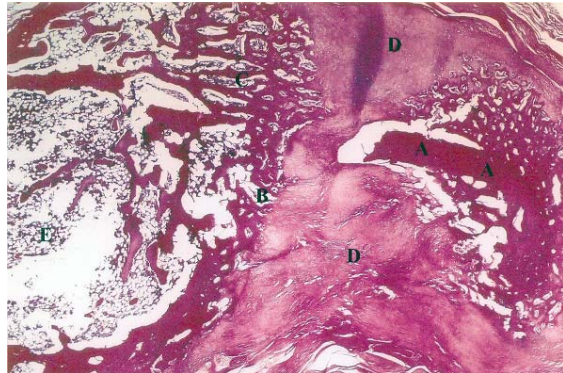


Resim 1. DBM uygulanan grubun 4. haftadaki histopatolojik görünümü: DBM (A), Fiziksel ataçman (B), Yeni kemik oluşumu (C)



Resim 2. DBM uygulanan grubun 4. haftadaki histopatolojik görünümü: Fibröz doku gelişimi (D)

8 haftalık dönemde; Osteoindüktif potansiyelin 4 haftalık döneme göre daha fazla olduğu görüldü. Fibröz doku gelişimi 4 haftalık gruba göre daha azalmıştı. Yine enflamasyonun da 4 haftalık döneme göre daha azalmış olduğu izlendi. 4 haftalık dönemde olduğu gibi 8 haftalık dönemde de yabancı cisim reaksiyon ve greftte rezorpsiyon tespit edilmedi. Fiziksel ataçman ve biyokompatibilite 4 haftalık döneme göre daha iyi olarak değerlendirildi (Tablo 1), (Resim 3).



Resim 3. DBM uygulanan grubun 8. haftadaki histopatolojik görünümü: DBM (A), Fiziksel ataçman (B), Yeni kemik oluşumu (C), Fibröz doku gelişimi (D), Kemik iliği (E)

Solventlerle Dehidrate Edilmiş Kansellöz Kemik Çipsi Uygulanan Grup (2. Grup):

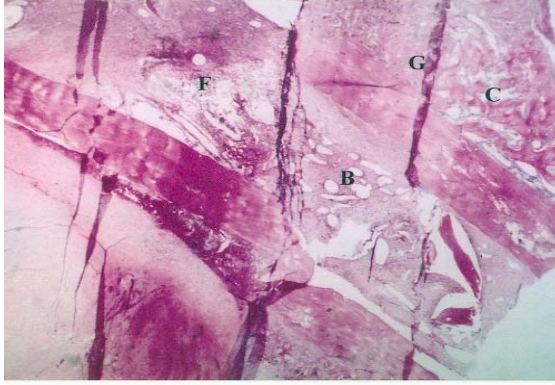
4 haftalık dönemde; Osteoindüktif potansiyelin, 4 haftalık demineralize kemik matriksi grubuna göre daha zayıf olduğu tespit edildi. Bu dönemde, fibröz doku gelişiminin orta derecede olduğu ve fibröz dokunun 4 haftalık demineralize kemik matriksi grubundaki kadar vaskülarize olmadığı görüldü. 4 haftalık demineralize kemik matriksi grubunda olduğu gibi bu grupta da kemik iliği oluşmaya

başlamıştı. Enflamasyonun hafif şiddette olduğu ve yabancı cisim reaksiyonunun görülmediği kaydedildi. Fiziksel ataçmanın, 4 haftalık demineralize kemik matriksi grubuna göre daha zayıf olduğu saptandı. Greftte yer yer rezorpsiyon izlenirken yine biyokompatibitenin iyi olduğu belirlendi (Tablo 2), (Resim 4,5).

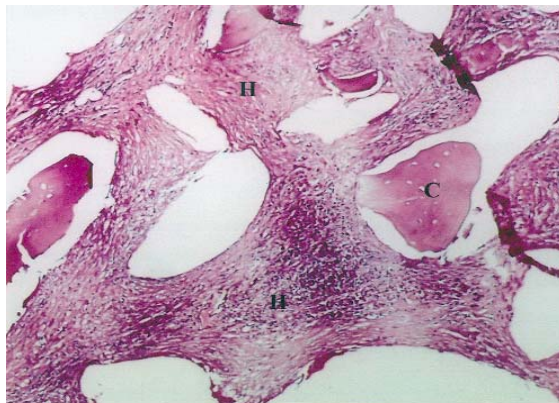
Tablo 2. Solventlerle Dehidrate Edilmiş Kansellöz Kemik Çipsi Uygulanan Grup

Kriterler	4 Haftalık	8 haftalık
Osteoindüktif Potansiyel	+/-	+
Fibröz Doku Gelişimi	++	+
Enflamasyon	+	+/-
Yabancı Cisim Reaksiyonu	-	-
Fiziksel Ataçman	+	+++
Greftte Rezorpsiyon	+	+
Biyokompatibilite	++	++

Resim 4. Kemik çipsi uygulanan grubun 4.

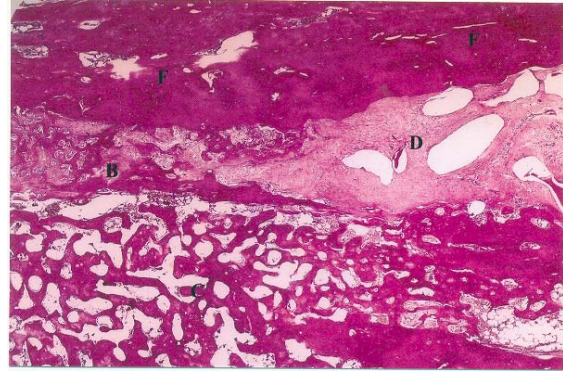


haftadaki histopatolojik görünümü: Kemik çipsleri (F), Fiziksel ataçman (B), Yeni kemik oluşumu (C), Greftte rezorpsiyon (G)



Resim 5. Kemik çipsi uygulanan grubun 4. haftadaki histopatolojik görünümü: Yeni kemik oluşumu (C), Enflamasyon (H)

8 haftalık dönemde; Osteoindüktif potansiyelin 4 haftalık allojenik kemik çipsi uygulanan gruba göre daha fazla, ancak 8 haftalık demineralize kemik matriksi uygulanan gruba göre ise az olduğu saptandı. Fibröz doku gelişimi 4. haftaya göre daha az, 8 haftalık diğer greft grubuna göre ise daha fazlaydı. Enflamasyonun, 4. haftaya göre daha azaldığı, fakat 8 haftalık demineralize kemik matriksi uygulanan gruba göre daha fazla olduğu belirlendi. Yine bu grupta da yabancı cisim reaksiyonu tespit edilmedi. Bu dönemde fiziksel ataçmanın 8 haftalık diğer grupla hemen hemen aynı olduğu, greftte rezorpsiyonun hafif derecede olduğu ve biyokompatibitenin 4 haftalık dönemle eşit derecede iyi olduğu izlendi (Tablo 2), (Resim 6).



Resim 6. Kemik çipsi uygulanan grubun 8. haftadaki histopatolojik görünümü: Kemik çipsleri (F), Fiziksel ataçman (B), Yeni kemik oluşumu (C), Fibröz doku gelişimi (D)

TARTIŞMA

Kraniomaksillofasiyal uygulamalarda; osseöz konjenital deformitelerin, travmaya bağlı olarak ortaya çıkmış deformitelerin ve osseöz patolojilerin cerrahi eksizyonundan dolayı açığa çıkan geniş kemik defektlerinin iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla çeşitli kemik greftleri veya kemik yerine geçen biyomateryallerin kullanımı bazen kaçınılmazdır (2,10). Günümüzde kraniomaksillofasiyal cerrahi uygulamalarda, bu amaçla çeşitli doğal ve sentetik biyomateryaller kullanılmaktadır. Bunlar heterogreft veya ksenogreft, allogreft veya homogreft ve otogreft şeklindedir. Ayrıca tümüyle sentetik biyomateryaller olan alloplastlarda geniş kullanım alanına sahiptir (10).

Kemik defektlerinin doldurulmasında kullanılan greft materyallerinde aranan başlıca özellikler ise; tek bir cerrahi işlemle elde edilebilme, antijenik özelliğinin olmaması, revaskularizasyon, osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteogenezisi kolaylaştırabilme, defekte stabilite ve destek sağlama, kolayca şekil verilebilme, termal olarak nonkondüktif olma, radyolüsent bir görünüm verme ve uzun süre saklanabilir (11, 14).

Halen en iyi greft materyali otojen kemik olmakla birlikte, bu greft materyallerinin birçok dezavantajından dolayı, daha ideal greft materyali arayışları halen devam etmektedir. (2, 10).

Otojen greft materyaline alternatif olarak geliştirilen bir greft materyali, DBM'dir. 1965 de Urist, kas içine uygulanan ceplere DBM implantasyonunun inflamatuvar bir cevap oluşturduğunu ve hemopoyetik kemik iliği aralıklarının gelişimiyle tam bir endokondral kemik formasyonunu özetleyen bir proses başlattığını rapor etmiştir. Bu keşif; DBM'in kemik fraktürlerinin iyileşmesini arttırmada, spinal füzyonda, intraossöz periodontal defektlerde ve yeni kemik formasyonu gereken ortopedik, maksillofasial ve periodontal cerrahi bölgelerinde bir allogreft doku olarak kullanımına yol açmıştır (15). DBM'in sterilizasyonu için %70'lik etanol kullanılmakla birlikte bazen de bioyükü azaltmak için düşük doz gamma radyasyon da (1.0-1.6 megarads) tercih edilmektedir (16).

Çalışmamızda kullandığımız diğer allogreft olan solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipsleri (Tutoplast-Spongioza), insan orjinli seçilmiş donörlerin femur başlarından elde edilmiştir. Bu greft, solvent ve ilave edilen güçlü alkalilerle dehidrate edilip muhtemel virüslerden elimine edilmektedir. Solventler, özellikle CJD (Creutzfeldt-Jakob Disease), HIV ve hepatit virüslerini inaktive etmede etkili olmakla birlikte, ek güvenlik amacıyla kemik greftleri 1.5 Mrad'lık gamma radyasyon ile ek bir sterilizasyona maruz tutulmaktadır (17). Anlatılan işlemler sırasında greftin osteoindüktif proteinlerinde minimal kayıp gözlemlendiği için, greftin iyileşmesi osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon ile olmaktadır. Defektin büyüklüğüne göre değişimle

birlikte, maksimum 1.5 yıl içerisinde greft tamamen rezorbe olmakta ve yerini normal kemik dokusuna bırakmaktadır (6).

Tiedeman ve ark. (18), köpeklerde deneysel olarak oluşturdukları kaynaşmamış tibia fraktürlerinde DBM kullanmışlardır. Postoperatif 12 hafta sonra yapılan histolojik değerlendirmede, bol miktarda kartilaj, izole kalsifiye kartilaj bölgeleri ve endokondral ossifikasyon ile yeni kemik formasyonu tespit edilmiştir. Boş bırakılan kontrol grubunda ise minimal yeni kemik formasyonu ile fibröz doku gözlenmiştir.

Yamamoto ve ark. (19), erkek Wistar ratların premaksillalarında oluşturdukları kritik boyuttaki defektleri 7 mg'lık DBM ile doldürmüşler ve kontrol grubundaki defektleri boş bırakmışlardır. Çalışmanın sonunda, greftlenmemiş grubun fibröz doku ile iyileştiği ve periferde az miktarda kemik formasyonunun oluştuğu, DBM ile greftlenen grupta ise 35 günde ossöz köprü ile yeni kemik oluştuğunu bildirmişlerdir.

Shen ve ark. (20), tavşanlarda yaptıkları deneysel çalışmada, 16. haftada DBM'in hala endokondral ossifikasyon geçirdiğini belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda da DBM'in, diğer çalışmalara paralel olarak osteoindüktif potansiyele sahip olduğu belirlendi.

Literatürde, DBM'in osteoindüktif etkisi üzerine farklı görüşler mevcuttur. Groeneveld ve ark. (15), maksiller sinüs elevasyonunda kullandıkları DBM'in, mineralize doku volümünü, remineralizasyon prosesi ile arttırdığı sonucunu çıkarmışlar ve DBM ile osteoindüksiyonun kesin olmadığını düşünmüşlerdir. Becker ve ark. (21), köpek ekstraksiyon soketinde yaptıkları bir çalışmada, DFDBA'nın nadiren spongiöz kemikle çevrelendiği, parçalandığı ve sonra osteoklastik ve osteoblastik aktivite olmaksızın remineralize olduğu vurgulanmıştır. Becker ve ark. (22), insan ekstraksiyon soketlerinde DFDBA'nın, kemik formasyonunu teşvik etmede herhangi bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir.

El defekti olan ve otojen greft uygulamasını refüze eden hastalara uygulanan demineralize kemik greftinin postoperatif 54 aylık takip süresince hiçbir komplikasyona sebep olmadığı



bildirilmiştir (23). Neigel ve Ruzicka (24) kullandıkları DBM'in hiçbir komplikasyona sebep olmadığını ifade etmişlerdir. Bir başka çalışmada 44 hastada DBM kullanılmış ve 4 hastada enfeksiyon oluşmuştur. (25). Zuev ve ark. (26), periodontal defektlerde DBM kullanmışlar ve hastalarının %3.6'sında greft reddi ile karşılaştıklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, DBM'li grupta sadece bir vakada belirgin bir osteomyelit varlığı tespit edilirken, diğer vakalarda herhangi bir komplikasyonla karşılaşmamıştır.

Erk ve ark. (27), yaşları 8 ay ve 9 yaş arasında değişen kraniofasiyal anomalili 5 hastada, solventlerle dehidrate edilmiş kranial kemik allogreftlerini kullanmışlar ve 4. ve 12. aylarda yaptıkları histolojik değerlendirmede vaskülarizasyonun olduğu bölgelerdeki kemiğin canlılığının başladığını tespit etmişlerdir. Postoperatif kontrollerde hiçbir enfeksiyon (HIV, CJV) ile karşılaşmadıklarını vurgulamışlardır.

Akal ve Cambazoğlu (6), kistektomi ve kronik enfeksiyon bölgelerinin küretajı ve apikal rezeksiyon sonucu oluşan kemik defektlerinde, Aybar ve ark. (133) da sıçan tibia defektlerinde kullandıkları solventlerle dehidrate edilmiş allojenik kemik greftinin biyoyumlu olduğunu bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda hem DBM hemde solventlerle dehidrate edilmiş allojenik kemik greftinin biyoyumlu olduğunu tespit ettik.

Yine çalışmamızda; 4 haftalık periyotta solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipslerinin, DBM'e göre daha az osteoindüktif potansiyele sahip olduğu, meydana gelen fibröz dokunun DBM'deki kadar vaskülarize olmadığı gözlemlendi. 8 haftalık periyotta ise, solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipslerinin kullanıldığı grupta, DBM'li gruba oranla daha az osteoindüktivite görüldüğü, enflamasyonun daha fazla olduğu ve fibröz doku gelişiminin DBM'e göre daha fazla olduğu saptandı.

Bu deneysel çalışmamızda; DBM'in, sahip olduğu yüksek oranda osteoindüktif potansiyel sayesinde yeni kemik oluşumunu teşvik etmesi yönüyle, solventlerle dehidrate edilmiş kansellöz kemik çipslerine tercih edilebileceği ve çalışmamızın klinik uygulamalar ile desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, et al. Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications: J Am Acad Orthop Surg, 1995; 3: 1-8.
2. Bernard GW. Healing and Repair of Osseous Defects. Dent Clin North Am, 1991; 35: 469-477.
3. Ekelund A, Nilsson O. Effects of Cyclosporin A on Bone Turnover and on Resorption Demineralized Bone Matrix. Clinical Orthopaedics and Related Research 1996; 326: 127-134.
4. Bauer TW, Muschler GF. Bone Graft Materials: Clinical Orthopaedics and Related Research, 2000; 371: 10-27.
5. Goldberg VM, Stevenson S. The Biology of Bone Grafts: Seminars in Arthroplasty, 1993; 4: 58-63.
6. Akal ÜK, Cambazoğlu M. Kistektomi, Kronik Enfeksiyon Bölgelerinin Küretajı ve Apikal Rezeksiyon Operasyonu Sonucunda Oluşan Kemik Defektlerinde Solventlerle Dehidrate Edilmiş Spongios Kemik Çipslerinin Kullanılması. A Ü Dış Hek Fak Derg 1995; 22: 103-108.
7. Feighan JE, Davy D, Prewett AB, et al. Induction of Bone by a Demineralized Bone Matrix Gel: A Study in a Rat Femoral Defect Model. J Orthop Res, 1995; 13: 881-891.
8. Hu Y, Wang J, Lu S. The Effect of Microwave Heating on Osteoinduction of Demineralized Bone Matrix. Zhonghua Wai Ke Zhi, 1997; 35: 564-567.
9. Yamamoto TT, Kawakami M, Sakuda M. Effect of Pulsing Electromagnetic Field on Demineralized Bone-Matrix-Induced Bone Formation in a Bony Defect in the Premaxilla of Rats. J Dent Res, 1992; 71: 1920-1925.
10. Constantino PD, Friedman CD. Soft-Tissue Augmentation and Replacement in the Head and Neck. Otolaryngol Clin North Am, 1994; 27: 1-12.
11. Chalmes J, Gray DH, Rush J. Observation on the Induction of Bone in Soft Tissue. J Bone and Joint Surg, 1975; 57:36-45.
12. Piecuch JF, Ponichtera A, Nikoukari H. Longterm Evaluation of Porous Hydroxyapatite Blocks For Alveolar Ridge Augmentation. Int J Oral Maxillofac Surg, 1990; 19: 147-150.

13. Solheim E, Pinholt EM, Bang G, et al. Regeneration of Calverial Defects by a Composite of Bioerodible Polyorthoester Demineralized Bone in Rats. *J Neurosurg*, 1992; 76: 275-279.
14. Gülsün B, Erol B, Yılmaz F, et al. Sentetik bir Kemik Alloplastı ile Ksenojenik bir Kemik Greftinin Osteogenezis Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması. *Türk Oral Maksillofas Cer Derg*, 1997; 1: 1-9.
15. Groeneveld EHJ, van den Bergh JPA, Holzmann P, et al. Mineralization Processes in Demineralized Bone Matix Grafts in Human Maxillary Sinus Floor Elevations. *J Biomed Mater Res*, 1999; 48: 393-402.
16. Urist MR, Silverman BF, Buring K, et al. The Bone Induction Principle. *Clin Orthop Rel Res*, 1967; 53: 243-283.
17. Dumbach J, Rodemer H. Solvent-Preserved Human Cartilage for Correction of Contour Defects in Maxillofac Surgery, *Deutsche Zeitschrift Für Mund-Kiefer-und Gesichtschirurgie*, Carl Hanser Verlag, München, 1994; 3: 2-7.
18. Tiedeman JJ, Connolly JF, Strates BS, et al. Treatment of Nonunion by Percutaneous Injection of Bone Marrow and Demineralized Bone Matrix. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1991; 268: 294-302.
19. Yamamoto TT, Kawakami M, Sakuda M. Defects of the Rat Premaxilla as a Model of Alveolar Clefts for Testing Bone-Inductive Agents. *J Oral Maxillofac Surg*, 1993; 51:887-891.
20. Shen WJ, Chung KC, Wang GJ, et al. Demineralized Bone Matrix in the Stabilization Porous-Coated Implants in Bone Defects in Rabbits. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1993; 293: 346-352.
21. Becker W, et al. Variations in Bone Regeneration Adjacent to Implants Augmented With Barrier Membranes Alone or With Demineralized Free-Dried Bone or Autologous Grafts: A Study in Dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1995; 10: 143-154.
22. Becker W, Becker BF, Caffesse R. A Comparison of Demineralized Freeze-Dried Bone and Autologous Bone to Induce Bone Formation in Human Extraction Sockets. *J Periodontol*, 1994; 65: 1128-1133.
23. Upton J, Glowacki J. Hand Reconstruction With Allograft Demineralized Bone: Twenty-Six Implants in Twelve Patients. *J Hand Surg* 1992; 17A: 704-713.
24. Neigel JM, Ruzicka PO. Use of Demineralized Bone Implants in Orbital and Craniofacial Reconstruction and a Review of the Literature: *Ophthal Plast Reconstr Surg*, 1996; 12: 108-120.
25. Mulliken JB, Glowacki J, Kaban LB, et al. Use of Demineralized Allogeneic Bone Implants for the Correction of Maxillocraniofacial Deformities: *Ann Surg* 1981; 194: 366-372.
26. Zuev VP, Dmitrieva LA, Pankratov AS, et al. The Comparative Characteristics of Stimulators of Reparative Osteogenesis in the Treatment of Periodontal Diseases. *Stomatologiya*, 1996; 75: 31-34.
27. Erk Y, Benli K, Mavili ME, et al. Solvent Dehydrated Cranial Bone Alografts in Craniofacial Surgery: *World Conference on Pediatric Neurosurgery* 1999.
28. Aybar B, Yalçın S, Gürel A, et al. Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu ve Çeşitli Greft Materyallerinin Kemik Defektleri Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. *T Klin Diş Hek Bil*, 2000; 7:22-27.

Yazışma Adresi

Mehtap HERDEM ATAY
Dicle Üniv. Diş Hek. Fak. Ağız-Diş-Çene Hast. ve Cerrahisi A.D.

