

SILICO-DESSICATION YÖNTEMİ İLE KONSERVE EDİLEN KEMİK HOMO-
GREFLERİN KÖPEKLERDE EKSPERİMENTEL UYGULAMALARI ÜZERİNDE
ÇALIŞMALAR*

Arkun Candaş*

**Les travaux sur l'application experimentale des homogreffes osseuses conser-
vées par silico-dessication chez les chiens.**

Résumé: Dans nos travaux, il s'agit de la conservation des greffes osseuses par Silico-dessication et de l'application experimentale des homogreffes conservées compactes et spongieuses chez les chiens. Les greffes osseuses compactes et spongieuses obtenues sous les conditions aseptiques de 6 chiens donneurs en bonne santé ont été conservées suivant des durées différents en milieu acide silicique (gel de silice). La durée de conservation variant de 35-113 jours, les greffes compactes et spongieuses d'une dimention $5 \times 30-5 \times 50$ mm. ont été appliquées par sous periostale sur un tiers de fémure chez 20 chiens par la méthode. Lors de la première semaine, les controles radiologiques et cliniques durant 3 mois sur les chiens récepteurs, il a été bien tolérées, aucun phénomène de rejet n'a été observé. Les greffes spongieuses avait produit une stimulation osteogénique précoce par vue formation callus une soundure aussi précoce sur l'os récepteur.

Özet: Bu çalışmada, kemik greflerinin Silico-dessication yöntemi ile konservasyonu ve konserve kompakt ve spongiöz kemik homogreflerin köpeklerde eksperimental uygulamaları konu edilmiştir. Sağlıklı 6 verici köpekten, aseptik koşullarda alınan kompakt ve spongiöz kemik grefler, şimik bir desikatör olan gel de silice (acide silicique) ile değişik sürelerde konserve edilmiştir. Konservasyon süreleri 35-113 gün arasında değişen, $5 \times 30-5 \times 50$ mm. boyutlarındaki kompakt ve spongiöz kemik grefler, toplam 20 köpekte femur'un orta $1/3$ üne, kendi boyutlarında oluşturulan defekte in-lay yöntemi ile subperiostal olarak uygulanmıştır. Operasyonların ilk haftasından itibaren, alıcı köpeklerde 3 ay süreyle yapılan klinik ve radyolojik kontrollerde konserve homogreflerin alıcı kemik tarafından iyi bir şekilde tolere edildiği saptanmış, reddine ilişkin

* Doçentlik tezinden özetlenmiştir.

** Doç.Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara.

bir fenomen belirlenmemiştir. Kompakt greflere oranla, spongiöz greflerin alıcı kemikte daha erken osteojenik stimülasyon meydana getirdiği ve daha erken bir kallus formasyonu ile alıcı kemikle kaynaştığı saptanmıştır.

Giriş

Kemik grefi sözcüğü, bir kaynaktan alınan kemiğin alıcı kemiğe transferini tanımlar. İlk kemik grefi 1859 da Ollier tarafından bir tibia kırığına tavşan radius'u transplante edilerek gerçekleştirilmiştir (10,20,21,25,26,43).

Taze otogreflerin mükemmel bir şekilde osteojenik impuls meydana getirmesi ncdeniyle diğer tip greflere göre tartışılmaz üstünlüğü Ollier, Macewen ve Cuneo'nun çalışmalarıyla kanıtlanmıştır (23, 26,28). Veteriner ortopedik şirurjide hayli uygulama alanı bulan bu tip greflerin, köpeklerde lokalize osteitis fibrosa cystica, komplike femur kırığı, artrodez, radio-carpal deformasyonların düzeltilmesi ve parçalı kırıkların sağıtımı ile osteomyelitis olgularında enfekte kaviterin doldurulmasında olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir (7,15,16,17,27,28,29,31,35,40,42).

İlk kez taze homogrefi Macewen humerus'taki bir pseudoarthrose'u sağıtmaq amacıyla uygulamıştır (5,14,20,21,23,26,28,41). Sonraki yıllarda Judet, Lexer, Tavernier ve Cuneo'nun teknik plan-daki bu cesaretili girişimlerinin sonuçları ümit verici olmamıştır (26, 36). Perot, bir köpekte kommutif humerus kırığında taze homogref ile iyi bir konsolidasyon sağladığını kaydetmiştir (33).

Taze heterogref kullanımı, sağlanmasındaki kolaylığı ncdeniyle başlangıçtan beri çok sayıda araştıracının ilgisini çekmiştir. Örneğin Macewen (1874) köpek parietal kemiğinden gref yapmış, Ollier (1889) köpek tibiasını uygulamış, Kronacker (1897) dana kemiği, Mac Gıl (1889) tavşan kemiği, Lambert (1909) domuz metacarpus'u, Voronoff (1914) maymun kemiği, Duval (1915) koyun kemiği kullanmışlardır. Ancak bu farklı uygulamalardan büyük çoğunluğu başarısızlıkla sonuçlanmış ve taze heterojen gref terkedilmiştir (1,3, 19,26,38).

Konserve Kemik Grefleri

Taze homo ve heterogref uygulamalarında elde edilen olumsuz sonuçlar, pek çok araştıracıyı gref konservasyonuna yönlendirmiştir. Gene ilk kez Ollier (1867) greflerini modifiye etmek için bunlar

soğukta saklamayı düşünmüş ve $+1^{\circ}\text{C}$ de konserve edilen tavşan kemiğinin $+5$ ve $+10^{\circ}\text{C}$ de saklanan kemikten üstünlüğünü belirtmiştir (20,26). Barth (1895) bu konuda yaptığı çalışmalarda, tüm gref dokusunun ölümü sonucunu görerek, gerçekten konserve kemik uygulama alanına yeni bir perspektif kazandırmıştır (4). Leriche ve Policard (1925) kemik transplantlarının daima tümüyle öldüğünü kanıtlayan eksiksiz çalışmaları ile kemik konservasyonunun pratik değerini ortaya koymuşlardır (4,21,24,26).

Günümüze kadar kemik konservasyonu amacıyla Alcool, Phenol, Sublime, Aether ve Acide Chlorhydrique gibi likit konservatörler pek çok araştırmacı tarafından denenmiş, ancak sellüler yapıyı bczduğu kısa sürede farkedilmiştir (6,20,24,36). Değişik yöntemlerle kemiğin kaynatılarak sterilizasyonu ile elde edilen gref uygulamalarının sonuçları her zaman ümit verici olmamıştır (19,20,30,36). Ancak Coupland, otoklavda 132°C de 15 dakikada strilize ettiği kemiği, otogref olarak 4 köpekte denemiş ve olumlu sonuç aldığını bildirmiştir (8). Orell (1931), os purum adını verdiği ve fiziko-şimik yöntemlerle organik elemanlarından arındırdığı kemiği uygulamadaki başarısızlığını kısa sürede kabullenerек os purum yerine os novum kullanmıştır (26,30).

1. Dünya Savaşından önceki yıllarda Carrel, Tuffier ve Magitot, dondurulmuş homogref uygulamalarının başarılı sonuçlarını bildirmişlerdir (13,26,36,37). Inclan (1942) sıtratl kan veya sıtratl kanserum fizyolojik banyosunda -2°C de saklanan 43 otogref ve 8 homogref olgusunu yayınlıyarak bu yöntemi güncel hale getirmiştir (12,18,20). Gerber (1946), Busch ve Wilson (1947) düşük ısıda dondurularak saklanan gref uygulamalarını başarı ile gerçekleştirmişler, böylece Kemik Bankası düşüncesi artık gerçekleşmeyecek bir düşünölmaktan çıkmıştır (10,13,19,44). Bu araştırmacılarından kısa bir süre sonra A.B.D.de 1951 yılında ilk kemik bankası kurulmuş (25), Wilson'un öncülüğünü yaptığı bu yöntem Judet ve Herbert tarafından Fransada uygulamaya konarak homojen ve heterojen kemik transplantasyonlarında yeni bir dönem başlamıştır (10,11,12,19,20). Günümüzde daha da geliştirilmiş Lyophilisation-Cryodessication (Dondurma-Kurutma) yöntemi ile elde edilen mükemmel kalitedeki grefler uygulamada çok iyi sonuç vermekte ve başlıca kemik bankaları tarafından kullanılmaktadır (9,10,22,26).

Silico-Dessication yöntemi ilk kez Payrau ve Pouliquen tarafından tanımlanmış cornea ve sclera konservasyonu için kullanılmıştır.

Araştırmacılar şimik bir desikatör olan gel de silice'in kolay ve avantajlı bir konservatör olduğunu, kemik, kıkırdak, fascia ve damar greflerinin konservasyonunda kullanılabileceğini belirtmişlerdir (32). Navarro, buzağı fetüsü ve köpekten elde ettiği kemik greflerini bu yöntemle konserve etmiş, bu grefleri rehydrate ettikten sonra heterogref olarak kedilerde deneysel olarak kullanmıştır. Araştırmacı, canlı dokularda intrasellüler sıvının, hücre için en az zararlı olacak tarzda tamamının süratle eliminasyonunun hücrel reaksiyonları önlediği, böylelikle bu dokuların konserve edilebildiğini hatırlatarak, gel de silice'in normal sıcaklıkta 24 saatte kemik greflerinin suyunun hemen tamamını absorbe ederek uzun süre konservasyon olanağı sağladığını belirtmiştir (26). Arambarri, bu yöntemle konserve edilen homogrefleri 4 köpekte kırık sağıtımı amacıyla kullanmış, hiçbir enfeksiyon ve red fenomeni ile karşılaşmadığını bildirmiştir (2).

Kemik Transplantlarının Evolüsyonu

Kemik greflerinin transplante edildikleri yerde ne şekilde osteojenik etki meydana getirdiğini veya değişime uğradığını açıklayan farklı düşünce ve teoriler vardır.

1. Fibro-Oseöz Metaplazi Teorisi: Bu teoriye göre, bağ dokunun kollageni, kıkırdağın hyalini ve kemiğin osteoidi, fiziksel yapıları bakımından farklı olmalarına rağmen, kollagenoblast, kondroblast ve osteoblast olarak adlandırılan bu hücreler, tek bir ana hücreden, fibroblast'tan meydana gelmektedir. Fibroblast'ın bu üç tür değişimine etkiyen faktörler henüz bilinmemektedir. Çevrenin pH'sı, kanlanması, mineral tuzlar, stresler ve bilinmeyen diğer faktörlerin varlığını kabul edilmektedir. Kemik greflerine karşı gref yatağının reaksiyonu, vücudun herhangi bir yerindeki bağ dokusu tamirinin aynı olduğu belirtilmiştir(5, 10).

2. Hüморal Faktörler: Bu teoride, hüморal faktörlerin serbest hale geçerek yeni kemik formasyonuna neden olduğu, ayrıca paratiroid, böbrek üstü, tiroid, hipofiz, pitüiter ve cinsiyet hormonlarının etkileri tartışılmıştır(10).

3. Biyoşimik Faktörler: Berkley, kemik greflerinin osteojenik etkileri üzerinde biyoşimik faktörlerin önemine değinmiştir (10).

4. Osteojenik Stimülasyon Teorisi: Phemister, canlı kemik hücreleri içermeyen greflerde bile, geç ve güçte olsa zamanla kemikleşme olduğuna göre, bu olayda osteojenik bir stimülasyon gerektiği teorisi-

ni ortaya koymuştur. Bu stimülasyon sayesinde, ölü kemik yerine canlı kemiğin yer alması kuralına "Creeping Substitution" veya "Creeping Replacement" adı verilmiştir. Yeni oluşan kemikleşmenin hızı, gref ile gref yatağı (alıcı kemik) arasındaki sıkı ilişkiye ve grefin yapısına bağlıdır(4,10,12,26).

Leriche ve Policard, kemik greflerinin tümüyle öldüğünü ve oluşan yeni kemik tarafından rehabite edildiğini belirtmişlerdir(4, 12,24,36,39).

Herbert, Hickman ve Leonard, genel anlamda kemik greflerinin ölü transplantlar olduğunu, ancak taze oto ya da homogreflerde subperiostal ve endosteal hücrelerin yaşamlarını sürdürebildiklerini ve yeni kemik formasyonu için gerekli impulsiyonu yaptıklarını bildirmektedirler(12,14,23).

Baronc, Stagnara, Valentin, Pavaux ve Meurier, transplante kemik dokusunun yavaş yavaş rezorbe olduğunu, yerini genç ve dayanıksız bir yeni kemik dokusunun aldığını ve bu asimilasyon sürecinin:

a) Transplantın ölümü, b) Hematomun organizasyonu, c) Transplantın revaskülarizasyonu, d) Transplantın rehabilitasyonu olarak 4 aşamada oluştuğunu belirtmişlerdir(4).

Materyal ve Metot

1. Materyal

Silico-dessication yöntemi ile konserve edilen kemik homogreflerin köpeklerde eksperimental uygulamaları konusunda yapılan bu çalışmada:

a. Klinik yönden sağlıklı olduğu saptanan ve koruyucu kuduz aşısı yapılan 6 köpek gref alma işleminde verici olarak kullanıldı.

Değişik yaş, ırk, cins ve ağırlıktaki toplam 20 köpek üzerinde, verici 6 köpektan alınan ve konservasyonu yapılan greflerin eksperimental uygulaması gerçekleştirildi.

b. Konservatör madde olarak Acide silicique (gel de silice) kullanıldı. Kimyasal formülü H_2SiO_2 olan bu şimik, inert madde, hafif azür mavisi renkte granül şeklinde olup, rutubetle etkilendiğinde rengi uçuk penbeye döner. Ağırlığının 5 katı su çekebilir ve $120^\circ C$ de rejenere ve sterilize edilir. Piyasada 250 gr.lık ambalajlarda kolay ve ucuz olarak sağlanır.

c. Gref alma ve uygulama sırasında rutin operasyon aletleri dışında, rujin, periost elevatörleri, düz ve oluklu kemik kesikleri, kemik makası ve Skryker'in çift lamli kemik testeresi, periost dikisi için 5/0 ve 6/0 atravmatik krome katgüt kullanıldı.

d. Greflerin ambalajı için alüminyum kağıt, alınan grefleri saklamak amacıyla ısıya dayanıklı ve hermetik kapaklı 250 cc.lik cam kavanozlardan yararlandı.

2. Metot

Operasyon Öncesi Uygulamalar:

Verici ve alıcı köpeklerde operasyon alanı geniş bir şekilde traş ve dezenfekte edildi. Gref alma ve uygulama sırasında anestezi Rompun premedikasyonu ve Nembutal ile gerçekleştirildi.

Operasyon sırasında kullanılan tüm aletler, örtüler ve greflerin ambalajında kullanılan delikli alüminyum kağıtlar elektrikli etüvde 150°C de 1 saat süre ile sterilize edildi. Alınan grefleri saklamak amacıyla kullanılan 250 cc.lik hermetik kapaklı cam kavanozlar 2/3 ü gel de silice ile doldurulmuş olarak elektrikli etüvde 120°C de 1,5 saat sürede kuru hava ile sterilize edildi, dolayısıyla içinde bulunan gel de silicede rejenere edildi.

Gref alma, konservasyon ve gref uygulama operasyonları sırasında asepsi ve antisepsi kurallarına çok titiz bir şekilde uyuldu.

Verici Köpeklerden Kompakt ve Spongioz Gref Elde Edilmesi:

Çalışmalarımızda, kompakt grefler tibia'nın diaphyse'inden ve 7-8. sternal costa'lardan, spongioz grefler ise ala ossis ilium'dan elde edildi. Seçilen bu kemiklerin gref alınacak bölümleri rujin ve periost elevatörleri yardımıyla deperioste edildi. Daha sonra Skryker'in çift lamli testeresi 0,5 cm. genişliğinde ayarlanarak paralel iki kesit yapıldı, grefi tutan alt ve üst bölümler kemik keski veya kemik makası yardımıyla 35-50 mm. uzunlukta kesilip alındı.

Gref alma işlemleri sonunda verici köpekler derhal sakrifiye edildi.

Greflerin Saklanması (Konservasyon):

Alınan grefler derhal steril gazlı bez içerisine konarak kurulandı. Konservasyon esnasında, konservatör madde ile temas etmesi için önceden hazırlanan steril delikli alüminyum kağıtlara sarı-

arak içinde gel de silice bulunan steril kavanczlara ayrı ayrı kondu. Kavanozların kapakları derhal kapatıldı ve kapakların kenarları ayrıca parafin ile kaplanarak greflerin hava ile teması kesinlikle önleildi. Kavanozlar etiketlendikten sonra normal oda sıcaklığında saklandı.

Greflerin Rehydratation'ları:

Konservasyon sırasında gref dehydrate olduğundan, konservatör madde içinden alınıp, alüminyum ambalajından çıkarıldığında gevrek, kolaylıkla kırılabilir ve güçlkle esner. Bu özelliklerinden dolayı uygulamadan önce rehydrate edilmeleri gerekir.

Gref alımı ve konservasyonunda asepsi kurallarına titizlikle uyulmasına rağmen, daha da güvenceli olması düşüncesiyle rehydratation, steril bir petri kutusu içerisinde 20 cc.serüm fizyolojik solüsyonuna ilave edilen 600 mg.Linkomisin hidroklorür banyosunda 20-25 dakikada gerçekleştirildi.

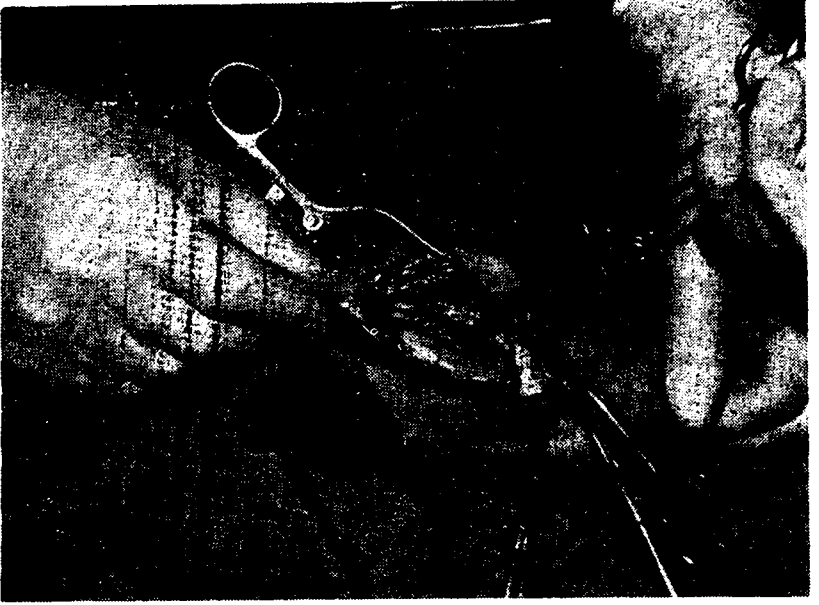
Rehydrate Edilen Greflerin Alıcı Köpekte Femur'un Diaphyse'ine Yerleştirilmesi:

Femur'un orta 1/3 üne antero-lateralden ulaşıldı. Deri, deri altı yağ katı ve fascia superficialis, trochanter major'dan itibaren patella yönünde yeterli uzunlukta ensize edildi. Daha sonra fascia lata, m. biceps femoris'in anterior kenarı boyunca ensize edilerek fascia lata'nın hemen altındaki m.vastus lateralis ve m.biceps femoris ayrırđedilerek femur'un diaphyse'i ortaya çıkarıldı. Bu yüzlek kaslar daha derinde bulunan m.vastus intermedius ve m.adductor ile birlikte otomatik ekartörün kolları arasına alındı.

Femur'un antero-lateral yüzünde ve uzunlaması eksenı yönünde periost, konacak grefin uzunluğunu yukarıdan ve aşağıdan biraz aşacak şekilde boydan boya bisturi ile çizildi. Rujin ve periost elevatörleri ile periost iki yana açıldı (Şekil 1). Bu şekilde deperioste edilen alanda, konacak grefin boyutlarında bir gref yatağı Skryker'in çift lamli kemik testeresi ve kemik keskişi ile açıldı (Şekil 2-3).

Kemik testeresi düşük devirde çalıştırılmasına rağmen, alıcı kemikte meydana getirebileceği ısı nedeniyle lokal nekroz olasılığına karşı, gref yatağı açılması işlemi, serum fizyolojik irrigasyonu altında gerçekleştirildi.

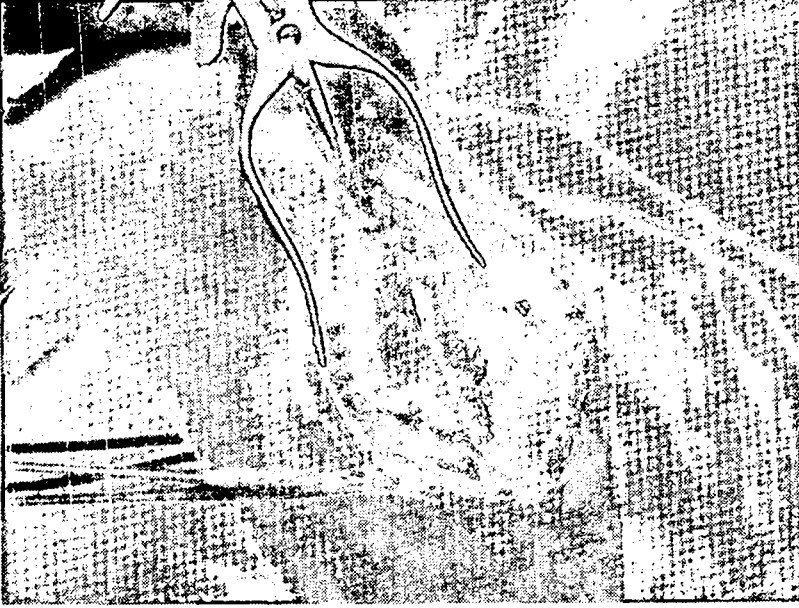
Gref, rehydrate edildiği petri kutusundan bir pensle alınıp, gref yatağına yerleştirildi (Şekil 4). Alıcı kemiğin periostu, gref üz-



Şekil 1: Gref koymak amacıyla orta 1/3 ünde deperioste edilen femur.



Şekil 2: Skryker'in çift lamli kemik testeresi ile femur'da gref yatağı hazırlanması.



Şekil 3: Uygulanacak gref boyutlarında femur'da oluşturulan gref yatağı.



Şekil 4: Gref, alıcı kemikte hazırlanan gref yatağına yerleştirildikten sonra.

rine örtülüp 5/0 veya 6/0 krome katgüt ile ayrı dikişlerle kapatıldı (Şekil 5-6).



Şekil 5: Gref konulduktan sonra alıcı kemiğin periostuna dikiş uygulanması.



Şekil 6: Alıcı kemiğin periostuna dikiş konulduktan sonraki görünüm.

Operasyon yarasının kapatılmasının ilk aşamasında, fascia lata, m.biceps femoris'in anterior kenarına 2/0 katgüt ile konan ayrı dikişlerle tespit edildi. İkinci sıra dikiş, gene 2/0 katgüt ile subcutan fascia ve yağ katına birlikte konuldu. Deri ipek iplikle ve ayrı dikişlerle kapatıldı.

Gref konulan bacak, kalça ekleminden itibaren tümüyle pamuk ve sargı beziyle bandaja alındı.

Operasyon Sonu Uygulamalar:

Gref uygulanan hayvan tam olarak anesteziden çıkıncaya kadar gözetim altında bulunduruldu ve operasyonu izleyen ilk bir haftalık sürede ayrı kafeslerde barındırıldı.

Hiçbir olguda postoperatif antibiyotik kullanılmadı.

Deri dikişleri 7. gün alındı ve ilk haftadan itibaren radyolojik kontroller periyodik olarak her hafta tekrarlanarak sonuçlar saptandı (Tablo 1).

Bulgular

1. Kemik grefi alma ve konservasyonuna ilişkin çalışmalarımızda her gruba ait 1 kompakt ve 1 spongiöz olmak üzere, 3 gruptan toplam 6 örnek grefin yapılan bakteriyolojik muayeneleri sonucunda, greflerden hiçbir etken üretilmediği bildirilmiştir (Bakteriyolojik ve Salgınlar Kürsüsü Başkanlığı, 15.9.1980/218 sayılı rapor). Böylelikle konservasyon süreleri 2-8 ay olan bu greflerin steril koşullarda alınıp konserve edildiği doğrulanmıştır.

2. Uygulamadan önce 35-113 gün arasında konserve edilen grefler, ambalajlarından çıkarıldığında, başlangıçtaki görünümlelerini korudukları saptanmış, herhangi bir renk değişimi ve putrifikasyonuna ilişkin kötü koku tespit edilmemiştir. Bu sonuç, greflerin şimik desikatör içerisinde hızla dehydratationa uğrayarak organik bozulmalarının söz konusu olmadığını ortaya koymuştur.

3. Konserve greflerin, uygulama öncesi 600 mg. Linkomisin hidroklorür içeren 20 cc. serum fizyolojik banyosunda, steril bir petri kutusu içerisinde rehydratation'u için 20-25 dakikalık süre yeterli olmuştur. Özellikle spongiöz greflerin 30 dakikadan fazla bu banyoda bırakılmasının, grefin aşırı yumuşamasına, dolayısıyla fiziksel kalitesinin bozulmasına neden olduğu gözlenmiştir.

Tablo 1: Çalışmalarımızda konserve kemik homogref uygulanan olguların toplu olarak değerlendirilmesi.

Olgu No.	Protokol No.	ALICI KÖPEĞİN				HOMOGREF						Radyolojik Kontrol	Histolojik Muayene Tarihi	
		Irkı	Cinsi	Yaşı	Ağırlığı (K.g.)	Tibia	Costa	Ala ossis ilium	Foyutları (mm.)	Konservasyon Süresi (Gün)	Uygulama Tarihi			
1	79/851	Yerli	Dişi	5 ay	8	+							+	-
2	80/40	Yerli	Erkek	6 ay	11	+			5×30	45	28.12.1979	+	-	
3	80/41	Yerli	Erkek	6 ay	12	+			5×40	78	30.1.1980	+	30.5.1980	
4	80/122	Yerli	Erkek	1,5 yaş	10				5×35	78	30.1.1980	+	-	
5	80/123	Yerli	Dişi	1 yaş	7			+	5×40	112	4.3.1980	+	14.7.1980	
6	80/127	Yerli	Dişi	2 yaş	9		+	+	5×40	112	4.3.1980	+	-	
7	80/160	Kaniş	Dişi	1,5 yaş	13		+		5×45	113	5.3.1980	+	-	
8	80/188	Yerli	Dişi	1 yaş	9			+	5×35	35	19.3.1980	+	25.6.1980	
9	80/189	Yerli	Dişi	10 ay	7	+		+	5×40	50	3.4.1980	+	-	
10	80/255	Puanter	Erkek	8 ay	14				5×40	50	3.4.1980	+	-	
11	80/256	Yerli	Dişi	7 ay	13				5×40	82	6.5.1980	+	28.5.1980	
12	80/286	Yerli	Dişi	9 ay	13	+			5×40	83	7.5.1980	+	25.6.1980	
13	80/290	Yerli	Erkek	2 yaş	16				5×45	92	15.5.1980	+	-	
14	80/311	Yerli	Erkek	2 yaş	19				5×40	93	16.5.1980	+	-	
15	80/312	Yerli	Dişi	7 ay	9				5×40	100	23.5.1980	+	-	
16	80/333	Terrier	Dişi	2 yaş	12			+	5×35	100	23.5.1980	+	11.6.1980	
17	80/334	Yerli	Dişi	3 yaş	14			+	5×45	43	4.6.1980	+	-	
18	80/352	Yerli	Dişi	2 yaş	11			+	5×50	43	4.6.1980	+	-	
19	80/353	Yerli	Dişi	8 ay	9			+	5×40	50	11.6.1980	+	-	
20	80/374	Yerli	Dişi	2 yaş	12		+		5×40	50	11.6.1980	+	-	
									5×50	59	20.6.1980	+	-	

4. Gref alma çalışmalarımızda, verici köpeklerin büyüklüklerine bağlı olarak, tibia'nın orta 1/3 ünden 0,5 cm. eninde, 4-5 cm. uzunluğunda 3-4 adet çok düzgün kortikal gref elde edilmiştir. Keza, 7. sternal costa, göğüs boşluğuna girilmeksizin deperioste edilmiş ve 10-12 cm. uzunluğunda oldukça düzgün blok gref alınabilmiştir. Spongios gref kaynağı olarak baş vurulan ala ossis ilium'dan ise Skryker'in çift lamli testeresi ile 0,5 cm. eninde, 4-7 cm. uzunluğunda 2-4 adet spongios gref elde edilmiştir.

5. Kemik greflerinin konservasyonu süresince acide silicique granülleri ile doğrudan temasını önlemek amacıyla, kullanılan alüminyum kağıdın yüksek ısıya dayanıklılığı nedeniyle güvenceli bir şekilde sterilize edilebildiği saptanmıştır.

6. Olgularımızda, gref uygulamasını izleyen ilk haftadan itibaren, her hafta periyodik olarak yapılan 3 ay süreli radyolojik kontrollerde, konserve homogrefin, alıcı kemik tarafından kabul edilmediğini belirleyen suppurasyon, lysis veya grefin ankiste olması görülmüştür.

7. Kompakt gref uyguladığımız 1,2,3,9 ve 12 No.lu olgularda yapılan radyolojik kontrollerde, grefin alıcı kemik tarafından gayet iyi tolere edildiği, uygulamayı izleyen 6-7. haftalarda gref yatağı ile kaynaştığı saptanmıştır. Bu olgularda 3.ayın sonunda alınan radyografilerde, gref alanında, uygulanan grefin alıcı kemik tarafından henüz bütünüyle asimile edilmediğini belirleyen dansite farkları görülmüştür.

Bu gruptan 2 No.lu olguda, gref uygulamasının 86.gününde yapılan histolojik muayenede, tüm gref alanında kompakt bir mekik yapısı ve bu yapının iç kısmında irili ufaklı boşluklar ve orta kısımda kemik iliği görülmüştür.

8. Yedinci sternal costa'dan alınan blok greflerin uygulandığı 6,7,16,17,20 No.lu olgularda radyolojik bakıda, 2.haftadan itibaren hızla gelişen bir periferik doku reaksiyonu ve osteojenik aktivite gözlenmiş, 4. haftadan itibaren grefin hızlı bir kallus formasyonu ile gref yatağıyla kaynaşmaya başladığı saptanmıştır. Grefin 13.hafta sonunda, büyük bir bölümünün alıcı kemik tarafından assimile edilerek düzgün bir şekilde oluşan yeni kemik dokusuyla yer değiştirdiği belirlenmiştir.

Bu gruptan 7 No.lu olgunun gref uygulamasından 98 gün sonra yapılan histolojik muayenesinde, gref alanında kalın bir periost ta-

bakası altında kemik dokusu görülmüştür. Bir bölgede bu kemik dokusunun geniş boşluklar içerdiği ve daha iç kısımlarda kemik trabekülleri halini aldığı, boşlukların bir kısmında, grefin alıcı kemik tarafından revaskularize edildiğini belirleyen kan damarları bulunduğu ve boşlukların iç yüzünde osteoblast'ların sıralandığı dikkati çekmiştir.

9. Spongioz gref uygulanan 4,5,8,11,13,14,18,19 No.lu olgularda radyolojik olarak, greflerin alıcı kemik tarafından çok iyi bir şekilde tolere edildiği, 4. haftanın sonunda gref yatağı ile düzenli bir şekilde kaynaştığı, 6. haftanın sonlarında büyük oranda assimile edilerek düzgün bir kallus oluştuğu gözlenmiştir.

Bu gruptan 4 No.lu olgunun 132. günde yapılan histolojik muayenesinde, periosttan medullaya kadar görülen gref dokusunun çevresinde, alıcı kemik dokusundan gelişmiş bağ doku ve kırıkta hücreleri ile kemik trabekülleri görülmüştür.

10 No.lu olgunun 22.günde yapılan histolojik muayenesinde, tüm sahada kemik yapı, yer yer kırıkta ve fibröz doku ve kemik trabekülleri ile çok sayıda kan damarları ve yer yer kanama alanları görülmüştür. Gref alanının başka bir bölgesinde bağ doku ve kırıkta hücreleri, osteoklast'lar, kemik trabekülleri ile kan damarlarından ibaret, kanama odakları da içeren bir granülasyon dokusu görülmüştür.

11 No.lu olgunun 49. günde yapılan histolojik muayenesinde, içerisinde kan damarları bulunan ve yer yer boşluklar içeren bir kemik dokusu ve bu boşlukların iç yüzünde tek sıra halinde osteoblast'ların dizildiği ve bazı boşluklarda osteoklast'ların görüldüğü dikkati çekmiştir. Bu boşlukların medullar kısımda daha da genişlediği ve kemik trabekülleri oluştuğu görülmüştür.

15 No.lu olgunun 18. günde yapılan histolojik muayenesinde, çok sayıda kan damarları ile çevrili kemik yapılar, kemik yapıların iç kısmında irili ufaklı boşluklar ve orta kısımda kemik iliği görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda veteriner şirurji'de, bu daldaki gelişmeye paralel olarak kemik greflerine başvurulmaktadır. Ancak gref uygulamalarına ilişkin elimizdeki literatür verilerden bir bölümü (15,16,31,35,40, 42) yalnızca 1 adet klinik veya eksperimental olguda uygulanan

taze otogreflere ait bulunmaktadır. Kuşkusuz bu tek olgulara ait klinik gözlemler ve yorumlar yetersiz kalmakta, açıklanması gereken pek çok nokta yeterince izah edilememektedir. Gerçekten Whittick, bu yetersizliğin nedenine açık bir şekilde değinmekte, insan hekimliğinde kemik grefi elde etmekte kaynak bakımından güçlük çekilmesine karşın, veteriner şirurjiyenin oto, homo ve heterogref sağlamakta pek çok kaynağa sahip olduğunu, ancak uygulama alanında ekonomik ve teknik güçlükler içinde bulunduğunu belirtmektedir (43).

Biz, her şeyden önce, veteriner şirurjide kemik greflerinin uygulama alanını daha genişletmek için, kolay ve komplikasyonsuz gref alma tekniklerini geliştirmek kadar, konservasyon yönteminin de basit ve ekonomik olması gerektiğine inanıyoruz.

Günümüzde taze otogreflerin üstünlüğü tartışmasız kabul edilmektedir (17,18,23,36). Ancak veteriner şirurjide taze otogref elde etmenin kaynak ve teknik yönünden hayli kısıtlı olduğu kanısındayız. Özellikle, ortopedik operasyonlarda aseptik çalışmanın kesinlikle zorunlu olduğunu düşünürsek, veteriner şirurjide, aynı zamanda, aynı hastadan aseptik koşullarda kemik grefi alma ve uygulamanın büyük güçlüğü ortadadır. Ayrıca, iki ayrı manüplasyonla çok uzayacak operasyon zamanı için yeterli anestezi süresinin sağlanmasının da ayrı bir sorun olmaktan öteye, hayvanda bazı komplikasyonlar yaratabileceğini belirtmeliyiz.

Herbert ve Paillot, gref alma işleminin özellikle aseptik olarak gerçekleştirilmesinin bu konuda başarı elde etmenin başlıca koşulu olduğunu belirtmektedirler (12,13). Bu görüş bizim endişelerimizi de doğrulamaktadır. Gerçekten konsERVE kemik greflerinin, operatör için olduğu kadar, hasta yönünden de pek çok avantajları vardır.

Dubau ve arkadaşları, Sicard ve Binet, konsERVE kemik greflerinin hasta için operatif risklerin azalması bakımından büyük kolaylık sağladığı gibi, operatör için de operasyon süresini uzatmaksızın arzu edilen kalite ve kantitede kemik greflerinin sürekli hazır bulunulması bakımından değerini belirtmişlerdir (9,36). Biz de çalışmalarımızın ışığında, konsERVE kemik greflerinin kullanılmasının, bir operasyon esnasında büyük zaman kazanılması yanısıra, grefi istenen boyutlarda kesme, adapte etme ve uygulama olanağı bulunması, ayrıca otogref uygulanan hastalarda söz konusu olan gref alınan yerde fazladan şekillenecek postoperatif ağrı ve özellikle bacaklarda görülebilecek trofik bozuklukların olmaması gibi avantajlarını ekleyebiliriz.

Günümüze kadar, kemik greflerinin evolüsyonu konusunda yapılan çalışmalarda değişik görüşler belirtilmekle birlikte, artık bu konuda araştırmacıların hemen hepsi, transplante kemik dokusunun tümüyle öldüğü ve bunların bir anlamda ölü dokuların transplantı olduğu görüşünde birleşmektedirler (4,5,6,12,14,19,23,36,39). Nitekim, Leriche ve Policard'a göre, ölü kemik transplantlar alıcı organizma içinde aynen canlı kemik gibi işlev görürler. Şayet ölü kemik transplantlarından olumlu sonuç alınmıyorsa, bunun nedeni, bu transplantların hazırlanması ve konservasyonundaki yanlış uygulamalardır (4,24,36). Bu görüşler, bizim klinik çalışmalarımız için bir başlangıç olacak kemik greflerinin gerçek değerini ve geniş uygulama endikasyonlarını ortaya koymaktadır.

Arambarri, Navarro, Payrau ve Pouliquen, silico-dessication yönteminde greflerin, acide silicique granülleri ile doğrudan temas etmemesi için geçirgen bir selofan kağıdı ile ambalaj edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (4,26,32). Biz çalışmalarımızda kemik greflerimizin ambalajı için temin edemediğimiz bu kağıdın yerine önceden hazırladığımız sık delikli alüminyum kağıtları kullandık ve bu materyalin daha yüksek ısıya dayanıklı olması nedeniyle, daha kolaylıkla ve güvenceyle sterilize edilebildiğini saptadık.

Navarro, bu yöntemle konserve ettiği greflerin rehydratation'u için, distile su ve penicilline-streptomycine-aureomycine'den oluşan bir triantübiyotik karışımı kullanmıştır. Biz çalışmalarımızın bu aşamasında, greflerin herhangi bir kontaminasyonuna karşı güvence olarak, 20 cc. serum fizyolojik içerisine, özellikle gram pozitif mikroorganizmalara kesin etkili olan Linkomisin hidroklorür (600 mg) ilave ettik.

Navarro, silico-dessication yönteminin, cryodessication yönteminde olduğu gibi, alınan greflerin önceden dondurulmasına gerek olmaması nedeniyle bu yöntemin çok basit ve avantajlı olduğunu bildirmiştir. Cryodessication yönteminin çok pahalı ve karmaşık apareyleri gerektirmesi yanında, özellikle düzgün bir elektrik rejimi olmayan ülkemizde ve klinik koşullarında silico-dessication yönteminin uygulama kolaylığı kadar, çok ekonomik olduğu da kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Öte yandan, şimik bir desikatör olan acide silicique, piyasadan ucuz ve kolay olarak temin edilebildiği gibi, 120°C de kuru ısıda kolaylıkla rejenere edilebildiğinden tekrar kullanma olanağı vardır.

Çalışmalarımızda her şeyden önce, kliniğimiz koşullarında küçük hayvan ortopedik şirurjisinde konserve kemik greflerinin uygulanabilirliğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Silico-dessication yöntemiyle konserve ettiğimiz kemik homogreflerinin eksperimental uygulamalarımızda, sağlam bir dokusal protez işlevi görerek, alıcı kemik tarafından gayet iyi bir şekilde tolere edildiğini, klinik, radyolojik ve histolojik olarak kanıtladığımızı söyleyebiliriz.

Eksperimental uygulamalarımızda elde ettiğimiz bu olumlu sonuçlar, bize daha ileriki çalışmalarımızda, bu yöntemle konserve edeceğimiz kemik greflerinin günümüzde gittikçe artan endikasyon alanlarında kullanabilme umudunu vermiştir. Kuşkusuz gref, konservasyonu gibi çok komplike bir konunun, çok yönlü ve daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesinin, bunların klinik uygulamalarında daha güvenceli olarak kullanabilme olanağı sağlayacağını belirtmek istiyoruz.

Literatür

- 1- **Andrew, C., Basset, M.D., and Creighton, D.K.** (1962): *A comparison of host response to cortical autografts and processed calf heterografts.* J. Bone Jt. Surg., 44-A, 5, 842-854.
- 2- **Arambarri, R.** (1975): *L'Homogreffage osseuse conservée lors des fractures.* Révue Méd. Vét., 126, 5, 667-674.
- 3- **Banic, Von J.** (1971): *Die behendlung eines splitterbruches mit dem heterotransplantat.* Berl. Münch. Tierarz.Wschr., 84, 6, 110-111.
- 4- **Baroné, R., Stagnara, P., Valentin, F., Pavaux, C., Meurier, C.** (1956): *Sur l'évolution des transplants osseux.* Révue Méd.Vét., XIX, 353-368.
- 5- **Bush, L.F.** (1947): *The use of homogenous bone grafts. A preliminary report on the bone bank.* J.Bone Jt.Surg., 29, 3, 620-628.
- 6- **Calve, J.** (1935): *De l'emploi du tissu spongieux hétérogène en chirurgie osseuse.* Bull.Mem. Soc.Nat.Chir., 29, 1170-1174.
- 7- **Coleman, D.** (1956): *Bone transplant of femur in a dog. Using autogenous cancellous bone from the ilium.* J.Amer.Vet.Med.Assoc., 129, 8, 413-415.
- 8- **Cupland, B.R.** (1969): *Experimental bone grafting in the canine. The use of autoclaved autogenous normal tibial bone.* Can.Vet.Jour., 10, 6, 170-175.
- 9- **Dubau, R., Meurier, J.P., Demarty, R., et Henaff, F.** (1952): *Une nouvelle méthode de conservation des greffons osseux par dessiccation sous vide à partir de l'état congelé (lyophilisation).* Presse Méd., 60, 66, 1402.

- 10- **Ege, R.** (1962): *I. Kemik grefleri ve kemik bankası II. Muhtelif kemik greflerinin akibeti ve bunların gref yatağı ile münasebetleri.* A.Ü.Tıp Fak.Mecmuası., XV, No. 3'e ek, 1-63.
- 11- **Guilleminet, M., Stagnara, P., Dubost-Perret, T.** (1950): *Greffes osseuses: Transplants homogènes et hétérogènes.* Rev. Orthop., 36, 511-514.
- 12- **Herbert, J.J.** (1949): *De l'utilisation des os conservés comme greffes. La banque d'os.* Mém. Acad.Chir., 1-2, 60-68.
- 13- **Herbert, J.J., et Paillot, J.** (1950): *Les greffes osseuses conservées.* Rev.Orthop., 36, 514-515.
- 14- **Hickman, J.** (1964): *Oorthopaedic Surgery.* Oliver and Boyd, Edinburgh and London, XI+479.
- 15- **Hinko, P.J.** (1977): *The use of autogenous rib grafts in the repair of a comminuted femoral fracture.* Canine Pract., 4, 4, 32-36.
- 16- **Hulse, D.A.** (1973): *Use of cancellous bone graft in the repair of a delayed union fracture complicated by osteomyelitis.* J.Amer.Anim.Hosp. Asso., 9(4), 378-381.
- 17- **Hurov, L.L., Lumb, W.V., Hankes, G.H., Simith, K.W.** (1966): *Wedge grafting of the canine carpus.* J.Amer.Vet.Med.Asso., 148, 3, 260-268..
- 18- **Inclan, A.** (1942): *The use of preserved bone graft in orthopaedic surgery.* J. Bone Jt.Surg., XXIV, 1,81-96.
- 19- **Judet, J., et Judet, R.** (1953): *Greffes osseuses animales en chirurgie humaine.* Acta Orthop.Belg., 19, 4, 139-145.
- 20- **Judet, J., et Judet, R.** (1954): *Banque d'os.* Rev.Orthop., 40, 3-4, 403-441.
- 21- **King, K.F.** (1976): *Periosteal pedicle grafting in dogs.* J.Bone Jt. Surg., 58, B (1), 117-121.
- 22- **Kreuz, F.P., Hyatt, G.W., Turner, T.C., and Basset, A.L.** (1951): *The preservation and clinical use of freeze-dired bone.* J.Bone Jt. Surg., 33-A, 863.
- 23- **Leonard, E.P.** (1974): *Chirurgie orthopedique du chien et du chat.* Vigot Freres Editeurs, Paris., I+418.
- 24- **Leriche, R., et Policard, A.** (1934): *Position actuelle du problème de l'osteogénèse.* Presse Méd., 42, 169-171.
- 25- **Manziano, C.F., and Mattheou, C.** (1965): *Heterogenous bone grafts.* Mod.Vet.Pract., 46, 65-69.
- 26- **Navarro, M.A.** (1966): *Contribution a l'étude des hétérotransplants osseux conservés par silico-dessiccation expérimentation chez le chat.* Soc.Imp.Artistique, Lavour., 1-61.
- 27- **Olds, R.B., De Angelis, M.P., Sinibaldi, K.R., Stoll, S.G., Rosen, H.** (1973): *Autogenous cancellous bone grafting in problem orthopedic cases.* J.Amer.Anim.Hosp.Asso., 9, 5, 430-435.
- 28- **Olds, R.B., De Angelis, M.P., Sinibaldi, K.R., Stoll, S.G., Rosen, H.** (1973): *Autogenous cancellous bone grafting in small animals.* J.Amer.Anim.Hosp.Asso., 9, 5, 454-457.
- 29- **Oliveira, J.C.** (1971): *Bone grafts and chronic osteomyelitis.* J.Bone Jt.Surg., 53-B ,4, 672-683.

- 30- **Orell, S.** (1937): *Surgical bone grafting with ols purum, os novum and bolied bone.* J. Bone Jt.Surg., XIX, 4, 873-885.
- 31- **Owen, L.N., and Walker, R.G.** (1963): *Osteitis fibrosa cystica of the radius in an irish wolfhound.* Replacement by autologous bone graft. Vet.Rec., 75, 2, 40-45.
- 32- **Payrau, P., et Pouliquen, Y.** (1960): *Conservation des cornées et des sclères par silico-dessication homogreffes et heterogreffes.* Annalas d'Oculistique, 193, 309-345.
- 33- **Perot, F.** (1972): *Homogrefe osseuses lors de fractures comminutives graves chez le chien.* Bull.Soc.Sci.Vét.et Méd.Comparée., 74 (1), 67-68.
- 34- **Piermattei, D.L., et Greeley, R.G.** (1971): *Atlas des voies d'accès dans la chirurgie osseuse du chien et du chat.* Librairie Maloine S.A. Editeur, Paris., VIII+135.
- 35- **Rollins, F.S.** (1976): *Repair of a comminuted fracture of the femur in a cat using a cancellous bone graft and ASIF techniques.* Feline Pract., 6 (6), 22-31.
- 36- **Sicard, A., et Binet, J.P.** (1950): *La conservation des transplants osseux et leur emploi en chirurgie.* Presse Med.Supp., 25, 433-434.
- 37- **Sicard, A., et Mouly, R.** (1953): *Etude expérimentale des greffes osseuses conservées par le froid.* Presse Méd. 61, 44, 905-908.
- 38- **Singh, R.K., Singh, R., Sahu, S., and Singh, H.P.** (1971): *Roentgenological studies on heterogenous bone transplantation in dog.* Indian Vet.Jour., 48, 3, 302-305.
- 39- **Stagnara, P., et Dubost-Perret, T.** (1950): *Greffes osseuses transplants homogènes et hétérogenes.* Revue Orthop. 36, 6, 404-416.
- 40- **Tadmor, A., and Herold, H.Z.** (1973): *Central inlay bone graft for correction of radio-carpal deformity in a dog.* J.Amer.Vet.Med.Asso., 162, 8, 640-641.
- 41- **Vaughan, L.C.** (1972): *The use fo bone autografts in canine orthopaedic surgery.* J.Small Anim.Pract., 13(8), 455-477.
- 42- **Walker, R.C.** (1966): *Rib grafts in the repair of comminuted fractures in the dog.* Vet.Rec., 79, 13, 350-353.
- 43- **Wihittick, W.G.** (1978): *Techniques actuelles de chirurgie des petits animaux. Greffes osseuses: Recolte et conservation, indication et méthodes.* Editions Vigot, Paris, XX+578, 556-564.
- 44- **Wilson, P.D.** (1951): *Experience with use of refrigerated homogenous bone.* J.Bone Jt.Surg., 33 (B), 301-306.

Yazı 3.12.1982 günü alınmıştır.

Received on 3.12.1982