

KIRIK VE KEMİK DEFEKTLERİNİN PERKÜTAN KEMİK İLİĞİ İLE GREFTLENMESİ:

Tavşanlarda deneysel çalışma Percutaneous bone-marrow grafting of fractures and bony defects: An experimental study in rabbits

Vedat ŞAHİN¹, Eyüp S KARAKAŞ², Olcay BELENLİ³, Ömer YAVUZ⁴,
Serpil AKTAŞ⁵, Gülşen AKDOĞAN⁶

Özet: Bu çalışmada kemik iliğinin kırık ve kemik defektlerinin erken iyileşmesi üzerine etkisini araştırmak için radiuslarında osteotomi ve kemik defekti oluşturulan 53 tavşanda radyolojik, histolojik ve biyomekanik değerlendirmeler yapıldı. Birinci gruptaki 35 tavşanda bilateral radial osteotomi, ikinci gruptaki 18 tavşanda ise bilateral radial defekt oluşturuldu. Postoperatif beşinci günde tavşanların sağ radiuslarındaki osteotomi ve defekt alanlarına perkütan olarak otolog kemik iliği nakledildi. Sol radiuslara ise serum fizyolojik enjekte edilerek kontrol grubu olarak değerlendirildi. Greftleme işleminden dört hafta sonra greftlenen taraflardaki kırık iyileşmesi radyolojik, makroskopik ve histolojik olarak teyid edildi. Kallus hacmi, kırılma yükü ve germe kuvvetini içeren parametreler değerlendirildi. Greftlemeden iki hafta sonra kallus hacmi greftli radiuslarda kontrol tarafına oranla belirgin olarak daha fazla idi. Dördüncü haftanın sonunda her iki grupta da kırılma yükü greftlenen tarafta kontrol tarafına göre daha büyük idi. Germe kuvveti osteotomi grubunda greftlenen tarafta daha fazla iken defekt grubunda greftli ve kontrol tarafları arasında belirgin bir fark yoktu. Bu bulguların ışığında perkütan kemik iliği enjeksiyonunun güvenli, kolay, pratik ve zaman kazandırıcı yarı invaziv bir yöntem olarak klinik uygulama potansiyeline sahip olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kemik iliği, Greft, Osteogenezis, Kırık iyileşmesi

Abstract: In this study, osteotomy and bone defect were performed to the shaft of the radius of 53 rabbits to investigate effects of bone-marrow grafting on the early healing of fractures and bone defects; radiological, histological and biomechanical evaluations were made. Bilateral radial osteotomy was performed to the first group of 35 rabbits and radial defect to the second group of 18 rabbits. On the postoperative fifth day, autogenous bone-marrow was injected percutaneously into the osteotomy and defected sites of the right radii. Saline was injected to the left radii of all rabbits to be evaluated as the control group. On the fourth week following grafting, bone healing in grafted sites were radiologically, macroscopically and histologically confirmed. The parameters including callus volume, breaking load and tensile strength were evaluated. At two weeks postgrafting, callus volume was significantly higher in the grafted radii than in the contralateral saline controls. Again at the end of the fourth week, breaking load in grafted sites in both groups was higher than the control sites. Tensile strength in the osteotomy group was higher in grafted sites; no statistically significant difference was observed in the tensile strength of grafted and control sites in the defected groups. We conclude that percutaneous bone-marrow grafting is a safe, easy, practical and semi-invasive technique with potential clinical application.

Key Words: Bone marrow, Graft, Osteogenesis, Fracture healing

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ
Ortopedi ve Travmatoloji. Y.Doç.Dr.¹, Prof.Dr.²,
Araş.Gör.Dr.⁴, Patoloji. Doç.Dr.³,
Erciyes Üniversitesi Kayseri Meslek Yüksekokulu KAYSERİ
Öğrt. Görev.⁶
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi ANKARA
İstatistik. Araş.Gör.Dr.⁵.

Geliş tarihi: 25 Aralık 1997

Kemik insanlarda kandan sonra ikinci sıklıkta nakledilen dokudur (1). Kemik greftleri kırık tamiri, artrodez, kistik defektlerin doldurulması, travmaya bağlı kemik kayıpları ya da tümör cerrahisinden sonra sıkça kullanılır. Hollandalı cerrah Job Van Meek'ren tarafından ilk kemik greftleme girişiminin 1668 yılında yayınlanmasından bu yana pek

çok madde transplant materyali olarak kullanılmıştır. İnsanlarda pelvisten otolog greft alma metodu ve bunun kırık yerine cerrahi olarak yerleştirilmesi Phemister'in 1930'lardaki klasik çalışmasından bu yana değişmeden kalmıştır. Buna karşılık greftin cerrahi olarak alınması ve kırık sahalarına yerleştirilmesi donör ve alıcı bölgelerinde değişik komplikasyonlara yol açabilir (2,3).

Kırmızı iliğin kemik oluşturma yeteneği ilk kez 1869 yılında Goujon tarafından ileri sürülmüştür. Normal bir erişkinde kırmızı ilik sadece aksiyal iskelette, ekstremitelerdeki kemiklerini oluşturan kemiklerde ve uzun kemiklerin proksimal kısımlarında yer alır. Buna karşılık genç laboratuvar hayvanlarında kırmızı ilik tüm iskelette bulunur. Kırmızı ilik hematopoetik hücreleri ve stromayı içerir. Kemik oluşturma yeteneğine sahip olan osteojenik prekürsör hücreler kemik iliğinin endosteal ve stromal hücreleri arasında yer alır (4). Otojen kortikokansellöz kemik greftlerinde kemik iliği ve endosteal hücreler greftten oluşan kemiğin % 60'ından fazlasını oluşturur (5). Bu greftlerin osteojenik gücünü artırmak için hem klinik ve hem de deneysel olarak kortikal ve kortikokansellöz kemik ile birlikte kemik iliği kullanılmıştır (6-8). Son zamanlarda hem tek başına kemik iliğinin ve hem de Kiel kemiği ile kombine edilen kemik iliğinin nonunion ve kemik defektlerinin tedavisinde başarıyla kullanıldığı bildirilmektedir (2,9,10).

Bu deneysel çalışmada kemik iliğinin erken kırık tamiri üzerine etkisi araştırıldı. Bu çalışmanın amacı perkütan olarak uygulanan kemik iliği greftinin kemik oluşumunda artmaya yol açıp açmadığını ya da kırık ve kemik defektlerinin erken iyileşmesi üzerine etkisinin olup olmadığını belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada ortalama ağırlığı 3.4 kg olan 57 adet dişi, beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar iki gruba ayrıldı. Birinci gruptaki (A grubu) 37 tavşana bilateral radial osteotomi yapıldı. Bunlardan iki tavşan çalışma kapsamı dışında bırakıldı (Bir tavşan aşırı anestezi dozundan öldü, diğerinde sol önkolda her iki kemik çalışma sırasında kırıldı). Buna karşılık ikinci gruptaki (B grubu)

20 tavşanda bilateral radial kemik defekti oluşturuldu. Bu gruptaki iki tavşan da aşırı anestezi dozundan ölmeleri nedeniyle çalışma dışında tutuldu. Kalan 53 tavşan radyolojik, histolojik ve biyomekanik değerlendirmeler için kullanıldı.

Birinci grupta yer alan 35 tavşandan 10 tanesi radyolojik, makroskopik ve histopatolojik muayene için, 15 tanesi kallus hacmini ölçmek amacıyla ve kalan 10 tanesi ise biyomekanik testler için kullanıldı. Buna karşılık ikinci grupta yer alan 18 tavşandan sekiz tanesi radyolojik, makroskopik ve histopatolojik muayene için ve 10 tanesi de biyomekanik testler için kullanıldı.

Cerrahi Teknik

Osteotomiler: Ketamin anestezisi altında ve steril şartlarda tavşanların her iki radiusları üzerinde iki santimetrelik (cm) insizyonlar yapıldı ve kemik açığa çıkarıldı. Radiokarpal eklemin üç cm proksimalinde bir el testeresi kullanılarak bilateral transvers radial osteotomi yapıldı. Kemik tozları dikkatlice yıkanarak temizlendi. Ulnanın sağlam olması nedeniyle radiusa herhangi bir fiksasyon yapılmadan stabilite sağlandı. Yara tabakalarına uygun olarak kapatıldı. Postoperatif olarak antibiyotik kullanılmadı.

Osteotomiden beş gün sonra her bir tavşan yeniden uyutularak greftleme işlemi için hazırlandı. Kemik iliği elde etmek amacıyla rastgele seçilen femurun trokanter majoru üzerinde bir delik açıldı. Femur medullar kavitesine 18 numaralı spinal iğne ile girilerek bir santimetreküp (cm³) ilik aspire edildi. Elde edilen ilik sağ radiusta osteotomi hattına perkütan olarak enjekte edildi. Buna karşılık tavşanların sol radiuslarındaki osteotomi hattına bir cm³ serum fizyolojik verildi. Tavşanların tamamında osteotomi yerinde küçük fuziform bir şişlik oluştu, ancak insizyon hattında herhangi bir sızıntı gözlenmedi. Tavşanlar daha sonra kafeslerine yerleştirildiler. Hayvanların hiçbirisinde enfeksiyon görülmedi.

Kemik Defektleri: Bu gruptaki 18 tavşanda radiokarpal eklemin üç cm proksimalinde radius üzerinde bir cm uzunluğunda bilateral kemik defekti oluşturuldu. Beşinci günde yukarıda tanımlandığı gibi trokanter major üzerinden femur medullar ka-

vitesine girilerek iki cm³ ilik aspire edildi. Elde edilen ilik sağ radiusa defekt sahasına perkütan olarak verildi. Buna karşılık tavşanların sol radiuslarındaki defekt alanına iki cm³ serum fizyolojik benzer şekilde enjekte edildi. Bu grupta da postoperatif olarak antibiyotik uygulanmadı ve enfeksiyon görülmedi.

Radyolojik Muayene

Her iki gruptaki tüm tavşanların kemik iliği enjeksiyonundan sonraki birinci günde bilateral iki yönlü önkol radyografileri alındı. Kallus hacmi ölçülecek olan tavşanlar hariç, dördüncü haftanın sonuna kadar haftalık olarak her iki önkolun radyografileri alındı. Radyografilerde kemik oluşumu ve kaynama değerlendirildi.

Makroskopik ve Histopatolojik Muayene

Osteotomi grubundaki 10 ve kemik defekti grubundaki sekiz tavşanda detaylı makroskopik ve histopatolojik muayene yapıldı. Burada osteoid dokunun varlığı, kallusun miktarı ve maturitesi, fibrovasküler reaksiyon ve osseoz, fibroosseoz ve fibröz kaynamaya yol açan fibröz doku miktarı araştırıldı.

Kallus Hacminin Ölçümü

A grubundaki kallus hacmi ölçülecek 15 tavşanın her iki radiusundaki kallus mikroskop altında korteksten uzaklaştırıldı. Uzaklaştırılan kallus fragmanlarının hacmi greftlemeden iki, üç ve dört hafta sonra bir cm³ lük pipette volüm deplasman metodu kullanılarak ölçüldü. Kallus hacmi kemik defektlerinde hesaplanmadı.

Germe Testi

Her iki grupta germe testi yapılacak olan onar tavşan greftlemeden sonraki dördüncü haftanın sonunda öldürüldüler. Radius ve ulna radiokarpal ve humeroulnar eklemlerden dezartikülasyon ile bir ünite şeklinde çıkarıldılar. Yumuşak dokular dikkatli bir şekilde diseke edildi. Osteotomi ve defekt hattında stres oluşturmayacak şekilde radius ulnadan uzaklaştırıldı. Radiusların son kez radyografileri alındı. Radiusun her iki ucu çekme testi için metilmetakrilat içine gömüldü. Her iki gruptaki tavşanlarda defekt ve osteotomi bölgelerinin proksimal orta ve distal kısımlarının çapları ölçülerek lezyon bölgesinin ortalama çapı (d) alındı ve kesit

yüzeylerinin alanı milimetrekaire (mm²) olarak belirlendi (Alan = $\pi d^2/4$). Daha sonra kırılma yükünü ölçmek için Hounsfield germe test makinası kullanılarak germe testi yapıldı (Germe testi için parametreler= load cell 50.000 Newton, tutucu çenelerin hareket hızı dakikada beş milimetre). Kemik iyileşmesini değerlendirmek için üç parametre ölçüldü: kırılma yükü (KY), germe kuvveti (GK), kallus hacmi (KH).

Osteotomi grubundaki tüm radiuslar osteotomi hattı boyunca ve kemik defekti grubundaki radiuslar ise defekt bölgesinde kırıldılar. Germe kuvveti (GK) kırılma yükünün (KY) lezyon bölgesi alanına (A) bölünmesi ile hesaplandı (GK= KY/A).

İstatistiksel Analizler

Osteotomi ve kemik defekti grubunda greftlenen taraf ile kontrol tarafının radyolojik, makroskopik ve histopatolojik özelliklerini istatistiksel olarak değerlendirmek için Wilcoxon Signed Ranks Testi kullanıldı. Greftli ve kontrol tarafları arasındaki kallus hacmi ölçümleri paired-t testi ile değerlendirildi. Keza osteotomi ve kemik defektleri gruplarında deney ve kontrol taraflarının kırılma yükü ve germe kuvveti paired-t testi ile, buna karşılık osteotomi ve defekt gruplarının germe kuvveti ve kırılma yükünün karşılaştırılması independent t-testi ile yapıldı, p<0.01 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Radyolojik, Makroskopik ve Histopatolojik Sonuçlar

Osteotomi Grubu: Bu grupta yer alan 10 tavşana ait bulgular Tablo I'de verilmiştir. Radyolojik olarak kallus yedi tavşanın kemik iliği ile greftlenen tarafında erken dönemde görüldü. Buna karşılık sadece üç tavşanın kontrol tarafında erken dönemde kallus oluşumu vardı. Bu grupta özellikle ikinci ve üçüncü haftalarda radyolojik olarak kallus oluşumu istatistiksel yönden anlamlı idi (p<0.01). Dördüncü haftanın sonunda dokuz tavşanın greftlenen radiuslarında tam kallus köprüsü oluşmuştu (Resim 1). Makroskopik olarak yumuşak dokular osteotomi hattının greftlendiği tarafta daha fazla yapışıkta. Yumuşak doku kalsifikasyonu veya ossifikasyonu her iki tarafta da gözlenmedi. Kallus

hacmi greftlenen tarafta daha fazla idi. Histopatolojik olarak osteotomi hattı greftli tarafta sekiz tavşanda osseoz kallus dokusu ile kaynamıştı (Resim 2).

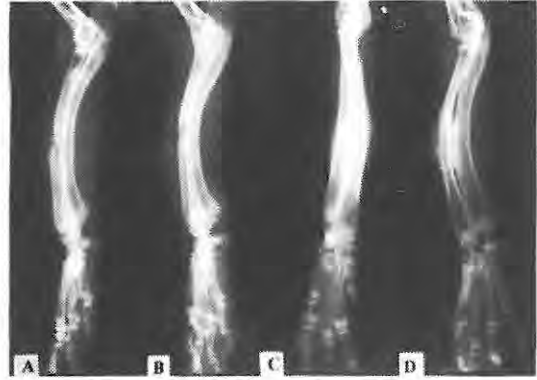
Kemik Defekt Grubu: Bu gruptaki sekiz tavşana ait bulgular Tablo II'de verilmiştir. Radyolojik olarak erken dönemde sadece dört tavşanda greftlenen tarafta kallus dokusu görüldü. Dördüncü haftanın sonunda altı tavşanda greftlenen tarafta tam bir kallus köprüsü oluşmuştu (Resim 3). İki olguda ise iki taraf arasında belirlenebilen bir fark yoktu. Yumuşak doku bağlantısı greftlenen tarafların altında ve kontrol tarafının üçünde iyi idi. Defektte aralık greftlenen tarafta iki radiusta ve kontrol tarafında beş radiusta hissediliyordu. Histopatolojik olarak osteotomi hattı beş tavşanın greftli tarafında ve sadece bir tavşanın kontrol tarafında osseoz kallus dokusu gösteriyordu. Bu grupta yapılan istatistiksel analizde radyolojik ve makroskopik olarak greftli ve kontrol taraflar arasında iyileşme yönünden farklılık görülmedi, buna karşılık histopatolojik olarak greftli ve kontrol taraflar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.01$).

Kallus Hacmi

İkinci haftada kallus hacmi kemik iliği greftli radiuslarda kontrol tarafından bariz olarak daha yüksekti ($p<0.01$). Hem kontrol tarafında ve hem de kemik iliği greftli radiuslarda kırık iyileşmesinin erken döneminde haftalık olarak kallus hacminde bir artma görüldü, ancak bu artma farklı oranlarda ortaya çıktı (Tablo III). Başlangıçta kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında kemik iliği ile greftlenen tarafta kallus hacminde çok hızlı bir artış vardı. Bu, ikinci haftada greftli tarafta % 65.9 oranında daha fazla kallusa tekabül ediyordu. Üçüncü haftada ilik nakledilen tarafta kallus hacmi biraz daha artmıştı (kontrol tarafının % 73.1'i). Buna karşılık dördüncü haftada farklılık sadece % 46.2 idi.

Biyomekanik Test Sonuçları

Dördüncü haftanın sonunda osteotomi grubunda greftlenen taraflara ait kırılma yükü ortalama 128 Newton olup bu değer kontrol tarafına göre yaklaşık iki kat daha fazla idi ($p<0.01$). Aynı şekilde greftlenen taraftaki germe kuvveti de kontrol tarafındakinin bir kat fazlası idi. Defekt grubunda kırılma yükü ortalama 70 Newton olup bu değer kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında (37.5 Newton) yaklaşık % 86 daha fazla idi ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.01$). Ancak germe kuvvetinde iki taraf arasında bariz bir fark bulunamadı ($p=0.41$) (Tablo IV). Osteotomi ve defekt grupları kırılma yükü ve germe kuvveti yönünden karşılaştırıldığında her iki parametrenin de osteotomi grubunda greftlenen tarafta anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu ($p<0.01$). Buna karşılık bu iki parametre arasında her iki grubun kontrol taraflarında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı.



Resim 1. Osteotomiden bir gün sonra sağ (A) ve sol (B) radiusların radyografileri. Osteotomiden 4 hafta sonra greftli radiusta (C) tam kaynamışta görülürken, kontrol radiusunda (D) iyi kallus dokusunun oluştuğu, ancak kırık hattının hala seçilebilir olduğu görülmektedir.

Tablo I: Grup A'da (osteotomi grubu) radyografik, makroskopik ve histopatolojik gözlemler

A	B	C1	C2	C3	C4	D1	D2	D3	E
1.	G K	a -	a,b a	a,b a,b	c a,b	a b	a b	e d	a b
2.	G K	a a	a,b a	c a,b	c c	a a	a a	e e	a b
3.	G K	- -	a -	a,b a	a,b a,b	b c	b c	d d	b c
4.	Öldü (Çalışma kapsamı dışında bırakıldı)								
5.	G K	- -	a -	a,b a	c a,b	a b	a b	e d	a c
6.	G K	a -	a,b a	c a,b	c c	a a	a a	e e	a b
7.	G K	a a	a,b a,b	c a,b	c a,b	a b	a b	e d	a c
8.	Sol önkolda her iki kemik kırıldı (Çalışma kapsamı dışında bırakıldı)								
9.	G K	a -	a,b a,b	c a,b	c c	a a	a a	e e	a a
10.	G K	- -	a,b -	a,b a,b	c a,b	a b	a c	e d	a b
11.	G K	a a	a,b a	c a,b	c c	a c	a c	e d	a b
12.	G K	a -	a,b -	c a,b	c a,b	a b	a c	e d	b c
p		>0.01	<0.01	<0.01	>0.01	>0.01	>0.01	>0.01	<0.01

A Tavşan

B Taraf

G Greftli taraf

K Kontrol tarafı

C Radyolojik değerlendirme

C1 Birinci hafta

C2 İkinci hafta

C3 Üçüncü hafta

C4 Dördüncü hafta

a. Kallus var

b. Parsiyel köprülenme var.

c. Tam köprülenme var

D Makroskopik özellikler

D1 Yumuşak doku bağlantısı

D2 Kallus hacmi

D3 Aralık

a. İyi

b. Orta

c. Kötü

d. Evet

e. Hayır

E Histolojik özellikler

a. Osseoz kallus

b. Fibroosseoz kallus

c. Fibröz kallus



Resim 2. Osteotomi bölgesinin kemik iliği ile greftlendikten dört hafta sonraki kesiti (H-E, x 40).



Resim 3. Kemik defekti oluşturulmasından sonra sağ (A) ve sol (B) radiusların radyografileri. Greftlemeden 4 hafta sonra sağ (C) ve sol (D) radiusların radyolojik görünümü.

Tablo II: Grup B'de (kemik grefti grubu) radyografik, makroskopik ve histopatolojik gözlemler

A*	B*	C1*	C2*	C3*	C4*	D1*	D2*	D3*	E*
1.	G K	- -	a -	a,b a	a,b a,b	a b	a b	d d	b b
2.	Öldü (Çalışma kapsamı dışında bırakıldı)								
3.	G K	a -	a a	a,b a	c a,b	a a	a b	e d	a b
4.	G K	- -	a -	a a	a,b a,b	b b	b c	d d	b c
5.	Öldü (Çalışma kapsamı dışında bırakıldı)								
6.	G K	- -	a,b -	a,b a	c a	a c	a c	e d	a c
7.	G K	- -	a a	a,b a,b	c a,b	a a	a a	e e	a a
8.	G K	a a	a,b a	a,b a	c c	a a	a a	e e	a b
9.	G K	a a	a a	a,b a	c a,b	a b	a b	e d	a c
10.	G K	a -	a,b -	a,b a	c a	b b	b c	e e	b c
p		>0.01	>0.01	>0.01	>0.01	>0.01	>0.01	>0.01	<0.01

*Tablo I'deki kriterlerle aynı.

Tablo III: Grup A'da (osteotomi grubu) kallus volümü ölçümü

A	B (hafta)	C (mm ³)	D (mm ³)	E(mm ³)	F(mm ³)	G (%)
1.	2	170		90		
2.	2	180		110		
3.	2	80	146	40	88	65.9
4.	2	160		120		
5.	2	140		80		
6.	3	180		90		
7.	3	250		160		
8.	3	220	218	130	126	73.1
9.	3	230		150		
10.	3	210		100		
11.	4	240		200		
12.	4	270		210		
13.	4	260	272	120	186	46.2
14.	4	260		180		
15.	4	330		220		

- A Tavşan
 B Greftlemeden ölüme kadar geçen süre (hafta)
 C Greftlenen tarafta ölçülen kallus hacmi (mm³)
 D Greftlenen tarafta ortalama değer (mm³)
 E Kontrol tarafında ölçülen kallus hacmi (mm³)
 F Kontrol tarafında ortalama değer (mm³)
 G Kallus volümü artış oranı (Greftli taraf/kontrol tarafı)

Tablo IV: Osteotomi ve kemik defekti grubunda biyomekanik ölçümler

OSTEOTOMİ GRUBU (n= 10)						
Parametreler	Aralık		Ortalama		Fark X±SD	p
	Greft	Kontrol	Greft X±SD	Kontrol X±SD		
A	33.1-60.7	19.6-45.3	42.8 ± 8.14	33.6 ± 7.60	-	-
KY	80-190	30-90	128 ± 33.92	50 ± 18.25	78.00 ± 39.94	< 0.01
GK	1.31-4.67	0.92-2.71	3.13 ± 1.01	1.65 ± 0.67	1.57 ± 1.02	< 0.01
DEFEKT GRUBU (n= 10)						
Parametreler	Aralık		Ortalama		Fark X±SD	p
	Greft	Kontrol	Greft X±SD	Kontrol X±SD		
A	28.2-56.7	22.0-50.2	43.02 ± 9.05	31.68 ± 9.54	-	-
KY	40-130	20-70	70.00 ± 30.91	41.50 ± 17.32	28.50 ± 26.03	< 0.01
GK	0.88-3.29	0.83-2.48	1.64 ± 0.71	1.33 ± 0.55	0.23 ± 0.86	> 0.01

SD= Standart sapma, A: Kesit alanı (mm²), KY: Kırılma yükü (Newton), GK: Germe kuvveti (Newton/mm²).

TARTIŞMA

Bu çalışmada bir tarafı kemik iliği ile greftlenmiş ve karşı tarafta serum fizyolojik enjeksiyonu ile kontrol grubu oluşturulmuş tavşan radiuslarındaki kırık ve kemik defektleri arasında biyomekanik, histolojik ve radyolojik farklılıklar gösterilmiştir. Pek çok çalışmada kemik iliğinin greftlemeden hemen sonra osteojenik olduğu bildirilmektedir (2,4,6,9). Biz tavşanlarda kemik iliği greftinin osteojenik yeteneğinin greftlemeden sonraki ilk iki-üç hafta içinde çok fazla olduğunu gözlemledik. Bu durum hem radyolojik ve histolojik ve hem de kallus hacmi ölçüm sonuçları ile kanıtlanabilir. Nitekim radyolojik olarak osteotomi ve kemik defekti grubunda greftlemeden iki hafta sonra başlayan değişiklikler greftli kemik iyileşmesinin ileri evreleri ile uyumludur. Histolojik olarak kortikal uçlar arasındaki internal kallusun görünümü kemik iliği ile greftlenen tarafta iyileşmenin daha ileri bir evrede olduğunu gösterir.

Greftlenen tarafta ve kontrol tarafında kallus hacmindeki farklılıklar da kemik iliğinin ilk iki-üç hafta içinde çok fazla osteojenik olduğunun bir göstergesidir. Bu çalışmada kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında greftlenen tarafta kallus hacmindeki fark ikinci haftada % 65.9 ve üçüncü haftada % 73.1 idi. Ancak dördüncü haftada bu oranda % 46.2'yi inen bariz bir düşme oluştu. Başlangıçtaki bu kallus hacmi artımı kemik iliğinin greftlemeden hemen sonraki osteojenik özelliğinden kaynaklanmaktadır. Öte yandan biyomekanik olarak greftli ve kontrol tarafları arasında bariz farklılıklar bulunmuştur. Özellikle osteotomi grubunda ölçülen parametreler greftli tarafta bariz olarak daha yüksektir. Osteotomi grubunun greftli radiuslarında kırılma yükü ve germe kuvvetinin defekt grubuna göre daha büyük değerlere sahip olması iyileşmenin bu grupta daha erken oluştuğunu gösterir. Çünkü özellikle germe kuvveti iyileşme zamanı ile doğru orantılıdır (5). İki grup arasındaki bu farklılık bize göre defekt alanında osteotomi hattına göre kemik çatının, dolayısıyla stabilizasyonun sağlanmasındaki yetersizlikten kaynaklanmaktadır. Çünkü kemik uçlarının erken dönemde stabilizasyonu iyileşme süresini kısaltır ve daha matür bir kemik oluşumuna yol açar.

Kemik oluşumu için üç temel gereksinim vardır. Bunlar uygun hücre, uygun beslenme ve uygun uyarandır. Kemik iliğinin osteojenik kapasitesi stromal ve endosteal hücrelerinde saklıdır (11). Kemik iliği osteoprojenitör hücrelerin kaynağı olup kemik oluşumu ve kırık iyileşmesinde anahtar elementtir ve direkt olarak kemik oluşturulan osteojenik prekürsör hücreleri içerir. Normal erişkin yaşamında osteojenik prekürsör hücrelerin iki tipi vardır; bunlardan birisi indüklenebilen osteojenik prekürsör hücreler (IOPC-inducible osteogenic precursor cell) ve diğeri kemik oluşumunu belirleyen hücrelerdir (DOPC-determined osteogenic precursor cell) (3-5). IOPC diferansiyasyon kapasitesinde olan mezansimal bir hücredir ve konnektif dokularda mevcuttur. Sadece lokal (kırık, kemik grefti vb) ve osteoindüktif uyarımlarla kemik oluşumuna yardım eder. Buna karşılık DOPC sadece kemik iliğinde bulunur, stem hücre gibi davranır ve kemik oluşum hattı içinde diferansiye olur (5). Kemik iliği her iki tip osteoprojenitör hücreyi bol miktarda içeren tek doku olması nedeniyle greft için uygun bir materyaldir.

Kemik iliği osseoz matriksin çeşitli elementleri ile kombine edildiği zaman aşırı bir osteojenik potansiyele sahiptir (3,4,6). Burwell (12)'e göre kemik iliği içeren kemik greftleri ilik ilave edilmeyen greftlerden daha osteojeniktir. Keza Tagaki ve Urist (13) kemik iliğinin Bone Morphogenetic Protein (BMP)'in başarısı için önemli olduğunu göstermişlerdir.

Öte yandan kemik iliği ile Kiel kemiği kombinasyonu üzerine pek çok deney yapılmıştır. Salama (14) ve Salama ve Weissman (15) tarafından Kiel kemiği ile otojen kemik iliği kullanılarak yapılan klinik çalışmalarda, çeşitli kemik iyileşme problemi olan hastaların tedavisi için kemik iliğinin Kiel kemiği ile kombinasyonunun osteojenik kapasiteyi artırdığı açıkça gösterilmiştir. Kiel kemiği zayıf osteoindüktif etkili olduğundan ve esas olarak bir çatı görevi yaptığından bu kompozit greft gerçekte kemik iliği greftinin bir formudur (16,17). Kemik iliği ile karıştırılan partiküllerin büyüklüğü ilik osteogenitesini etkilemektedir. Partikül büyüklüğü azaldıkça osteojenite artar. Bundan dolayı perkütan kemik iliği greftlenmesi küçük parçalı banka ke-

miği ile karıştırılarak daha yararlı hale getirilebilir (3,5).

Phemister'in tanımladığı klasik greftleme metodu donör sahada ağırlı skar, hematoma, enfeksiyon ve yürüme bozuklukları gibi problemlere yol açabilir (2,3,18). Keza alıcı sahanın açılması kırığın devaskularizasyonu ve enfeksiyonu riskini artırır (2). Buna karşılık perkütan teknik bu riskleri en aza indirir. Vücutta bol miktarda kemik iliği kaynağı vardır ve bu kaynaklardan ilik lokal ya da genel anestezi altında elde edilebilir. İliğin kendisi kemik greftlerinin pek çok osteojenik hücrelerini içerir, buna karşılık devitalize dokuları ihtiva etmez. Alıcı bölgesine greftin enjeksiyonu skopi kullanılarak kolaylaştırılabilir. Bu durum heterotopik kemik gelişim riskini en aza indirir.

Burada cevaplandırılması gereken iki soru, greftlemenin kırıklardan sonra ne zaman yapılacağı ve iliğin aspirasyondan ne kadar süre sonra enjekte edileceğidir. Wittbjer ve arkadaşları (19) iliğin greftlemeden hemen sonra osteojenik olduğunu bildirmişlerdir. Keza Paley ve arkadaşları (5) erken dönemde kullanıldığı zaman kemik iliğinin kırık iyileşmesi üzerine optimal etki yaptığını göstermişlerdir. Bu çalışmada kemik iliği greftlemesi osteotomi ya da kemik defektlerinin oluşturulmasından beş gün sonra yapılmıştır. Bunun sebebi cilt ve cilt altı dokularının iyileşmesine izin vererek yaradan sıvı iliğin sızmasını önlemek ve işlemin erken dönemde yapılması ile greftlemeden iyi sonuçların elde edilmesini beklemektir. Öte yandan Paley ve arkadaşları (5) aspirasyondan hemen sonra hücrelerin % 80-90 oranında canlı olduğunu, ancak bu oranın aspirasyondan sonraki bekleme süresi arttığında azaldığını bildirmişlerdir. Bundan dolayı biz aspirasyondan sonra iliğin perkütan verilmesine kadar geçen zamanı en aza indirmek için kemik iliğini alıcı sahaya hemen enjekte ettik.

Sonuç olarak perkütan kemik iliği enjeksiyonu güvenli, kolay, pratik ve zaman kazandırıcı bir işlemdir. Bu teknik anestezi, enfeksiyon ve cerrahi riskini en aza indirir. Donör saha problemlerini azaltır ve kolaylıkla tekrarlanabilir. İlik lokal ya da genel anestezi altında elde edilebilir. Gecikmiş kaynama ya da gecikmiş kaynamaya eğilimli kırıklar gibi canlı kemik greftlemesi için güçlü endi-

kasyon olmayan ya da cildin elverişsiz olduğu durumlarda perkütan kemik iliği greftlemesi düşünülebilir. Bu deneysel çalışma ve literatürün gözden geçirilmesi perkütan kemik iliği greftlemesinin klinik olarak potansiyel bir terapötik yöntemi olduğunu göstermektedir. Ancak bu yöntemin kemik defektlerinin tedavisinde kullanılması için daha temkinli olunmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Prolo DJ, Rodrigo JJ. Contemporary bone graft physiology and surgery. *Clin Orthop* 1985; 200: 322-342.
2. Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, Dehne R. Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. *Clin Orthop* 1991; 266: 259-270.
3. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 213-225.
4. Burwell RG. The function of bone marrow in the incorporation of a bone graft. *Clin Orthop* 1985; 200: 125-141.
5. Paley D, Young C, Wiley AM, Fornasier VL, Jackson RW. Percutaneous bone marrow grafting of fractures and bony defects. An experimental study in rabbits. *Clin Orthop* 1986; 208: 300-312.
6. Aspenberg P, Wittbjer J, Thorngren KG. Pulverized bone matrix as an injectable bone graft in rabbit radius defects. *Clin Orthop* 1986; 206: 261-269.
7. Brown KLB, Cruess RL. Bone and cartilage transplantation in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A: 270-279.
8. Tiedeman J, Connolly JF, Strates BS, Lippello L. Treatment of nonunion by percutaneous injection of bone marrow and demineralized bone matrix. An experimental study in dogs. *Clin Orthop* 1991; 268: 294-302.
9. Healey JH, Zimmerman PA, Mc Donnell JM, Lane JM. Percutaneous bone marrow grafting of delayed union and nonunion in cancer patients. *Clin Orthop* 1990; 256: 280-285.
10. Garg NK, Gaur S, Sharma S. Percutaneous autogenous bone marrow grafting in 20 cases of ununited fracture. *Acta Orthop Scand* 1993; 64: 671-672.

11. Asthon BA, Allen TD, Howlett CR, Eaglesom CC, Hattori A, Owen M. Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. *Clin Orthop* 1980; 151: 294-307.
12. Burwell RG. Studies in the transplantation of bone VII: The fresh composite homograft-autograft of cancellous bone. An analysis of factors leading to osteogenesis in marrow transplants and in marrow containing bone grafts. *J Bone Joint Surg* 1964; 46B: 110-140.
13. Tagaki K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic protein-induced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clin Orthop* 1982; 171: 224-231.
14. Salama R. Xenogenic bone grafting in humans. *Clin Orthop* 1983; 174: 113-121.
15. Salama R, Weissmann SL. The clinical use of combined xenografts of bone and autologous red marrow. A preliminary report. *J Bone Joint Surg* 1978; 60B: 111-115.
16. Salama R, Gazit E. The antigenicity of Kiel bone in the human host. *J Bone Joint Surg* 1978; 60B: 262-265.
17. Tuli SM, Singh AD. The osteo-inductive property of decalcified bone matrix. An experimental study. *J Bone Joint Surg* 1978; 60B: 116-123.
18. Summers BN, Eisenstein SM. Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion. *J Bone Joint Surg* 1989; 71B: 677-680.
19. Wittbjer J, Palmer B, Rohlin M, Thorngren KG. Osteogenetic activity in composite grafts of demineralized compact bone and marrow. *Clin Orthop* 1983; 173: 219-238.