

Kemik greftleri ve kemik bankaları

Nadir Şener⁽¹⁾, Harzem Özger⁽²⁾

Kemik greftleri ortopedistler tarafından kemik kistlerinin doldurulması, travma ve tümör rezeksiyonları sonrasında oluşan kemik kayıplarının rekonstrüksiyonu, kaynama problemlili kırıklarda osteogenezinin desteklenmesi gibi çok değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Son yıllarda rekonstrüktif amaçlı kemik grefti kullanımlarındaki belirgin artışla çok daha çeşitli şekil ve büyük boyutta kemik greftlerine ihtiyaç duyulmuştur. İşte bu ihtiyaç kemik bankalarının yaygınlaşması ile sonuçlandı. Bu nedenle yazımızda kemik greftlerinin çeşitlerini, özelliklerini ve kemik bankalama tekniklerini derledik.

Anahtar kelimeler: Kemik greftleri, kemik bankaları, otogreft, allogreft

Bone grafts and bone banking

Bone grafts are used by orthopaedic surgeons for a variety of purposes such as to fill bone cysts, reconstruction of bone lost due to trauma or tumors, to aid healing of ununited fractures and unions, joint arthrodeses. Bone grafts may be either autologous or allogenic. In the recent years the clinical demand for banked bones has risen rapidly because of the dramatic increase in the volume of orthopaedic reconstructive procedures requiring replacement of bone. This demand has been the cause of program of bone banking. This article is an overview of bone banking methodology currently in general use and principles of bone grafts.

Keywords: Bone grafts, bone banks, autograft, allograft

Tıpta vücudun hasar görmüş yada hastalanmış kısımlarının sağlıklı dokular ile tamiri yada değiştirilmesi yani transplantasyon denemeleri antik çağlara dek uzanır. Hatta efsanelerde bile yer alır (9, 16). Ancak gerçek anlamda ve başarılı transplantasyon uygulamaları için cerrahi tekniklerin, anestezinin ve asepsi kavramının gelişmesini beklemek gerekmiş ve verimli sonuçlar ancak son yüzyılda alınmıştır. Ortopedi de değişik kaynaklardan sağlanan kemik ve yumuşak doku greftlerine (transplantlarına) başvurulmuş ve pseudoartroz, gecikmiş kaynamalar, kemik kaviterlerinin doldurulması; travma veya tümör sonrası oluşan kemik kayıplarının tamiri, artrodez gibi durumlarda hem mekanik destek hem de osteogenezini arttırmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (2, 9, 12).

İlk başarılı kemik grefti uygulaması 1881'de Maccew tarafından yayınlanmıştır (10). Takiben ilk başarılı seriler 1908'de Lexer tarafından, ilk büyük başarılı seriler ise 1923'de Albee (3000 vakalılık bir seri) tarafından sunulmuştur (1, 16). 1950'li yıllarda Herndon ve ark. allogreft immünolojisi üzerine yaptıkları çalışmalarda dondurma işleminin allogreftlerin antijenik özelliklerinin azalmasını sağladığını göstermesiyle allogreftlerin klinik kullanımı yaygınlaşmıştır. 1965'de Smith'in kondrositlerin korunarak saklanma yöntemlerini geliştirmesi ile osteokondral greftlerin kullanımında önemli aşamalar kaydedilmiştir. Kemik bankası fikri ise ilk kez 1867 yılında Ollier'in kemik saklanma tekniklerini yayınlaması ile ortaya atılmıştır (10, 16).

Kemik greftleri 3 ana grupta değerlendirilir,

Otogreftler: aynı kişiden alınan kemik greftin yine aynı kişinin başka bir yerine greftlenmesi

Allogreftler (homogreftler): bir insandan diğer bir insana kemik nakli

Xenogreftler (heterogreftler): hayvan türlerinden insana kemik nakli.

Yaygın olarak ortopedistler öncelikle otogreft kullanmayı tercih ederler. Çünkü otogreftler diğer greftlere göre;

- daha çok osteojenik kapasiteye sahiptirler
- immün yanıt oluşturmazlar
- ucuza malolurlar
- daha çabuk ve problemsiz kaynarlar

Ancak tüm bunlarla birlikte;

- elde edilmeleri için ek bir insizyon gerektirir
- operasyon ve anestezi süresini ve mobilitesini artırır
- bazı durumlarda greftin alındığı yerdeki kemikte zayıflık oluştururlar
- enfeksiyon riskini artırır
- kan kaybını artırır
- pekçok durumda şekil ve miktar olarak yetersiz kalırlar.

İşte otogreftlerin bu olumsuzlukları ortopedistleri allogreftler ve xenogreftler gibi yeni kemik kaynakları aramaya itmiştir. Tabi bu arayış immünolojik ve ekonomik problemler, donörlerden hastalık transferi, kemik bankalarının düzenlenmesi gibi ek sorunları da beraberinde getirmiştir.

Otogreftler

Otogreftler az önce de belirtildiği gibi özellikle osteogenezin primer amaç olduğu durumlarda tercih edilmektedir. Çünkü otogreftlerde "creeping substitution" çok daha hızlı gelişir. Ayrıca otogreftlerin içerdikleri osteoblastlar, kemik iliği ve kan hücreleri osteoge-

(1) İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

(2) İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

netik indüksiyon kapasite ile osteogeneze katkıda bunurlar. Diğer greft türlerinde ise bu hücreler immün yanıtı uyardıklarından ya da saklama koşullarında tahrip olduklarından osteogeneze katkıda bulunamazlar (2). Ototogreftler içinde de osteogenetik aktivite yönünden önemli bir ayırım bulunmaktadır. Spongios yapı ve kompakt yapı otogreftlerde "creeping substitution" tamamen farklı biçimde ve hızda gelişmektedir. Spongios kemiğin açık ve boşluklu yapısı revaskularizasyon fazında yeni oluşan damarların difüzyonuna daha kolay izin verir ve mikroanastomozlar daha kolay kurularak greftin kanlanması erken dönemde sağlanır. Oysa daha yoğun yapı kompakt kemikte greft damar invazyonuna bir bariyer oluşturur ve vasküler penetrasyon ancak Haversian kanallar aracılığıyla gelişir. Ayrıca spongios kemiğin geniş alan yüzey alanı çok daha fazla osteoprogenitör hücre içerdiğinden osteogenez ve takiben kallus oluşumu daha kolay olur (2, 5, 9).

Ototogreftlerin alındığı bölge de osteogenez açısından önem taşır. Örneğin iliak kanattan alınan greftler aktif kırmızı kemik iliği yani primitif retiküler hücreler, immatür hemapoetik hücreler gibi osteoprogenitör hücreler içerdiğinden nakledildiği kemikle hızlı bütünleşir ve kallus daha çabuk gelişir. Ancak yukarıdaki tüm kuralların geçerli olması için öncelikle greftin makaslama kuvvetlerine maruz kalmaması yani iyi tespit edilmiş olması gerekir (2).

İyi tespit edilmiş ve iyi kanlanan bir zemine yerleştirilmiş greftin kaynaması sırasında ilk olarak greftteki mikrovasküler yeni damarların ilerleyerek greft içinde bir mezenkimal kök hücre havuzu oluşturduğu görülür. Bu hücreler osteojenik, kondrojenik ya da fibrojenik hücre serilerine farklılaşabilme kapasitesindedirler. Bu farklılaşımın yönünü lokal, nutrisyonel ve elektromekanik güçler belirler (2). Örneğin yüksek oksijenizasyon ve kompresyon mezenkimal kök hücrelerin osteoblast yönünde gelişmesini sağlarken, düşük oksijenizasyon ve kompresyon kondroblast yönünde, yüksek oksijenizasyon ve gerilme kuvvetleri ise fibroblast yönünde gelişimine neden olur (2).

Allogreftler

Ortopedik tekniklerin ve deneyimlerin gelişmesi ile otogreftler artık yetersiz olmaya başlamış, tümör rezeksiyonu ve travmalar sonrasında çok daha büyük ve değişik şekillerde kemik greftlerine ihtiyaç duyulmuştur. Sonuç olarak allogreftler kullanıma girmiş hatta osteokondral greftlere ve bir eklem bütünü olarak nakli denenmeye başlanmıştır.

Allogreftlerin yerleştirildikleri zemine uyumları otogreftlere göre daha farklıdır. Hem vasküler invazyon hem de perivasküler yeni kemik oluşumu daha yavaş olmaktadır. Bu uyumu ayrıca greftin boyutu, grefte karşı oluşan immün yanıtın düzeyi ve saklama koşulları da etkiler (2).

Allogreftlere karşı oluşan immün yanıt greft içindeki osteogenik ve hematopoetik hücreler, lökositler, kan damar, sinir ve konnektif doku matrislerindeki histokompatibilite antijenlerine alıcının duyarlılaşması (sentizasyonu) sonucu gelişir. Yani bu yanıt ikincil

bir immün yanıtıdır ve bu nedenle özellikle hücrenel bir immün yanıtıdır (2, 12). 1950'lerde Herndon ve arkadaşlarının dondurulmuş allogreftlerle immün yanıtın azaldığını göstermesiyle allogreftler daha yaygın kullanım alanı bulmuş ve dikkatler saklama tekniklerine yönelmiştir (2, 12, 16).

Günümüzde allogreftlerin saklanması derin dondurma (deep-freezing), dondurulup kurutma (freeze-drying), koruyucu kimyasallar ve dondurma (cryopreservation) olmak üzere başlıca 3 yöntemle sağlanmaktadır. Bu yöntemlerin kullanımı ve geliştirilmesi için kemik bankalarına ihtiyaç duyulmuş ve dünyanın pek çok yerinde kemik bankaları kurulmuştur.

Kemik bankaları

Donör seçimi: Donör seçimi için katı yaş olmakla birlikte tercih edilen 16 ile 65 yaş arasındadır (7, 8).

Donörler;

- akut yada kronik infeksiyon
- malinite
- kemiğin alınacağı bölgede radyasyona maruz kalma

- veneryal hastalıklar
- hepatit
- yavaş virüs enfeksiyonları
- AIDS veya HIV enfeksiyonu risk faktörler
- uyuşturucu kullanımı
- 1 haftadan daha uzun süre steroid kullanımı
- yaygın osteoporoz
- immün kompleks hastalıkları
- konnektif doku hastalıkları
- uzun süreli insüline bağımlı diabet
- yakın sürede canlı virüs aşısı ile aşılama gibi bir anamneze sahip olmamalıdır (7, 8, 13, 19).

Donörler kadavra yada canlı olabilir. Her iki durumda da yukarıdaki olasılıkları ekarte etmek için iyi bir anamnez alınması, canlı donörlerde yeterli fizik muayene, kadavralarda ise ayrıntılı otopsi yapılması gerekmektedir. Ayrıca her iki durumda da;

- Sifiliz (VRDL veya RPR)
- Hepatit B (antijen ve antikor)
- Hepatit C (anti HCV)
- AIDS (anti HIV)

için serolojik testler yapılmalıdır (7, 8, 13, 14). Ayrıca bugün batıdaki pek çok merkezde AIDS için 3. veya 6. ayda serolojik testler tekrarlanmakta böylelikle donörün HIV (+) ancak antikor (-) olduğu negatif pencere olması riski ortadan kaldırılmaktadır. Bu konuda yapılan bir çalışmada iyi bir fizik muayene ve anamnez, 2 kez serolojik test yapılmadığı takdirde HIV (+) bir donörden greft alma olasılığının 1/161 olduğu halde tüm bunların yapılması ile bu olasılığın 1/1.667.600'e indirilebileceği belirtilmektedir (3). Bugüne dek kemik transplantasyonu sonrasında HIV ile infekte olmuş 4 vaka bildirilmiştir (4, 15).

Tüm bu serolojik testlerin dışında greftten alındığı anda parça yada sürüntü tarzında kültür için örnek alınmalı ve bu materyaller aerobik şartlarda kanlı

agar ve çikolatalı agar besiyerlerine, anaerobik şartlarda da thioglikolatlı et suyu besiyerine ekilmelidirler (7, 8, 12). Kadavra donörlerinden ise kültür materyalleri üç değişik vücut sıvısından, kandan ve idrardan da alınmalı ve greftin alımı için 4°C'de saklanan kadavradan 24 saat, 20°C'de saklanan kadavradan 12 saat aşılmasıdır (4, 8).

Bazı kemik bankalarında yaygın olmamakla birlikte kan kültürleri, idrar kültürü, HLA tiplemesi, kadavralarda lenf nodlarının histolojik değerlendirilmesi alınan greftin histopatolojik incelemesi de yapılmaktadır. Bunların içinde kan grubunun tespiti önemlidir. Çünkü literatürde Rh (-) alıcıya Rh (+) greft nakli sonucusunda anti D tespit edildiği bildirilmektedir ki bu da doğurganlık çağındaki kadınlarda önemlidir (7, 8). Greftin histopatolojik tetkiki ise özellikle sadece femur başlarının kullanıldığı bankalarda tercih edilmektedir (20).

Greftin alınması; canlı donörlerde sıklıkla femur başı greft olarak alınmaktadır. Alınan greft ameliyat hemşiresi tarafından yumuşak dokulardan temizlenip kültür için materyal alındıktan sonra ya direkt ağız vida kapaklı cam kavanoza konulup üç kat steril örtü 5kompres veya batın kompres) ile paketlenir (20) ya da önce üç kat paketlenip steril ağız vida kapaklı cam kavanoz yada polietilen bir kaba yerleştirilir ve sirküler hemşireye verilir (7, 8, 12, 19) Sirküler hemşire ise aldığı greftin kemik bankası kaydını yapar. Bu kayıta donör adı, yaş, cinsiyeti, kan grubu, kemik bankası sıra numarası, alındığı tarih, cerrahın adı, greftin çeşidi kaydedilmelidir (8, 12, 19).

Kadavralardan greft alınırken ya ameliyathane koşullarında steril şartlarda greft alınmalı, ya da temiz ortamlarda alınıp greft daha sonra sterilize edilmelidir. Sterilizasyonda ilk olarak otoklavizasyon ve kaynatma kullanılmış ancak denatürasyon nedeniyle greftin biyomekanik özelliklerinin bozulmasından dolayı vazgeçilmiştir (12). Daha sonra mertiolat, gümüş, propiolakton ve antibiyotikler ile muamele etme iyonize radyasyona maruz bırakma, gibi metotlar denenmiştir (2, 12, 19). Mertiolat ve propiolakton alıcısındaki toksit etkileri nedeniyle iyonize radyasyon etkin dozda biyomekanik kalitede kayıp yaratması nedeniyle, neomisin ve kloramfenikol gibi antibiyotikler ise osteogenez olumsuz etkilediklerinden artık tercih edilmemektedirler (8, 9, 12, 19). Bugün için tercih edilen greftin steril koşullarda alınmasıdır (2, 11, 17).

Greftin saklanması; alınan greftler sıklıkla (-70) derecede deep-freezelerde saklanmaktadır. Ayrıca (-170) ile (-190) derecede sıvı nitrojende ve (-15) ile (-30) derecede ev tipi deep-freezelerde de saklanması mümkündür. Ancak (-15) - (-30) derecede saklama önerilmemektedir. Çünkü bu sıcaklıkta hücreleri mekanik olarak tahrip edecek büyüklükte buz kristalleri oluşabilmektedir. Hatta bu kristalleşmeyi önlemek için yavaş ve kademeli dondurma ancak hızlı eritme önerilmektedir. Ayrıca (-15) ile (-30) derece arasının önerilmeyişinin bir başka nedeni de yavaş yavaş gelişen otoliz ile greftin zarar görebilmesidir. Çünkü ancak (-70) dereceden enzimal aktiviteler minimal olabilmektedir. Greftlerin (-20) derecede 6 aydan. (-70) derecelerde ise 1-3 yıldan fazla saklanması önerilmemektedir (2, 7, 8, 12, 16, 19, 20).

Greftler kullanılacağı zaman steril şartlarda ameliyat masasına alınır ve tercihen tekrar kültür için materyal alınır. Böylelikle hem kemik bankasının güvenilirliği, kemiğin bankadaki durduğu süre içinde kontamine olup olmadığı sınıanmış olur; hem de şayet greft infekte çıkarsa hastaya hangi antibiyotiğin başlanacağı konusunda fikir verir. Greft 50° C'lik basitrasın, betadine veya polimiksin B eklenmiş ringer laktat veya serum fizyolojikte bekletilerek yumuşaması sağlanır (7, 9, 16, 20).

Dondurarak kurutma (freeze-drying) yönteminde ise greftler önce (-70) derecede dondurulur ve vakum ile nem oranı %5'e indirilir ve paketlenir. Bu şekilde vakumu bozulmadıkça uzun süre saklanabilir. Oldukça kırılğan olan bu greftler kullanılmadan önce serum fizyolojikte ıslatılmalıdır. Teorik olarak sınırsız saklama süresine sahip olmalarına karşın 5 yıl içinde kullanılmaları önerilmektedir (2, 9).

Koruyucu kimyasal ile dondurma (cryopreservation) yöntemi daha çok osteokondral greftlerin saklanması için kullanılmaktadır. Bu yöntemde dondurulan doku hücrelerinin korunması amacıyla greft çeşitleri maddelerle muamele edilerek dondurulan örneğin osteokondral greftlerde dondurma işlemi ile kondrositlerin canlılığını yitirmesi istenmez oysa %10 gliserol veya %8 DMSO ile dondurulduğunda pek çok kondrosit canlılığını koruyabilir (2, 16).

Derin dondurma (deep-freezing) yöntemi greftin biyomekanik özelliklerini etkilemezken dondurarak kurutma (freeze-drying) yöntemi torsiyonel ve bending kuvvetlere greftin dayanımını azaltır, kompresif kuvvetlere karşı ise değiştirmez (17). Her iki yöntem de HIV inaktivasyonu yaratmaz (4).

Xenogreftler

Allograft teminin pahalı bir yöntem olmasından dolayı çeşitli hayvan türlerinden alınan kemikler (dana, öküz, köpek, maymun v.b.) fildişi, sığır boynuzu greft olarak denenmiş ancak yüksek immüniteleri, yetersiz biyomekanik kaliteleri ve yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaları nedeniyle terkedilmişlerdir (6, 18).

Damarlı serbest greftler

Son yıllarda yaygın kullanım alanı bulan bu tür otogreftlerde greft yatağında nutrisyonel damarı prepare edilerek alınmakta (gerekirse çevre yumuşak dokular ve cilt ile birlikte) ve nakledileceği yere mikrocerrahi yöntemler ile damar anastomozu yapılarak yerleştirilmektedir. Böylelikle greftin beslenme problemi olmadığından kaynama çok daha çabuk olmakta, kısa süreli immobilizasyon yekmekte ve transfer edilen kemik segmenti hızla hipertrofiye uğrayıp fonksiyonel yönden tam sonuç alınmaktadır (2).

Sonuç olarak tüm bu greft çeşitleri ve yöntemleri günümüzde masif osteokondral greftler ve eklem transplantasyonlarındaki gelişmelere zemin hazırlamış ve bu yeni transplantasyon yöntemleri ile ortopedik rekonstrüktif cerrahide yeni bir çığır açılmıştır.

Kaynaklar

1. Albee, F. H.: Fundamentals in bone transplantation. JBJS 64-A: 270, 1982.
2. Brown, K. L. B., Cruess, R. L.: Bone and cartilage transplantation in Orthopaedic Surgery. JBJS 64-A: 270, 1982.
3. Buch, B. E., Malinin, I. T., Brown, M. D.: Bone transplantation and human immunodeficiency virus. Clin Orthop. 240: 129, 1989.
4. Buck, B. E., Malinin, I. T.: Human bone and tissue allografts. Clin. Orthop. 303: 8, 1994.
5. Burchardt, H.: The biology of bone graft repair. Clin. Orthop. 174: 28, 1983.
6. Campbell, E. D.: Operative Orthopaedics, Mosby Year Book. Vol.1 pp. 12-15, 1992.
7. Czitrom, A. A., Gross, A. E., Langer, F., Sim, F. H.: Bone Banks and Allografts in Community Practice. AAOS. Instructional Course Lectures. pp. 13-24, 1988.
8. Czitrom, A. A.: Principles and Techniques of Tissue Banking AAOS. Instructional Course Lectures. pp. 359-362. 1992.
9. Friedlaender, G. E.: Current Concepts Review Bone Banking. JBJS 64-A: 307, 1982.
10. Friedlaender, G. E.: Editorial Comment. Clin. Orthop. 174: 2, 1983.
11. Gray, J. C., Elves, M. W.: Osteogenesis in Bone Grafts after Short-term Storage and Topical Antibiotic Treatment. JBJS 63-B: 12, 1981.
12. Hart, M. M., Campbell, E. D., Kartab, M. G.: Bone Banking. Clin. Orthop. 206: 295, 1986.
13. Ivory, J. P., Thomas, I. H.: Audit of a Bone Bank. JBJS 75-B: 355, 1993.
14. Kakaiya, R. M., Jackson, B.: Regional Programs for Surgical Bone Banking. Clin. Orthop. 251: 290, 190.
15. Leads from the MMWR Transmission of HIV through bone transplantation. J. A. M. A. 260: 2487-2788, 1988.
16. Manhin, J. H., Doppelt, S., Tomford, W.: Clinical Experience with Allograft Implantation. Clin Orthop. 174: 69, 1983.
17. Pelker, R. R., Friedlaender, G. E., Markham, T. C.: Biomechanical Properties of Bone Allografts. Clin Orthop. 174: 54, 1983.
18. Salama, R.: Xenogeneic bone grafting in humans Clin. Orthop. 174: 54, 1983.
19. Tomford, W. W., Doppelt, S. H., Mankin, H. J., Friedlaender, G. E.: 1983 Bone Bank Procedures. Clin. Orthop. 174, 15, 1983.
20. Tomford, W. W., Ploetz, J. E., Mankin, H. J.: Bone Allografts of Femoral Heads. Procurement and Storage. JBJS 68-A, 534, 1986.

Yazışma adresi:

*Dr. Nadir Şener
İstanbul Üniv. İstanbul Tıp Fakültesi
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı
34390 Çapa, İstanbul, Türkiye*