

# Çeşitli kemik replasman materyallerinin sıçanlarda kemik rejenerasyonu üzerine etkisi (Deneysel araştırma)

Harzem Özger<sup>(1)</sup>, H.Çetin Aydınok<sup>(2)</sup>, Sevgi Küllü<sup>(3)</sup>, Volkan Etuş<sup>(4)</sup>

Bu çalışmada otojen ve allojen greflerle, osteogenezisi uyaran BMP (Bone Morphogenetic Protein) ve hidroksiapatitin (Pyrost) kemik rejenerasyonu üzerine etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı. 40 adet sıçanda 8'erli gruplar oluşturularak eşit şartlar altında belirtilen materyeller standart kalvaria defektlerine uygulandı. 4 hafta sonra histolojik olarak defektlerdeki osteogenez değerlendirildi. Otojen grefin en etkin materyel olduğu, allojen greflerin direkt integrasyonunun olmadığı, kemik yapımını uyarması yönünden BMP'nin hidroksiapatitten daha etkin olduğu gözlemlendi. Ancak insan uygulamaları için daha ileri çalışmalar gerektiği fikrine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Osteogenezis, osteoindüksiyon, BMP, Hidroksiapatit

## The effects of various bone replacement materials on bone regeneration in rats

The aim of this study was to compare the effects of autogeneous and allogeneous grafts to the effects of BMP (Bone morphogenetic protein) and hydroxyapatite (pyrost), which induce osteogenesis on bone regeneration. 40 rats have been divided into five groups, each having 8 and under equivalent conditions the mentioned materials have been applied to standard calvaria defects. 4 weeks later osteogenesis in the defect areas has been histologically evaluated. It has been noticed that autogeneous graft was the most effective material allogeneous grafts did not have a direct integration and BMP was more efficacious than hydroxyapatite in osteogenesis induction. However it was agreed that further advanced studies are needed for applications on human beings.

**Key words:** Osteogenesis, osteoinduction, BMP, Hydroxyapatite.

İskelet sisteminde kemik defekti oluşturan çok sayıda doğuştan ya da edinsel hastalık mevcuttur. Bu defektlerin giderilmesi kemik replasmanı kavramını ortaya çıkarmaktadır. Replasmanda amaç kullanılan materyalin mevcut boşluğu doldurarak burada zaman içinde vücudun kendi kemiğinin oluşmasını sağlamaktır. Bu amaçla kullanılan materyaller 2 ana grupta değerlendirilirler. Birinci grup kemik transplantasyonlardır.

Bu grupta bilinen en etkin ve üstün yöntem otolog spongioza transplantasyonudur. Bunun yanında allogenik ve ksenogenik transplantasyonlar da uygulanmakta ve yöntemler olumlu veya olumsuz çeşitli tartışmalara yol açmaktadırlar (8, 9, 10, 11, 14).

Transplantasyonla osteogenezisi sağlayacak hücrelerin nakli ancak otolog materyallerde ve kısmen gerçekleştirilebilmektedir. Transplante edilen otolog materyalin bir kısmı, allogenik materyalin ise tamamı belli bir zaman sonra osteoklastik aktivite ile yıkılmakta, ancak bu yıkım ürünleri de ayrı bir rejenerasyon olayı başlatmaktadır. Osteoklastik indüksiyon diye adlandırılan bu olay kemik ana maddesinin yıkımı ile ortaya çıkan bazı maddelerin hem osteoblastik hücreleri uyarmaları hem de spesifik olmayan hücrelerin osteoblastlara dönüşerek kemik yapmaları prensibine dayanmaktadır (1, 9, 17). Bu görüşten hareketle de ikinci grup materyaller ortaya çıkmıştır. Burada amaç boşluğa uygulanacak materyelin kemik oluşumunu uyarması ve bu şekilde defektin vücudun kendi materyali ile dolmasıdır.

Kemiğin doğal yapısı iki ana grup maddeden oluşur. Bunlar organik bölüm olan başlıca osteokalsin ve osteonektinden ibaret proteinlere bağlı ve glikozaminoglikanlardan oluşan bir matriks içine gömülü tip I kollagen lifleri ve inorganik bölüm olan kalsium fosfat mineralleridir (%90 hidroksiapatit) (3). Kemik yıkımının kemik indüksiyonunu sağlaması fikri ile kemik replasman materyelleri arayışı bu iki ana grup üzerinde toplanmıştır. Kemiğin organik yapısının etkin uyarıcı bölüm olduğu inancıyla ilk kez Senn (1889) dekalsifiye kemik çalışmalarını başlatmış, Uris (1965) bunu daha da geliştirerek bone morphogenetic protein (BMP) adını verdiği kemik matriks bölümünün kemik indüksiyonunu sağladığını ileri sürmüştür. BMP'nin kemik rejenerasyon yeteneği düşük ve yüksek her tür zeminde kemik oluşumunu indüklediği çeşitli otörlerin bir çok çalışmasında bildirilmektedir (2, 5, 6, 7, 9, 14, 15, 18, 19, 20, 21).

Kemiğin inorganik yapısının esas uyarıcı bölüm olduğunu ileri süren görüş ise Albee ve Morrison'un (1920) kırık iyileşmesini stimüle edici madde olarak trikalsiyumfosfatı kullanmaları ile başlar. Bu konuda yapılmış çok sayıda araştırma sonucunda gerek sentetik gerekse doğal kökenli hidroksiapatit ve trikalsiyumfosfatın etkin kemik indüksiyonuna yol açtıkları vurgulanmaktadır (7, 8, 10). Otogen, allogen ve ksenogen transplantasyonlar konusunda uzun süreli ve çok sayıda deneyim mevcuttur (2, 4, 5, 10, 14). Kemik replasmanında bu yöntemlere alternatif olarak ileri sürülen BMP ve hidroksiapatit üzerinde birçok çalışma yapılmakta ve kısmen insan-

(1) İst.Üni. Tıp Fak. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Uzmanı

(2) İst.Üni. Tıp Fak. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Asistanı

(3) Marmara Üni. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Doçent

(4) İst.Üni. İst. Tıp Fak. Öğrencisi

larda kullanımlarına başlanmaktadır (8, 9, 11, 19, 21). Biz bu deneysel çalışmamızda kemik replasmanında en çok kullanım alanı bulan transplantasyon ve replasman yöntemlerini aynı şartlar altında karşılaştırmalı olarak uygulamayı ve bunların kemik rejenerasyonu üzerine etkilerini gözlemlemeyi amaçladık.

### Gereç :

İstanbul Üniversitesi Deneysel ve Tıbbi Araştırma Merkezi'nde (DETAM) araştırma gerçekleştirildi. Araştırmada ortalama ağırlıkları 406.4gr olan 40 adet Sprague-Dawley dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar normal sıçan diyeti ve musluk suyu ile beslendiler. Sekizer adetlik 5 grup halinde metal kafeslerde 4 hafta süre ile muhafaza edildiler.

### Yöntem :

Sıçanlar eter ile sersemleştirildikten sonra kuyruk venlerinden penthotal verilerek uyutuldu. Steril şartlarda kalvariaları açıldı, sol parietal bölgeden kesici döner testere yardımı ile 7mm çapında yuvarlak bir bölüm çıkartılarak standart defekt oluşturuldu. Bu standart deliklere,

1. grupta Sprague-dawley sıçandan elde edilmiş BMP koyuldu, 2. grupta doğal kökenli hidroksiapatit (pyrost) küçük parçalar haline getirilerek uygulandı. Ototog greft grubunu oluşturan 3. grupta sıçanın kendisinden çıkarılan kalvaria parçası küçük parçacıklar haline getirilerek yeniden aynı bölgeye uygulandı. 4. grupta (allogref grubu) diğer sıçanlardan çıkartılan kalvaria parçaları küçük parçacıklar haline getirilerek defekt bölgesine konuldu. 5. grup kontrol grubu olarak kullanıldı. Kontrol grubunda 7mm çapında kemik çıkartıldıktan sonra bu bölge boş olarak bırakıldı. Materyaller uygulandıktan sonra kafa derileri dikilerek işlem bitirildi. 4 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilerek oluşturulan defekt bölgeleri çıkarıldı. Histolojik tetkik için parçalar %10 formaldehitte 24 saat bekletildi. Dekalsifiye edildikten sonra defektin tam ortasında geçecek şekilde bir dilim çıkarılarak ortalama 8 mikron kalınlığında seri kesitler hazırlandı. Preparatlar hematoksilin eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Oluşturulan defekt alanında meydana gelen yeni kemik dokusu, varsa kemik rezorpsiyonu ve fibrozis gibi diğer morfolojik yapıların bir büyük büyütme alanındaki miktarı semikantitatif yöntemlerle değerlendirildi.

### Bulgular:

Deney gruplarının sayıları, uygulanan materyaller ve komplikasyonları Tablo-1 de görülmektedir.

Deney gruplarından elde edilen histolojik kesitlerin değerlendirme bulguları şu şekilde özetlendi:

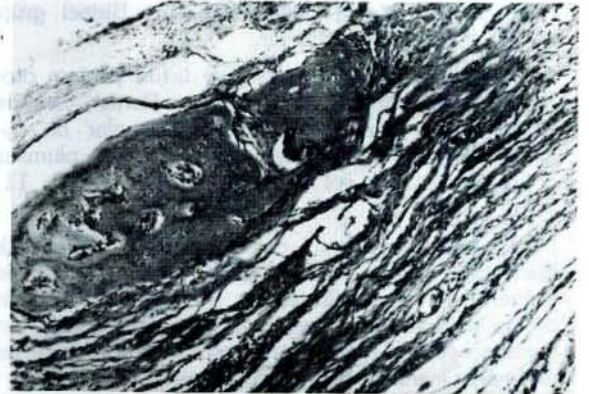
#### Grup 1:

BMP:Tüm hayvanlarda defekt alanını boydan boya dolduran ve komşu periostla devamlılık gösteren bağ dokusu içinde hemen her alanda serpiştirilmiş BMP lamelcikleri izlendi (Resim-1). Bunların çevrelerinde yabancı cisim dev hücreleri yoktu. Yer, yer defekt uçları arasındaki mesafenin yaklaşık 1/4'ünü dolduran, çevrelerinde osteoblastik aktiviteyi gösteren canlı kemik spikülleri vardı (Resim-2).

Defekt kenarlarındaki kemik dokusunda belirgin hipertrofi ve osteogenezis dikkati çekmekteydi (Resim-3). Bir hayvanda konnektif doku hücrelerinin



Resim 1

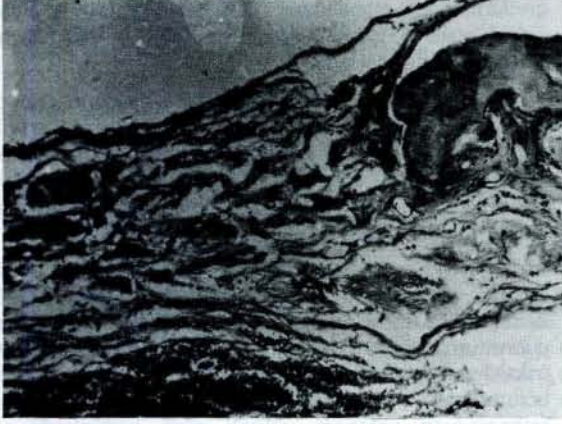


Resim 2

Deney grubu	Uygulanan materyel	Denek sayısı	Deney süresi	Komplikasyon	Değerlendirilen hayvanların sayısı
1	BMP	8	4 hafta	1 ex., 1 enfeksiyon	6
2	Hidroksiapatit (Pyrost)	8	4 hafta	1 ex.	7
3	Ototogreft	8	4 hafta	1 enfeksiyon	7
4	Allogref	8	4 hafta	1 ex., 2 enfeksiyon	5
5	Kontrol gr.	8	4 hafta		8
Toplam		40		7	33

Tablo 1

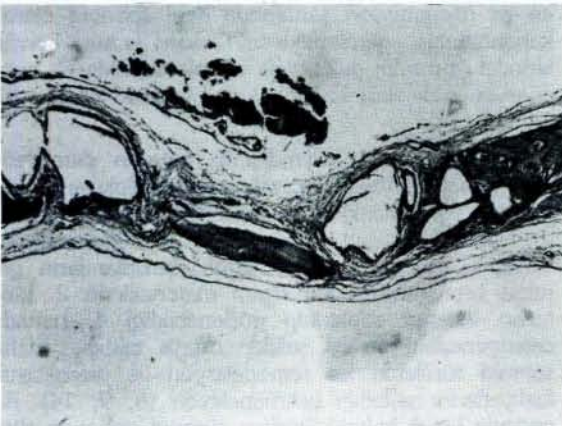
osteoblastlara dönüştüğü gözlemlendi. (Resim-4). Bağ dokusu içinde ayrıca eski kanamaya ait yapısal bulgular, seyrek lenfositler, bir hayvanda mikroabse odağı dikkati çekti.



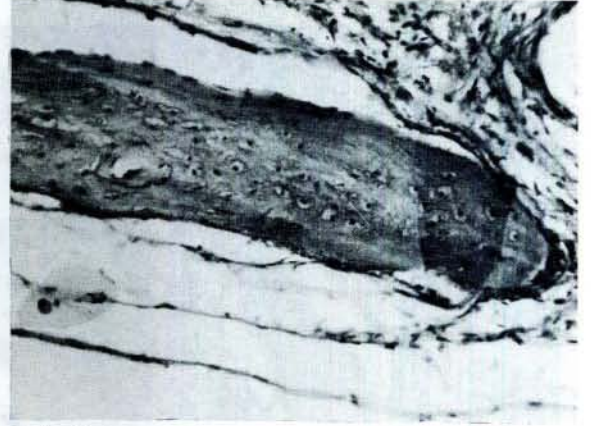
Resim 4

#### Grup 2:

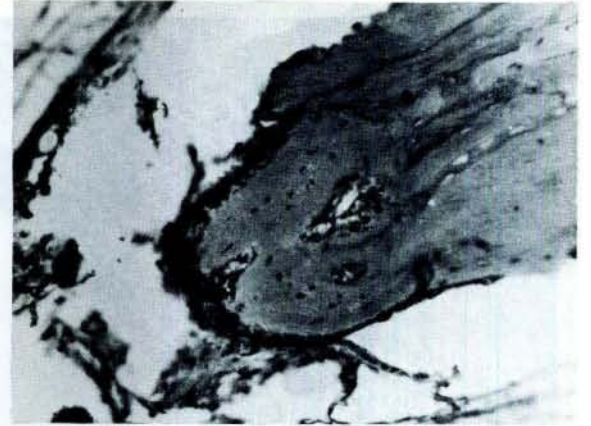
**Hidroksiapatit (PYROST) :** Tüm hayvanlarda defekt alanının hemen tamamını kaplayan ve dekalsifikasyon işleminden sonra kesitlerde geniş boşluklar şeklinde görülen hidroksiapatit cisimciklerinin etrafında yabancı cisim dev hücreleri gözlemlendi. Bunların arasında tüm hayvanlarda defekt alanının yaklaşık 1/4'den azını kaplayan osteogenezis saptandı (Resim-5,6).



Resim 5



Resim 6



Resim 7



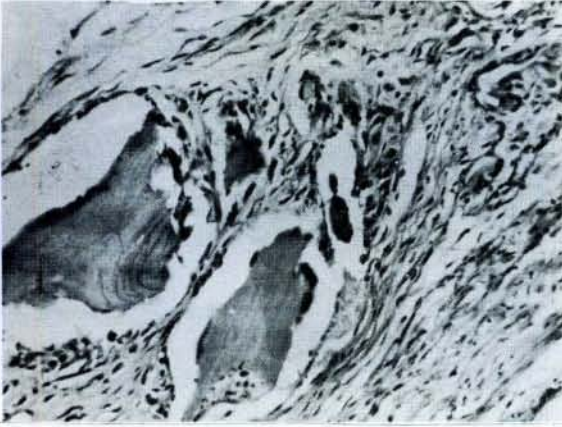
Resim 8

#### Grup 3:

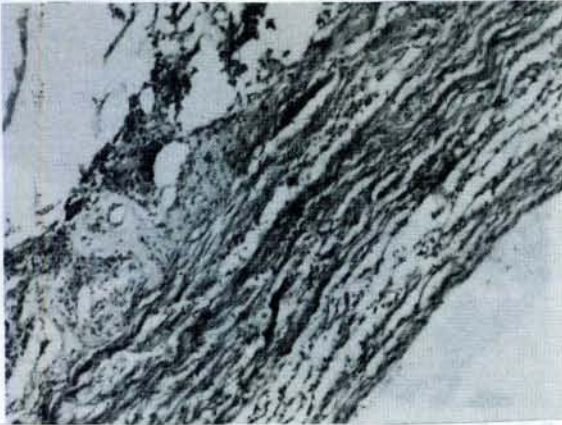
**Otogreft :** Defekt alanlarında transplante edilen otogreft parçalarının yaklaşık yarısının canlı olduğu (Resim-7) diğer yarısını ise nekrotik olup çevrelerinde yabancı cisim dev hücrelerinin bulunduğu gözlemlendi. Nekrotik kemik dokusu daha çok bir kaç mikroabse odağı çevresinde yer almaktaydı (Resim-8).

#### Grup 4:

**Allogreft :** Tüm hayvanlarda defekt alanındaki kalın fibröz doku içinde kaba, düzensiz, nekrotik kemik lamelleri (allogreft parçacıkları) çevrelerinde yabancı cisim dev hücreleri, aktif kronik iltihabi reaksiyon gözlemlendi. Yer yer mikroabse odakları vardı (Resim-9).



Resim 9



Resim 10

#### Grup 5 :

Kontrol grubu : Tüm defekt alanını dolduran komşu periostla yer yer de dura ile devamlılık gösteren, vaskülarizasyonu az fibroz doku görülmüştür (Resim-10). Defekt kenarlarında birkaç nekrotik kemik lameli ve çevrelerinde yabancı cisim dev hücreleri mevcuttur. Yine defekt kenarındaki kemiklerde osteoblastik aktivite belirgindi. Defekt alanı içinde yeni kemik yapımına ait yapısal bulguya rastlanmadı.

#### Tartışma :

İskelet sistemindeki doğuştan ya da edinsel defektlerin giderilmesinde otojen, allojen ve ksenojen greftler sıkça kullanılmaktadır. Otojen greftlerin canlı hücrelerin nakledilmesi ile osteogenezise doğrudan katılabilmesi ve antijenite özelliklerinin olmaması kuşkusuz tüm yöntemlere göre belirgin üstünlük sağlamaktadır(8,9,11,14). Ancak büyük tümör rezeksiyonları, geniş revizyon girişimleri ve omurga ameliyatlarında otolog greftler yeterli olmamakta, buna ameliyat süresinin uzaması ikinci bir girişim gibi dezavantajlar da eklenince alternatif yöntemlerin aranması gerekmektedir. Ksenogreftler uzunca seneler kullanıldıktan sonra uygulanan işlemin yeterli olmadığı ve organik bölümün tam olarak yok edilememesine bağlı olarak ortaya çıkan red reaksiyonlarının osteogenezisi engellediği kabul edilmektedir (8,9,11,17).

Allogreftler bugün halen en çok kullanılan transplantasyon materyelidir.

Uygulanan işlemlerle allogreftlere karşı immun reaksiyon 8-9 gün geciktirilmekte ancak daha sonra greft yıkılmaktadır. Axhausen ve Schweiberer allogreftlerin esas etkinliklerinin bu yıkımla ortaya çıkan osteoklastik indüksiyon ile oluştuğunu söylemektedirler (1,17).

Friedenstein'a göre determine osteoprogenitör hücreler (DOPC) ve indükte edilen osteoprogenitör hücreler (IOPC) olmak üzere 2 farklı osteojenik ana hücre grubu vardır (4,5,8,9). Owen, Friedenstein ve Huggins'in çalışmaları ile bu görüşler deneysel olarak kanıtlanmıştır (4, 5, 7, 9, 12).

DOPC kemik yüzeylerinde ve kemik iliğinde bulunurlar. Kathagen ve Mittelmeier, hidroksiapatitin kemik rejenerasyonundaki etkisini DOPC hücrelerini uyarmasına bağlamaktadır. Çünkü hidroksiapatit ve trikalsiyum fosfat gibi kemiğin inorganik bölümünden türetilen osteoindüktörler ancak rejenerasyon yeteneği yüksek canlı zeminlerde ve kemikle direkt temas olduğu hallerde etkili olmakta ve osteogenezisi indüklemektedirler.(8,9,11) Dekalsifiye kemik ve kemik maddesinin osteoindüksiyondaki aktif maddesi olan BMP'nin ise IOPC hücrelerini uyarma yolu ile rejenerasyon yeteneği düşük ve kemik teması olmayan zeminlerde bile yeni kemik oluşumu sağladığı gösterilmiştir (2,6,7,13,14,16).Trikalsiyumfosfat ve BMP'nin birlikte kullanılması ile bu etki 12 kez artabilmektedir (21). Bu konu ile ilgili literatür incelendiğinde her iki görüşü destekleyen ya da karşı çıkan çeşitli araştırmalar vardır (8,9,21). Genelde araştırmacılar kendi geliştirdikleri yöntemlerin lehinde sonuçlar bildirmektedir. Biz her iki görüşe de tarafsız yaklaşarak sonuçlarını değerlendirdik.

Bu tür deneysel çalışmaları değerlendirirken deney modelinin uygunluğu özellikle önem kazanmaktadır. Sıçan, tavşan ve fareler sonuçların kısa sürede elde edilebilmesi, pratik uygulama kolaylığı ve maliyetin karşılanabilir olması nedeniyle tercih edilmektedir. Hayvan deney sonuçlarının insanlardaki uygulamalar için ne ölçüde değer taşıdığı tartışılabilir. Ancak önceden yapılmış hayvan deneylerinden elde edilen deneyimlerin insandaki otojen,allojen ve ksenojen greft uygulamalarının sonuç ve problemleri hakkında doğru bilgiler vermiş olması bu araştırma sonuçlarına güvenebileceğini göstermiştir (8).Deney modelinde seçilen defektin en iyi rejenerasyon şartlarında dahi spontan olarak kapanmaması gerekmektedir.Tavşan femur kondillerindeki 6mm'lik delik yada sıçanlarda 7mm'lik trepanasyon defektleri en çok kullanılan modellerdir (8, 14, 16, 18).

Deneylerimizde kullandığımız kalvaria defektlerinin 4 haftalık izleme sonunda kemik dokusu ile kapanma göstermediğini ve kenarlardaki osteogenezisin sınırlı kaldığını gözlemledik. Değerlendirme süresi olarak çalışmalarda gerek transplantların gerekse osteogenezisi indükliyen materyallerin 2. haftadan itibaren etkilerinin gözlenebildiği 4. haftada osteogenezisin en iyi şekilde ortaya çıktığı, daha sonraki sürelerde ise remodelasyon ve osteoklastik faaliyetlerin başladığı belirtilmektedir (8, 9, 14). Bu nedenle biz 4 haftalık gözlem süresini optimum süre

olarak seçtik. Transplantasyonda otolog greftlerin en etkin materyal olduğu, nakledildikleri yerde canlılıklarını devam ettirip hücre proliferasyonu ile osteogenezisi sağlayabildikleri konusunda görüş birliği vardır (8, 9, 14, 17).

Bizim otolog greft grubunun sonuçları da buna uyum göstermektedir (Resim-7). Allojenik transplantasyonlarda geçici bir canlılık ve hücre proliferasyonu olsa da bunu takiben grefler yıkılmakta ve osteogenez bu osteoklastik indüksiyonu takiben ortaya çıkmaktadır.

Bu durum immun reaksiyonun şiddetine göre bazen çok yetersiz kalmakta, ayrıca allojenik greflerin son zamanlarda giderek önem-kazanan değişik enfeksiyonları nakil riski de bunların kullanımını giderek kısıtlamaktadır (8, 10, 14). Allojenik transplantasyonların deneysel sonuçları tüm araştırmacılarca olumsuz olarak bildirilmektedir (8, 11, 14). Bizim bu grup sonuçlarımız incelendiğinde tüm hayvanlarda greft alanında mikroabseler şiddetli kronik iltihabi reaksiyon ve yabancı cisim reaksiyonunun tabloya hakim olduğu ve nakledilen greflerin nekroze oldukları gözlenmiştir (Resim-9). Bu durum bizim greflerimizde herhangi bir ön işlem yapılmadan uygulanmaya bağlansa da, sonuçlar diğer araştırmacılarla uyum göstermektedir. Kontrol olarak seçilen boş grup incelendiğinde, tüm defekt alanının bağ dokusu ile dolduğu, kenarlardaki osteogenezisin de defekti dolduracak güçte olmadığı görülmüştür. Bu araştırmada en çok tartışılacak gruplar BMP ve hidroksiapatit gruplarıdır. Mittelmeier ve Katthagen hidroksiapatitle ilgili çalışmalarında ve klinik uygulamalarında sonuçlarını çok olumlu olarak açıklamışlar ve rejenerasyon gücü yüksek, kemikle direkt teması olan zeminlerde hidroksiapatitin yüzeyinden başlayarak etkin yeni kemik oluşumu göstermişlerdir (8,9,11). Araştırmacılar bu etkiyi hidroksiapatitin DOPC' i direkt uyarması ve aktive etmesi ile sağladıklarını bildirmişlerdir. DOPC sadece kemik dokusunda bulunduğundan hidroksiapatit kemik dokusu ile teması olmadığı zeminlerde osteoindüktif etki gösteremeyecektir. Mittelmeier bunu rejenerasyon gücü düşük zeminlerde göstermiş ancak ortama kemik iliği hücreleri ilave ettiğinde bu zeminde de güçlü bir osteogenezis gözlemlenmiştir (8, 11).

Schwarz ise heterotop zemindeki kollagenapatit uygulamalarında kemik indüksiyonu görmediğini ve alkali fosfataz artışı sağlamayan yabancı cisim granülasyon dokusu reaksiyonu gözlemlendiğini bildirmektedir (14,15).

Bizim hidroksiapatit grubunda, hidroksiapatit partikülleri çevresinde yabancı cisim reaksiyonu, yaygın bağ dokusu oluşumu ve oldukça az bir bölümde osteoblastik aktivite artışıyla birlikte yeni kemik oluşumu görülmüştür. Bu tablo bu konuyla ilgili araştırmacıların sonuçlarıyla uyum göstermemektedir. Katthagen histolojik araştırmalarında yabancı cisim reaksiyonu görmediğini vurgularken (8), bizde bu belirgin şekilde gözlemlenmektedir. Bu çelişkiyi araştırdığımızda Katthagen ve Mittelmeier'in deneylerinin tümünün spongiöz kemik dokusu içinde ve

rejenerasyon gücü çok yüksek ortamda olduğunu gördük. Sıçan kalvariasındaki spongiöz doku belkide hidroksiapatitin direk uyarısı için gerekli zemini oluşturamamakta burada gerekli DOPC bulunmaması ve ortam bu materyal için heterotop zemin özelliği kazanmaktadır. Bu da Schwarz'ın gözlemlendiği bulguları yaratmaktadır (14).

Dekalsifiye matris ve bunun ürünü olan BMP'nin gerek rejenerasyon gücü yüksek, gerekse düşük zeminlerde osteoindüksiyonu sağladığı ve bunun da IOPC'lerin uyanması yolu ile olduğu bildirilmektedir (2, 6, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21). Katthagen ve Mittelmeier ise BMP ile yaptıkları araştırmaların sonuçlarını olumsuz olarak açıklamışlar, osteogenezis ve yeni kemik oluşumunun yeterli ve tatminkar olmadığını bildirmişlerdir (8, 9, 11). Araştırmacılar bu sonucu deney modeli olarak seçtikleri tavşanın immun reaksiyon gücünün yüksekliğine bağlamışlar ve henüz yeterli klinik sonucu olmayan bu yöntemin daha ileri araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır (9). Urist ve Tagaki son çalışmalarında BMP'i trikalsiyumfosfat ile birlikte kullandıklarında 12 kez daha fazla oranda yeni kemik oluşumu elde etmişlerdir (21). Bizim BMP grubumuz gözlemlendiğinde en fazla yeni kemik oluşumunun bu grupta ortaya çıktığı ve yabancı cisim reaksiyonunda olmadığı görülmüştür (Resim 2). Bu sonuç konuyla ilgili çalışmaları desteklemektedir.

### Sonuç

1. Ototen grefler en etkin ve osteogenezise doğrudan katılan tek kemik replasman materyelidir.

2. Allogen greflerin osteogenezise doğrudan katılımı yoktur. Osteogenezis etkileri osteoklastik indüksiyonla sağlanmaktadır.

3. Kemikğin inorganik bölümünden türetilen hidroksiapatit ve trikalsiyumfosfatın tek başlarına sadece rejenerasyon gücü yüksek, kemik teması olan ortamlarda etkin oldukları bildirilmektedir. Bu konuda bizim daha geniş ve ileri çalışmalar yapmamız gerekmektedir.

4. BMP ile ilgili çalışmalarımız sıçanlarda literatürle uyumlu sonuç vermiştir. Ancak bu konunun klinik uygulanabilirlik kazanması için daha geniş araştırmalara ve insan uygulamalarındaki sonuçların değerlendirilmesine gerek vardır.

5. Bu morfolojik çalışmalarla biyokimyasal çalışmaların örneğin aktif kemik yapımını gösteren kan alkalin fosfataz enziminin tayininin paralel yapılması daha kıymetli sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

### Kaynaklar:

1. Axhausen, W. : Die knochenregeneration-ein zweiphasiges Geschehen. Zentralbi. Chir. 11(1952) 435.
2. Chalmers, J. , D. H. Gray, J. Rush: Observations of the induction of bone in soft tissues. J. Bone Jt. Surg. B-57 (1975) 36.
3. Cotran R. S. , Kumar V., Robbins S. L. : Pathologic basis of disease: 4th ed. W. B. Saunders co. Philadelphia. (1989) pp. 1315-1384.

4. Friedenstein, A. J. : Determined and inducible osteogenic precursor cells. In: Hard tissue growth repair and remineralization. Ciba foundation symposium Elsevier, Excerpta-Medica, Amsterdam (1973) 169.
5. Friedenstein, A. J. , Petrakova, K. S. Kurolesova, A. J. Frolova, G. P. : Heterotopic transplants of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and haematopoietic tissues. Transplantation 6 (1968) 230
6. Harakas, N. K. : Demineralized bonematrix-induced osteogenesis. Clin Orthop. 188 (1984) 239.
7. Huggins, C. B.: Influence of the urinary tract mucosa on the experimental formation of bone. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 27 (1930)349.
8. Katthagen, B.D. : Knochenregeneration mit knochenersatz materialien. H. Unfallheilkd. 178 (1986) 1.
9. Katthagen, B. D. : Knocheninduktion mit "Bone morphogenetic protein (BMP)". Z. Orthop. 125 (1987)5
10. Kuner, E. H. Keller, H(1986) Knochenbak: Ausstattung, Gewebegewinnung, Kalkkonservierung. Organisation, Sicherheit. Orthopade 15: 16-21.
11. Mittelmeier, H. , B. D. Katthagen, W. Mittelmeier: Knochenregeneration mit aufbereitetem semisynthetischen und nativem Ersatzmaterial (Collapt und Pyrost), H. Unfallheilkd. 179 (1987) 227.
12. Owen, M. : Lineage of osteogenic cells and their relationship to the stromal system. Bone min. Res. 3 (1985)1.
13. Sato K, Urist MR (1985). Induced regeneration of calvaria by bone morphogenetic protein (BMP) in dogs. Clin orthop 197 :301.
14. Schwarz, N. , Schlag, G. : Osteogenese durch demineralisierten allogenen Knochen in Experiment und Klinik. Unfallchirurg (1987) 90: 355-362.
15. Schwarz, N. , H. Redl, G. Schlag, F. Linter, H. P. Dinges, M. Thurnher, A. Schiesser: Experimental osteoinduction in rats collagen-apatite versus osteogenin containing gelatine. Arch. Orthop.Trauma surg.106 (1987) 113.
16. Schwarz, N., Redl. H. , Schiesser, A. , Schlag, G. , Thurnher, M. , lintner, F., Dinges, H. P.: Irradiation-sterilization of ratbone matrix gelation. Acta orthop. Scand. 1988, 59(2) : 165-167.
17. Schweiberer L(1970) experimentelle Untersuchungen von Knochentransplantaten mit unveränderter und mit denaturierter Knochengrunds substanz. Ein beitrag zur kausalen Osteogenese. Hefte Unfallheilkd. 103:1-70.
18. Senn, N (1889) On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. Zit. Nach (9).
19. Tagaki, K. , M. R. Urist: The role of bone marrow in bone morphogenetic protein induced repair of femoral massive diaphyseal defect. Clin. Orthop. 171 (1982) 224.
20. Urist, M. R. : Bone formation by autoinduction. Science 150 (1965) 893
21. Urist, M. R. , A. Lietze, E. Dawson: B-tricalcium phosphate delivery system for bone morphogenetic protein. Clin orthop. 187 (1984) 227.

Yazışma adresi:  
Dr.Harzem Özger  
İst. Tıp Fakültesi Ortopedi  
ve Travmatoloji ABD.  
Çapa-İstanbul