



# Tavşanlarda kallus oluşumunda hyaluronik asit'in (Hyalonect) etkisi

Semih AYANOĞLU<sup>1</sup>, Cem Zeki ESENYEL<sup>1</sup>, Oktay ADANIR<sup>2</sup>,  
Semih DEDEOĞLU<sup>3</sup>, Yunus İMREN<sup>3</sup>, Tuğçe ESEN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İstanbul

<sup>2</sup>Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İstanbul

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Parçalı ve kemik defektli kırık rekonstrüktif ortopedik cerrahi sırasında, kemik fragmanlarının ve greftin stabilizasyonu önemlidir. Bu çalışmada, tavşan tibia metafizlerinde deneysel kemik bozuklukları (boşluk) iyileşme dinamiklerine Hyalonect cerrahi yamanın etkisi incelendi.

**Çalışma planı:** Seksen erkek tavşanın proksimal tibia metafizinin ön bölümünde çapı yaklaşık 5 mm olan bozukluklar (boşluk) oluşturuldu. Tavşanlar rastgele bir biçimde dört gruba ayrıldı: Grup I, kontrol grubu olarak bir kemik bozukluğu (boşluk) oluşturuldu ve kendi kendine iyileşmesi için bırakıldı; grup II, boşluklar Hyalonect ile kapatıldı; grup III, boşluklar allogreft ile dolduruldu ve grup IV, boşluklar allogreft ile doldurulup Hyalonect ile örtüldü.

**Bulgular:** Histolojik olarak, 3 ve 6 haftalarda grup II ve III ya da grup III ve IV arasında anlamlı fark yoktu. Grup II ile IV'te 3. haftada grup I'den anlamlı olarak daha iyi iyileşme vardı ( $p<0.05$ ). Ek olarak, 3 ve 6 haftalarda grup IV'te grup II'yle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha iyi iyileşme vardı. 6. haftada sadece grup IV grup I'e kıyasla daha iyi iyileşme gösterdi ( $p<0.05$ ). Radyolojik olarak, 3 ve 6 haftalarda grup II ve IV'te grup I'e kıyasla daha iyi iyileşme gözlemlendi ( $p<0.05$ ).

**Çıkarımlar:** Bu çalışma Hyalonect ve kemik grefti uygulamasının tek başına ya da bir arada kullanıldığında iyileşme sürecini anlamlı olarak hızlandırdığını gösterdi. Greftleme ile Hyalonect'in bir arada kullanımı tek başına kemik greftlemeyle kıyasla radyolojik olarak daha iyi erken iyileşme sağladı.

**Anahtar sözcükler:** Kemik defekti; kırık; kırık iyileşmesi; hyalonect; hyaluronik asit; psödoartroz.

Ortopedik travmada kemik defektleri ve periost kaybıyla birlikte parçalanmış kırıklar yaygındır. Periost kortikal bölgede altta yatan kemik dokusuna kan ve osteojenik progenitor hücre teminini garantilediğinden kemik rejenerasyonunda kritik derecede önem taşır.<sup>[1]</sup> Bu membranların onarımı için kullanılan geleneksel stratejiler sıklıkla biyolojik doku, protein-bazlı yapıştırıcı

veya sentetik membran kullanımını gerektirir;<sup>[1,2]</sup> ancak, bunlar bu amaca yönelik ideal materyaller değildir. Tip 1 kolajen içeren doğal polimer matriks osteoindüksiyon ve osteogenez için mükemmel bir ortam yaratabilir, ancak mekanik modülüsü düşüktür, bu yüzden içerdeki hücreler için yeterli yapısal destek sağlayamaz.<sup>[3,4]</sup> Korallar gibi doğal olarak üretilen seramikler ise iyi bir biyolojik

**Yazışma adresi:** Dr. Semih Ayanoğlu, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Okmeydanı, İstanbul.

Tel: +90 532 – 322 10 37 e-posta: semihayanoğlu@gmail.com

**Başvuru tarihi:** 01.07.2014 **Kabul tarihi:** 28.09.2014

©2015 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu  
www.aott.org.tr adresinde  
doi: 10.3944/AOTT.2015.14.0231  
Karekod (Quick Response Code)



uyumluluğa, uygun mekanik özelliklere sahiptir, ancak yüksek çözünme oranı klinik uygulamalarda, özellikle kemik greftlerinde yüksek bir yük-taşıma kapasitesi gerektiğinde sınırlı korallin kalsiyum karbonata sahiptir. Sentetik kalsiyum bazlı seramikler de yüksek bir gözeneklilik gerektiğinde genellikle kırılmalıdır.<sup>[5,6]</sup> Cam ve biyoseramikler gibi biyoaktif inorganik materyallerin resorpsiyon oranı implantasyondan sonra yıllarca devam eden kristalin hyaluronik asitle uygun hale getirilebilir.<sup>[6]</sup> Kolajen gibi biyolojik polimerlerde immünojenik reaksiyon riski vardır ve bunlar hastalık bulaşma riski olasılığı taşımaktadır.<sup>[6,7]</sup> Ayrıca kaynak kullanımı ve iyi işlenmemesi ve zayıf mekanik özellikleriyle ilgili endişeler bulunmaktadır.<sup>[6]</sup> Mevcut alaşımların mekanik özellikleri halen kemiğinkini karşılayamamaktadır.<sup>[6]</sup>

Son zamanlarda yapılan çalışmalar hyaluronik asidin (HA) hem yumuşak doku hem de kemik onarımlarında yardımcı olduğunu göstermiştir.<sup>[2-11,12]</sup> HA granülasyon dokusunun gelişmesini geciktirir veya azaltır.<sup>[13]</sup> HA'nın ameliyat yerinde hücre göçü, çoğalması ve ayrışmasını artırması, hücre dışı matriksin organizasyonunu geliştirmesi olasıdır.<sup>[1,2-11,14,15]</sup> Buna ek olarak, subkutanöz implantın etrafında yeni kılcal damarlar oluşmasını teşvik eder.<sup>[13]</sup> Kemik dokusuyla yakın temas kurduğunda, kemik morfogenezine<sup>[16]</sup> ve erken osteogenez olaylarına<sup>[17]</sup> katılarak, birtakım sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkilerini modüle eder.<sup>[18,19]</sup> HA kemiği kalsitonin ve kemik morfojenik proteini gibi osteojenik substratlara benzer şekilde indükler.<sup>[8]</sup> HA ayrıca yarının iyileşmesi açısından önem taşıyan fibrinojen, fibrin, fibronektin ve kollajen gibi proteinlere bağlanır.<sup>[20]</sup>

Son yıllarda ortopedide kullanım amacıyla Hyalonnect® (Fidia Farmaceutici, İtalya) adlı bir ürün geliştirilmiştir. Hyalonnect hücre dışı matriksin bir bileşeni olan hyaluronik asidin doğal oluşumlu benzil esteri HYAFF®'dan meydana gelen örgütlü yapıda bir ağıdır. Hyalonnect periost membranının yerine geçen yeniden emilebilir, dikiş atılabilir, biyo-uyumlu bir ağıdır.<sup>[1]</sup> Sütür kullanarak ameliyat yerine dikilebilir.

Hyaluronik asidin osteojenik ve yeniden şekillenme özelliklerini göz önüne alarak Hyalonnect ile kaplı allogreftin kemik iyileşme hızının artacağı varsayımında bulduk. Buna bağlı olarak, çalışmamızın amacı Hyalonnect kaplı allogreftin kemik iyileşme hızı ile tek başına allogrefti deneysel bir tibial defekt modelinde radyolojik ve histolojik açıdan karşılaştırmaktır.

## Gereç ve yöntem

Çalışmaya 2000–3000 g ağırlığında 8–10 aylık 80 erişkin erkek beyaz Yeni Zelanda tavşanı dahil edildi. Etik Kurul'dan çalışma için izin alındı. Tavşanlara Etik

Kurulu'nun deneysel çalışmalarda kullanılan hayvanlar için zorunlu tuttuğu koşullar uygulandı.

İki tavşanın tibiası çıkarıldı. Kemik grefti kemik bankacılığında kullanılan ikili plastik kaplara konarak –80 °C'de saklandı. Üç hafta sonra kemik grefti çözdürülerek yumuşak doku ve kıvrımdak çıkarıldı. Greft standart bir kemik değirmeninde en ince rende kullanılarak 5 mm'lik bir boşluğa uygulanabilecek parçalara öğütüldü. En kortikal kemik, öğütme işlemi sırasında ayrıldı. Cerrahi sırasında greft allogreft olarak kullanıldı.

Tavşanlar rastgele olarak her biri 20 tavşandan oluşan dört gruba ayrıldı:

Grup I, bir kemik defekti oluşturularak kendi kendine iyileşmeye bırakıldı (kontrol grubu);

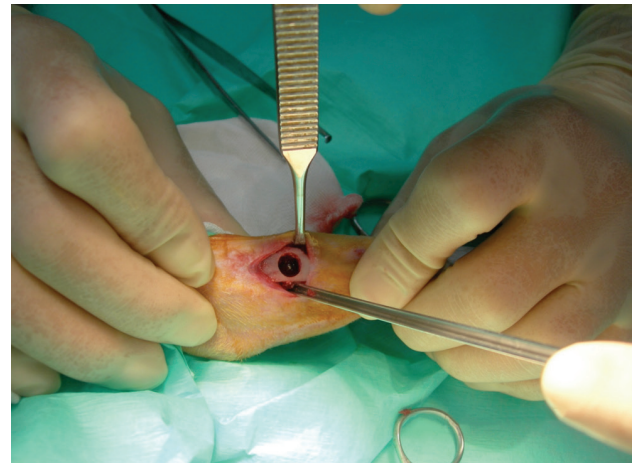
Grup II, boşluklar Hyalonnect ile kapatıldı;

Grup III, boşluklar allogreft ile dolduruldu;

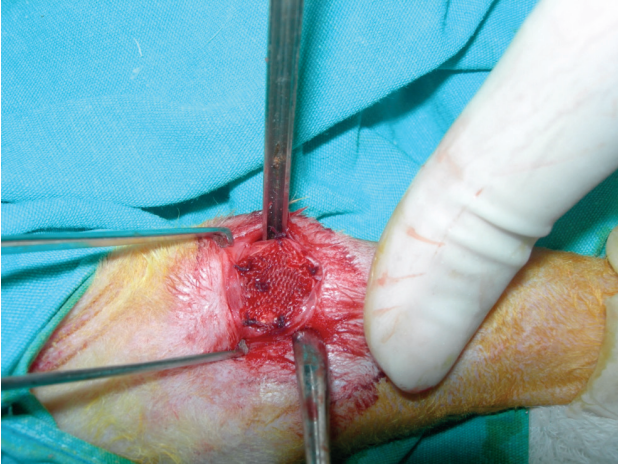
Grup IV, boşluklar allogreft ile doldurulup Hyalonnect ile kapatıldı.

Her gruptan on tavşan üç ve altı hafta sonra feda edildi.

İlk olarak tavşanların her birinin lateral oriküler damarına 22G'lik bir kateter yerleştirildi. Daha sonra 10 mg/kg propofol enjekte ederek anestezi başlatıldı. Cerrahi sırasında gerektiğinde 20 ml/saatte infüzyonla 10 mg/ml propofol çözeltisi verildi. Kemikte deformite oluşturmak için 5 mm çapında bir frez kullanıldı ve frez tüm kortikal kemik boyunca geçirildi. Kaviteyi oluşturmak için dakikada tamamlanan devir sayısı (RPM) düşük bir motor kullanıldı. İşlem sırasında termal kemik nekrozu oluşmaması için tuzlu çözeltiyle irrigasyon yapıldı. Aynı frezle proksimal tibial epifizin ön kısmında 5 mm çapında kaviteler oluşturuldu (Şekil 1). Kaviteler



**Şekil 1.** Tavşanın proksimal tibial metafizinin ön kısmında oluşturulan bir defekt. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]



**Şekil 2.** Uygulama sonrasında Hyalonect. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

parça haldeki allogreftle dolduruldu. Hyalonect kavite büyüklüğüne göre kesilerek 3–0 kalınlığında kaplı Vicryl sütür ile yumuşak dokuya dikildi (Şekil 2). Daha sonra, cilt 2–0 kalınlığındaki ipek sütürlerle kapatıldı. İşlem sonrasında yaraya bir hafta süreyle pansuman yapıldı. Tavşanlarda her gün yara iyileşmesi ve komplikasyon kontrolü yapıldı ve hepsine aynı diyet verildi. Üçüncü ve altıncı haftalarda her gruptan 10 tavşan alınarak yüksek dozda sodyum fenobarbital ile feda edildi ve kemikteki iyileşme radyolojik ve histolojik yönden incelendi.

Kemik segmentleri çıkarılarak 5- $\mu$ m'lik dikey kesitler halinde kesildi, formalinle fikse edildi, asitle dekalsifiye edildi ve parafin muma gömüldü. Kesitler hematoksi-len & eozin (HE) ve van Gieson-Hansen boyalarıyla boyanarak bir ışık mikroskopu altında aynı patolojik ta-

rafından incelendi (Şekil 3). Histopatolojik değerlendirmelerde Emery'nin histopatolojik iyileşme kriterleri kullanıldı (Tablo 1).<sup>[21]</sup>

Yasko ve ark. tarafından geliştirilen puanlama sistemini (Tablo 2) kullanarak defektlerdeki yeni kemik oluşumunu değerlendirmek amacıyla tibianın röntgen filmleri çekildi (Şekil 4).<sup>[22]</sup>

Grup puanları arasındaki farklılıkları tespit etmek için Kruskal–Wallis varyant analizleri kullanıldı. Ardından önemli farklılıkları tespit etmek için Mann–Whitney U-testleri kullanıldı. Her grup içindeki önemli farklılıkların tespitinde ise Wilcoxon sıralama testi kullanıldı. İstatistiksel açıdan anlamlılık seviyesi  $p < 0.05$  olarak alındı. İstatistiksel analizler Windows için SPSS versiyon 10.0.1 kullanılarak yapıldı.

## Bulgular

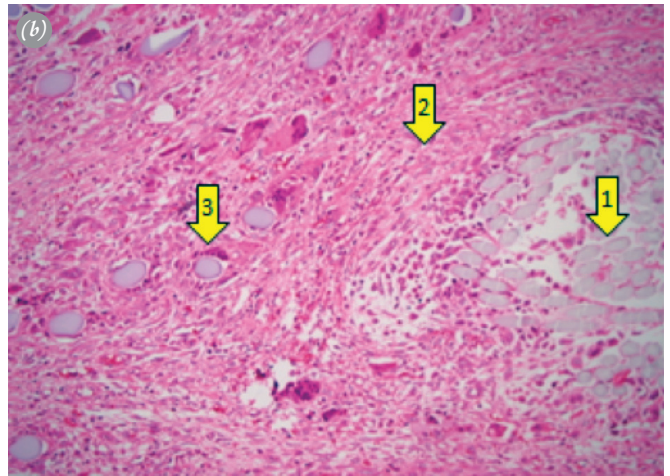
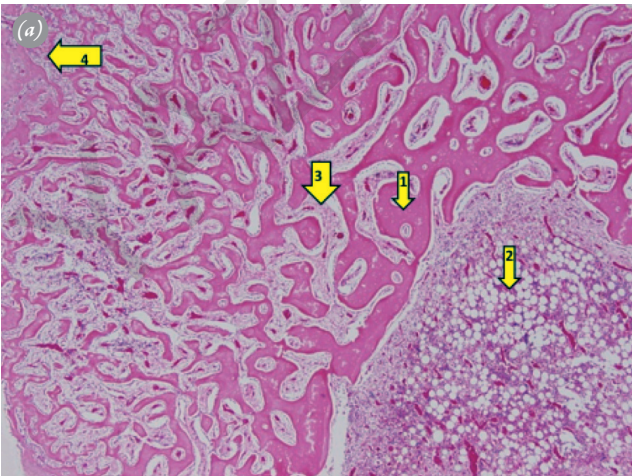
Histopatolojik değerlendirme

Üçüncü haftada:

- Tüm gruplar (grup II, III ve IV) grup I ile karşılaştırıldığında daha iyi iyileşme gösterdi ( $p < 0.05$ ).
- Grup IV grup II'den daha iyi iyileşme gösterdi ( $p < 0.05$ ).
- Grup II ile III arasında ve grup III ile IV arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ )

Altıncı haftada:

- Grup I ile IV arasındaki anlamlı farklılık devam etti ( $p < 0.05$ ).
- Grup IV grup II'den daha iyi iyileşme gösterdi ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 3.** (a) Hematoksi-len-Eozin boyalı örneklerin görüntüleri, ışık mikroskopu altında yabancı maddeleri (Hyalonect), osteoblastik aktivite, yeni kemik oluşumunu göstermektedir. (Skor 6'ydı). (b) Hematoksi-len-Eozin boyalı örneklerin görüntüleri, ışık mikroskopu altında yabancı maddelerin (Hyalonect), yabancı madde reaksiyonu, fibroz ve yeni kemik oluşumunu göstermektedir. (Skor 6'ydı). [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

**Tablo 1.** Emery'nin histolojik iyileşme kriterleri.

Skor (Puanlar)	Bulunan doku
0	Boş kavite
1	Sadece fibroz doku
2	Fibrokartilajdan daha fibroz doku
3	Fibroz dokudan daha fazla fibrokartilaj
4	Sadece fibrokartilaj
5	Kemikten daha çok fibrokartilaj
6	Fibrokartilajdan daha fazla kemik
7	Sadece kemik

**Tablo 2.** Radyolojik iyileşme kriterleri.

Skor	Radyolojik görünüm
0	Kallus yok
1	Yeni kemik defektin <%25 'ini dolduruyor
2	Yeni kemik defektin %25–50 'sini dolduruyor
3	Yeni kemik defektin %50–75'ini dolduruyor
4	Yeni kemik defektin >%75'ini dolduruyor
5	Yeni kemik defektin tümünü dolduran katı bir bitişik kitledir

• Grup I ile II arasında, grup I ile III arasında, grup II ile III arasında ve grup III ile IV arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). (Tablo 3).

#### Radyolojik değerlendirme

##### Üçüncü haftada:

• Grup I ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda daha iyi radyolojik iyileşme görüldü ( $p<0.05$ ).

• Grup II ile III arasında ve grup II ile IV arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

• Grup IV'de radyolojik iyileşme grup III'dekinden daha iyiydi ( $p<0.05$ ).

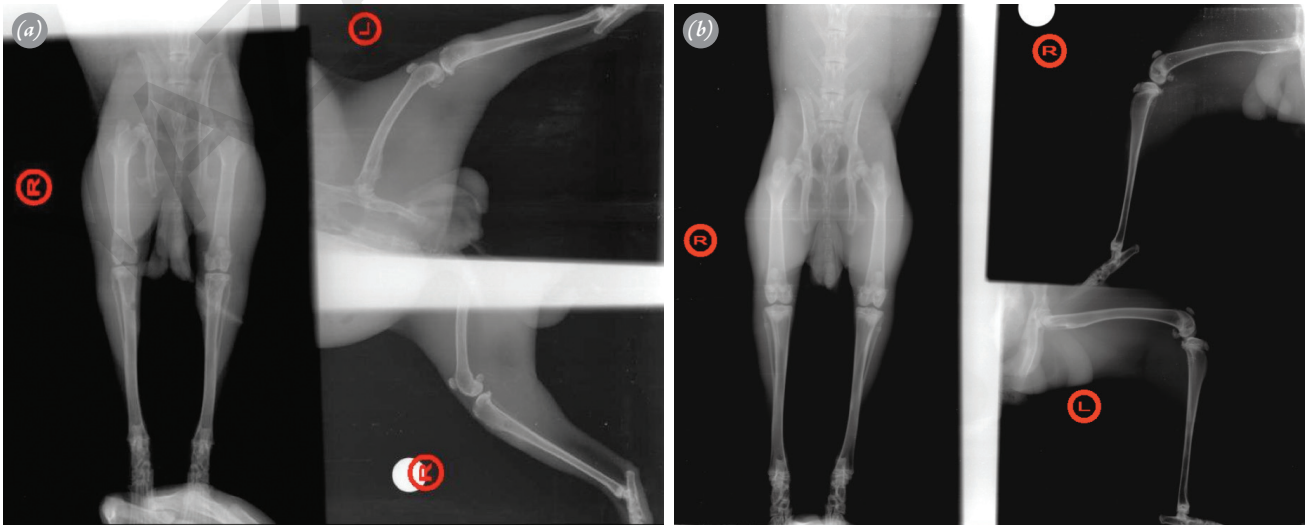
##### Altıncı haftada:

• Grup I ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda daha iyi radyolojik iyileşme görüldü ( $p<0.05$ ).

• Grup II ile III arasında, grup II ile IV arasında ve grup III ile IV arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 4).

## Tartışma

Periostun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü kemiğin daha sonraki rejenerasyonunu belirgin derecede etkilemektedir. Periost kemik yüzeyine sıkıca bağlanan bir membrandır ve osteoblastlar ve progenitör hücreler içeren kan damarları ve fibröz ve elastik dokulardan oluşur. Periost kemikte oluşan orta dereceli travmadan zarar görebilir. Ayrıca kemik kırığı direncine mekanik olarak katkı sağlar ve yaralanma sonrasında kemik rejenerasyonunda kritik önem taşır.<sup>[1,23]</sup> Periost dokularının eksikliği kemik yerine kullanılan aşılınmış materyallerin dağılmasına yol açabilir veya bitişik yumuşak dokuların alttaki kemiğe adhezyonunu kolaylaştırabilir. Sonuç olarak, greftin dayanıklılığı risk altına girer ve bu tür adhezyonların olduğu yerlerde ağrı ortaya çıkabilir. Buna ek olarak, parçalanmış kırıklarda greft veya kemik parçalarını korumak sıklıkla gereklidir.<sup>[1]</sup> Hyalonect periost dokularının rejenerasyonuna katılım sağlayacak şekilde tasarlanmış ve membranın yerine geçen bir materyaldir.<sup>[1,23]</sup> Rhodes ve ark.<sup>[1]</sup> Hyalonect'in periost gibi hasarlı bağ dokularının fonksiyonunu doğal doku onarım sürecini bozmadan geri kazandırabileceğini bildirmiştir. Bizim elde ettiğimiz bulgular Hyalonect ve greftlemenin



**Şekil 4.** (a) Hyalonect kaplı defektin 3. haftadaki radyolojik görünümü. (b) Greft ile doldurulan defektin 6. haftadaki görünümü. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

**Tablo 3.** Histoloji bulgularının istatistiksel karşılaştırması.

Süre (hafta)	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	3	6	3	6	3	6
Grup 2	3	<b>0.0372</b>				
	6		0.6242			
Grup 3	3	<b>0.0160</b>	0.0809			
	6		0.215	0.2330		
Grup 4	3	<b>0.0157</b>	<b>0.0463</b>		0.4386	
	6		<b>0.0180</b>	<b>0.0127</b>		1.000

Gruplar arasındaki farklılıklar p değerleriyle gösterilmektedir.

**Tablo 4.** Radyoloji bulgularının istatistiksel karşılaştırması.

Süre (hafta)	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	3	6	3	6	3	6
Grup 2	3	<b>0.0059</b>				
	6		<b>0.0099</b>			
Grup 3	3	<b>0.010</b>	1.000			
	6		<b>0.0058</b>	0.6008		
Grup 4	3	<b>0.0061</b>	0.1514		<b>0.05</b>	
	6		<b>0.0015</b>	0.0856		0.207

Gruplar arasındaki farklılıklar p değerleriyle gösterilmektedir.

tek başına veya birlikte kullanıldığında iyileşme sürecini anlamlı oranda artırdığını göstermektedir. Hyalonect ve greftlemenin birlikte kullanılması tek başına kemik greftleme ile karşılaştırıldığında daha iyi erken radyografik iyileşme sonuçları sağladı.

Aslan ve ark. bir tavşan tibia defekti modelinde HA ile veya HA olmaksızın otolog kemik greftlemenin etkilerini karşılaştırarak HA'nın etkili olması için kemik-iletken bir yapı iskelesine gerek duyulduğunu bildirmiştir.<sup>[2]</sup> Yaptıkları çalışmada HA'nın eklenmesi tüm zaman aralıklarında daha yüksek kemik oluşumu skorlarına yol açmıştır.<sup>[2]</sup> Tam tersine, Oakes ve ark.<sup>[19]</sup> oluşturdukları bir sıçan femur defekti modelinde radyografik iyileşme, enkondral ossifikasyon belirtisine rastlamamış, sadece tek başına HA uygulanan defektlerde minimum düzeyde periost ossifikasyonu saptamıştır. Maus ve ark. da bir koyun modelinde benzer bulgular bildirmiştir.<sup>[24]</sup> Bizim çalışmamızda, Hyalonect grup II'deki defektlere uygulandı, grup I'dekinden daha iyi iyileşme gösterdi. Ayrıca, greft ve Hyalonect birlikte uygulandığında, kallus oluşu-

mu üçüncü haftada diğer gruplardakinden daha iyiydi.

Bazı araştırmacılar HA uygulamasının HA süngerleri (HYAFF; 11) gibi yapılandırılmış bir iskele olarak veya hidroksiapatit gibi kemik-iletken biyolojik materyallerle birarada kullanıldığında faydalı olduğunu öne sürmüştür.<sup>[25-28]</sup> Tam tersine, kemik yerine geçen materyallerin kemikle bütünleşmesinin gözenek büyüklüğüne bağlı olduğu bildirilmektedir.<sup>[28]</sup> Biz de çalışmamızda HA'yı bir yapı iskelesi olarak uyguladık. Bu yapı iskelesi HA'nın benzil esteri HYAFF'dan oluşmaktadır. HA bir yapı iskelesi olarak uygulama yerinde hızlı hücre kolonizasyonu ve neovaskülarizasyona olanak sağlayabilir.

Farklı araştırmacılar farklı moleküler ağırlıklara sahip çeşitli bileşiklerin osteogenez üzerindeki etkilerini incelemiştir. Yapılan çalışmaların birinde düşük moleküler ağırlıklı HA bir sıçan kemik iliği ablasyon modelinde osteogenezin in vitro ortamda hızlandırırken,<sup>[29]</sup> başka bir çalışmada yüksek moleküler ağırlıklı HA kemik oluşumunu tedavi uygulanmayan kontrollere göre artırmıştır.<sup>[1]</sup> Bu nedenle, HA'nın en uygun moleküler ağırlığı belli

değildir. Bu çalışmada kullanılan Hyalonect membranını hyaluronik asidin D-Glukuronik asit birimlerinden oluşan karboksil gruplarının tam benzil esterifikasyonu HYAFF 11'in liflerinden oluşturulmuştur. HYAFF 11, özellikleri gerek fizikokimyasal gerekse biyolojik açılarından en iyi çıkarılmış olan HYAFF polimerlerinden biridir. 200000 Dalton civarındaki hyaluronik asitten başlıyarak üretilmektedirler.<sup>[30]</sup>

Bu çalışmada 8-10 aylık tavşanlar kullanıldı. Benzer ölçülerde defektler elde etmek için defektler aynı frezle yapıldı. Farklı biyomateryallerle bağlantılı olarak kemik rejenerasyonunu değerlendirmek için özellikle uzatılmış gözlem dönemlerinde iyileşmeyecek standartlaştırılmış tam kalınlıkta bir defekt olan tibial defekt başarılı bir şekilde kullanıldı. Diğer deneysel kemik defektleriyle karşılaştırıldığında, etkili erişilebilirliği ve fiksasyon gerekliliği olmaması sayesinde kemik rejenerasyon materyallerinin çalışılmasında uygun bir modeldir.<sup>[31-34]</sup> Onarım mekanizmalarını çalışmak için yapılan deneysel kemik yaralanması spontan iyileşmenin önüne geçmek için yeterince geniş olmalıdır. Bu nedenle, kritik boyutlu defekt (CSD) denilen, yani özel bir kemikte ve hayvan türünde hayvanın ömrü boyunca spontan bir şekilde iyileşmeyecek en küçük kemik içi yarayı saptamak için çeşitli modellerde kemik dokusunun rejenerasyon sağlamama eşiği araştırılmıştır.<sup>[31,35]</sup>

Klinik uygulamada büyük kemik defektlerinin onarımı genellikle demineralize kemik matriksi gibi osteojenik dolgular, sıklıkla kemik iletimi için kalsiyum sülfat gibi mineral katkı maddeleriyle birlikte sağlanır. Buna ek olarak, kemiğin yerine geçen sentetik greftler kullanılabilir. Defektin kapatılma yöntemi cerrahi onarımın başarısı açısından önemlidir. Buna ek olarak, klinik ve deneysel veriler periostun kemik iyileşmesi ve yeniden şekillenmede önemli bir rol oynadığına işaret etmektedir.<sup>[1]</sup> Rhodes ve ark.<sup>[1]</sup> Hyalonect cerrahi ağıni otolog kortikokansellöz kemik parçaları, demineralize kemik matriksi ve kalsiyum sülfat macun gibi çeşitli kemik grefti materyallerinin göçünü sınırlamak amacıyla köpek humerusunda açılan bir delik modelinde periost yerine yapı iskelesi olarak kullanmıştır. Histolojik çalışmalar ağıni kemik defektlerinden materyallerin dışarı kaçmasını önlediğini ve doku iyileşmesi için sınırlandırılmış bir ortam sağladığını göstermiştir. Bu durum ayrıca ağıni sürekli olarak canlı konak hücrelerle yeniden iskan edildiğini ve defektlerin fibroz doku sızmasını engelleyerek yeni bir fonksiyonel kemik iliği ortamının yeniden oluşturulmasına olanak sağladığını göstermiştir.<sup>[1]</sup> Bu çalışmada Hyalonect ile kaplanan greftlerde dışarıya kaçma gözlenmemiştir.

Bu çalışmanın çeşitli sınırlamaları bulunmakta olup, bunların iyileştirilmesi gerekmektedir: öncelikle dene-

yin zaman aralığı yeterince uzun değildi, Hyalonect'in tavşan tibia modelinde kemik entegrasyonu üzerindeki etkisini daha iyi gözlemleyebilmek için işlem sonrasında ikinci, üçüncü, altıncı, sekizinci, 12. ve 24. haftalardaki bulguları değerlendirmeliydik. İkinci olarak, Hyalonect'i kemik yerine geçen diğer materyallerle karşılaştırmak için başka çalışmalar yapılmalıdır.

Sonuç olarak, Hyalonect periost membranını yapısal olarak zarar gördüğünde veya yetersiz kaldığında doku devamlılığını yeniden oluşturmada uygundur. Elde ettiğimiz bulgular Hyalonect veya greftlemenin iyileşme sürecini önemli oranda hızlandırdığını göstermektedir. Hem Hyalonect hem de greftlemenin birlikte kullanılması tek başına kemik greftleme ile karşılaştırıldığında özellikle kısa dönemde (üç haftada) daha iyi erken radyografik iyileşmeyle sonuçlandı.

**Çıkar örtüşmesi:** Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

## Kaynaklar

1. Rhodes NP, Hunt JA, Longinotti C, Pavesio A. In vivo characterization of Hyalonect, a novel biodegradable surgical mesh. *J Surg Res* 2011;168:31-8.
2. Aslan M, Simsek G, Dayi E. The effect of hyaluronic acid-supplemented bone graft in bone healing: experimental study in rabbits. *J Biomater Appl* 2006;20:209-20.
3. Fröhlich M, Grayson WL, Wan LQ, Marolt D, Drobnic M, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr Stem Cell Res Ther* 2008;3:254-64.
4. Mizuno M, Shindo M, Kobayashi D, Tsuruga E, Amemiya A, Kuboki Y. Osteogenesis by bone marrow stromal cells maintained on type I collagen matrix gels in vivo. *Bone* 1997;20:101-7.
5. Grundel RE, Chapman MW, Yee T, Moore DC. Autogenic bone marrow and porous biphasic calcium phosphate ceramic for segmental bone defects in the canine ulna. *Clin Orthop Relat Res* 1991;266:244-58.
6. Stevens MM. Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials today* 2008;11:18-25.
7. Schwartzmann M. Use of collagen membranes for guided bone regeneration: a review. *Implant Dent* 2000;9:63-6.
8. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A, Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol* 1999;70:370-4.
9. Kennedy CI, Diegelmann RF, Haynes JH, Yager DR. Pro-inflammatory cytokines differentially regulate hyaluronan synthase isoforms in fetal and adult fibroblasts. *J Pediatr Surg* 2000;35:874-9.
10. Nandi A, Estess P, Siegelman MH. Hyaluronan anchoring and regulation on the surface of vascular endothelial cells is mediated through the functionally active form of CD44.

- J Biol Chem 2000;275:14939–48.
11. Watanabe H, Cheung SC, Itano N, Kimata K, Yamada Y. Identification of hyaluronan-binding domains of aggrecan. *J Biol Chem* 1997;272:28057–65.
  12. Pilloni A, Bernard GW. The effect of hyaluronan on mouse intramembranous osteogenesis in vitro. *Cell Tissue Res* 1998;294:323–33.
  13. West DC, Hampson IN, Arnold F, Kumar S. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science* 1985;228:1324–6.
  14. Wight TN, Kinsella MG, Qwarnström EE. The role of proteoglycans in cell adhesion, migration and proliferation. *Curr Opin Cell Biol* 1992;4:793–801.
  15. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med* 1997;242:27–33.
  16. Toole BP. Hyaluronate and hyaluronidase in morphogenesis and differentiation. *Amer Zool* 1973;13:1061–5.
  17. Handley CJ, Lowther DA. Inhibition of proteoglycan biosynthesis by hyaluronic acid in chondrocytes in cell culture. *Biochim Biophys Acta* 1976;444:69–74.
  18. Boyce DE, Thomas A, Hart J, Moore K, Harding K. Hyaluronic acid induces tumour necrosis factor- $\alpha$  production by human macrophages in vitro. *Br J Plast Surg* 1997;50:362–8.
  19. Sasaki T, Watanabe C. Stimulation of osteoinduction in bone wound healing by high-molecular hyaluronic acid. *Bone* 1995;16:9–15.
  20. Stern M, Schmidt B, Dodson TB, Stern R, Kaban LB. Fetal cleft lip repair in rabbits: histology and role of hyaluronic acid. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:263–9.
  21. Emery SE, Brazinski MS, Koka A, Bensusan JS, Stevenson S. The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:540–8.
  22. Yasko AW, Lane JM, Fellingner EJ, Rosen V, Wozney JM, Wang EA. The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rh-BMP-2). A radiographic, histological, and biomechanical study in rats. *J Bone Joint Surg Am* 1992;74:659–70.
  23. Oakes DA, Lee CC, Lieberman JR. An evaluation of human demineralized bone matrices in a rat femoral defect model. *Clin Orthop Relat Res* 2003;413:281–90.
  24. Maus U, Andereya S, Gravius S, Siebert CH, Ohnsorge JA, Niedhart C. Lack of effect on bone healing of injectable BMP-2 augmented hyaluronic acid. *Arch Orthop Trauma Surg* 2008;128:1461–6.
  25. Hunt DR, Jovanovic SA, Wikesjö UM, Wozney JM, Bernard GW. Hyaluronan supports recombinant human bone morphogenetic protein-2 induced bone reconstruction of advanced alveolar ridge defects in dogs. A pilot study. *J Periodontol* 2001;72:651–8.
  26. Kim HD, Valentini RF. Retention and activity of BMP-2 in hyaluronic acid-based scaffolds in vitro. *J Biomed Mater Res* 2002;59:573–84.
  27. Solchaga LA, Dennis JE, Goldberg VM, Caplan AI. Hyaluronic acid-based polymers as cell carriers for tissue-engineered repair of bone and cartilage. *J Orthop Res* 1999;17:205–13.
  28. Gauthier O, Bouler JM, Aguado E, Pilet P, Daculsi G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials* 1998;19:133–9.
  29. Sasaki T, Watanabe C. Stimulation of osteoinduction in bone wound healing by high-molecular hyaluronic acid. *Bone* 1995;16:9–15.
  30. Campoccia D, Doherty P, Radice M, Brun P, Abatangelo G, Williams DF. Semisynthetic resorbable materials from hyaluronan esterification. *Biomaterials* 1998;19:2101–27.
  31. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986;205:299&308.
  32. de Brito Bezerra B, Mendes Brazão MA, de Campos ML, Casati MZ, Sallum EA, Sallum AW. Association of hyaluronic acid with a collagen scaffold may improve bone healing in critical-size bone defects. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:938–42.
  33. Najjar TA, Kahn D. Comparative study of healing and remodeling in various bones. *J Oral Surg* 1977;35:375–9.
  34. Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E. Healing of experimentally created defects: a review. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1995;33:312–8.
  35. Kilborn SH, Trudel G, Uthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2002;41:21–6.