



Kemik bankacılığının dünü ve bugünü

Bone banking in the past and present

Özgür Çetik, Mehmet Türker

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale

Kemik greftleri yüz yıldır kaynamayı kolaylaştırma ve hızlandırma, boşluk doldurma ve destek sağlama gibi nedenlerle kemik ameliyatlarında kullanılmaktadır. Ototogreftler osteokondüktif, osteoindüktif ve osteojenik özellikleri nedeniyle halen en ideal greftlerdir. Fakat alınabilecek miktarın sınırlı olması ve donör saha morbiditesi nedeniyle her durumda kullanılabilirliği mümkün değildir. Yaygın olarak kullanılan allogreftler bu sınırlamaları ortadan kaldırır. İnsanlardan alınan gerçek kemik oldukları için vücutta otogreft gibi biyolojik muamele görürler. Kemik bankacılığı, sıkı kurallar çerçevesinde donör seçimi, greftin elde edilmesi, hazırlanıp saklanması ve nakledilmesi işlemidir. Bu kurallar allogreftlerin dezavantajlarının ve komplikasyonlarının en aza indirilmesini sağlar. Kemik bankaları, uluslararası ticari kurumlar veya hastane bünyesinde kurulmuş lokal enstitüler şeklinde olabilir. Ulusal Kemik Bankamızın kurulması ile günümüzde büyük ölçüde ithal edilen greft gereksiniminde dışa bağımlılığımız azalacaktır.

Anahtar sözcükler: Kemik iliği; kemik allogrefti; kordon kanı bankacılığı; kök hücre.

For more than a century, bone grafts have been used to facilitate and maintain bone union, fill cavities and add structural integrity to bone. Autografts have osteoconductive, osteoinductive and osteogenic properties, which make them the most ideal choice. However, their use is not appropriate in every situation because of limited availability and donor bed morbidity. Allografts, which are widely used, were introduced to overcome these shortcomings. Obtained from humans, they are actually bone and are biologically handled like autografts in the body. Bone banking is the process of donor selection, graft preparation and preservation and transportation under strict guidelines. These guidelines help to minimize disadvantages and complications of allografts. Bone banks can be international trading companies or local institutions based in hospitals. As the current graft demand largely depends on graft importation, the establishment of a National Bone Bank may decrease this dependency.

Key words: Bone marrow; bone allograft; cord blood banking; stem cell.

Ototogreftler osteokondüktif, osteoindüktif ve osteojenik özellikleri bir arada barındırmaları nedeniyle halen en ideal greftlerdir. Ancak sınırlı miktarda elde edilebilmeleri nedeni ile majör defektli cerrahi girişimlerde yetersiz kalmaktadır. Ayrıca donör saha morbiditesi de önemli bir sorundur. Bu iki önemli sorun nedeniyle yüz yıl öncesinde allogreft kullanımı fikri doğmuş ve günümüze kadar birçok aşamalardan geçerek bugünkü halini almıştır.^[1,2]

Allogreftlerin avantajları:

1. Allogreftler otogreft gibi biyolojik bir materyaldir ve vücut tarafından tanınır, ona göre işlem görür.

Kaynama ve şekillenme otogreftte benzer bir davranış gösterir ancak daha uzundur.

2. Allogreftler yeniden şekillendikçe kişinin kendi kemiği haline gelir. İmmün baskılamaya gereksinim göstermez.

3. Teorik olarak tüm şekil ve boyutları vardır veya üretilebilir.

4. Allogreft kullanımı, otogreft elde edilmesi sırasında oluşabilecek %26'ya varan komplikasyonlardan korur. Bu komplikasyonlar majör ve minör komplikasyonlar olarak sınıflanabilir.

Majör komplikasyonlar; enfeksiyon, altı aydan uzun süren ağrı, cerrahi drenaj gerektiren hematoma ve kalıcı duyu kusurudur.

Minör komplikasyonlar ise; yüzeysel enfeksiyonlar, yara sorunları, akıntı, geçici duyu kaybı ve geçici şiddetli ağrıdır.

5. İkincil cerrahi alan ve doku miktarı sınırlaması yoktur.

6. Ameliyat süresi ve hastanede kalış süresi daha kısadır.

Allogreftlerin dezavantajları:

1. İmmünolojik reaksiyon oluşabilir.

2. Potansiyel hastalık taşınması riski (bakteri, virüs ve prion) vardır.

3. Hazırlama ve sterilizasyon aşamalarına bağlı olarak biyolojik yanıtta ve biyomekanik dayanıklılıkta azalma görülebilir.^[2,3]

Tarihte bildirilen ilk kemik transplantasyonu 1859 yılında Ollier tarafından tavşandan insana yapılmıştır.^[4] 1881 yılında McEwen tibia düzeltici osteotomisi sırasında elde ettiği kemik bloğu allogreft olarak kullanmıştır.^[5] Yine MacEwen 1886 yılında ilk olarak ampute ekstremitelerden elde edilen kemiğin transplante edilebileceği fikrini ortaya atmıştır.^[4] Poncet bu fikri 1887 yılında ilk olarak uygulayan kişi olmuştur. Ampute ekstremiteden aldığı falanks kemiğini tibia psödoartrozunun tedavisinde kullanmış ve greftin kemiğe kaydığını görmüştür.^[4]

Kemiğin hayvan veya ampute insan ekstremitesinden alınıp direkt nakli yöntemleri 1912 yılına kadar uygulanmışken, aynı yılda Carrell kemik bankacılığının temeli sayılan ilk işlemi tanımlamış ve uygulamıştır. Carrell canlı hayvanlardan ve taze kadavradan elde ettiği deri, kıkırdak, kemik gibi dokuları Ringer solüsyonu veya plazma içinde soğuk ortamda, gereksinim duyulduğunda kullanılmak üzere, birkaç ay saklamış ve kullanmıştır. Bu işlem sonucunda başarılı sonuçlar sağlanabileceğini bildirmiştir.^[4,6]

1918 yılında Gallie homolog ve heterolog olarak elde ettiği greftleri kaynatarak saklamış bu greftleri spinal füzyon gibi birçok cerrahi girişimde kullanmış ve başarılı sonuçlar bildirmiştir.^[4]

1925 yılında Lexer ise ilk olarak ampute ekstremiteden ve taze kadavradan tüm eklem ve kısmi eklem nakli uygulamış, takiplerinde bazı hastalarda eklemelerde dejeneratif osteoartritlik değişiklikler görüldüğünü, bazı hastalarda da başarılı sonuçlar alındığını bildirmiştir.^[4]

Kullanılan greftin yavaşça canlı kemiğe dönüştüğünü 1938 yılında Orrell ilk olarak göstermiştir. Orrell kimyasal madde ile kurutulmuş greftleri kullanmıştır. Çalışmasında kaynatılarak ve kimyasal olarak kurutulan greftleri incelemiş, bazı greftlerin uygulandığı yerde yavaşça canlı kemiğe dönüştüğünü bazılarının da tamamen absorbe olduğunu görmüştür. Bu durumu ise; konnektif doku ve kollajeni fazla miktarda bulunan greftlerde, konağın bu dokuları absorbe etmekte zorlandığını ve buraların revaskülasyonunun güçlüğü nedeniyle bu kemiklerin uyum sağlamasının daha zor olduğunu, oysa kimyasal işlem ile konnektif dokuları uzaklaştırılan greftlerin daha hızlı uyum sağladığını belirtmiştir.^[4]

1942 yılında Incan^[4] o zamana kadar bildirilen en geniş çalışmayı yayınlamıştır. Incan 52 olguluk çalışmasında 43 olguda kişinin kendi vücudundan veya aile fertlerinden alınan greftin sitratlı kan veya Ringer solüsyonu içerisinde 2-5 derece sıcaklıkta 63 güne kadar saklanabileceğini ve uygulandığında greft iyileşmesinin çok iyi olduğunu bildirmiştir.

İlk resmi kemik bankası 1946 yılında New York'da "Hospital for Special Surgery" kliniği bünyesinde kurulmuştur. İlk kemiklerini ampute ekstremitelerden ve taze kadavralardan elde etmiş ve derin dondurma yöntemini kullanarak muhafaza etmişlerdir.^[4] Daha sonra 1949 da "Royal National Orthopaedic Hospital" bünyesinde kemik bankası kurulmuştur.^[7] İlk kurulduğu yıllarda -10 °C'de dondurarak saklama işlemi uygulanmışlardır.^[7]

Wilson ilk olarak 1947 yılında elde edilen greftlerin mikrobiyolojik olarak incelenmesi fikrini ortaya atmıştır. Wilson osteotomi, artroplasti gibi ameliyatlardan sonra elde edilen kemiklerin -6 ile -12 °C'ler arasında dondurularak saklanabileceğini bu arada greftin kültür incelemesini ve vericinin sifiliz, malarya, hepatit ve diğer akut enfeksiyonlar yönünden incelemesinin yapılması gerektiğini bildirmiştir.^[4]

1949 yılında ilk tam kapasiteli doku bankası "United State Navy Tissue Bank" ismiyle İkinci Dünya Savaşı sırasında çok sayıda doku kaybı ile oluşan yaralanmaların tedavisi amacıyla kuruldu.^[2]

Herbert, 1951 yılında greftin hızlı dondurulmasının öneminden bahsetmiştir. Yavaş dondurma sırasında hücreler içerisinde buz kristalleri oluştuğunu ve bunların hücrelerde hasara neden olduğunu ancak hızlı dondurma işlemi uygulanırsa hücre hasarının oluşmadığını göstermiştir. Özellikle soğutma teknolojisindeki gelişmeye paralel olarak bu tarihten sonra -30 ile -40 °C'lerde dondurarak saklama işlemi yaygınlaşmıştır.^[6] Yine Herbert 1951'de yayınladığı çalışmasında

kemik nakli sırasında kan grubu ve Rhesus (Rh) faktörün önemi olmadığını bildirmiştir.^[6]

Turner ve ark.^[8] 1956 yılında kemik greftlerinin sterilizasyonu için yüksek doz ışınlama yöntemini kullanmışlardır. Elde edilen greft ışınlanarak steril edildikten sonra buzdolabında altı ay süreyle saklanabilmiştir. Bu yöntemle greftin konak üzerindeki oluşturacağı immün yanıt da azaltılmış olmaktadır.^[8]

1960 yılında "Royal National Orthopaedic Hospital" bünyesindeki kemik bankasında ilk olarak yüksek vakum altında kurutarak dondurma işlemi uygulanmış ve aynı zamanda sterilizasyon için 4 megarad ile ışınlama yapılmıştır. Suyu azaltılan greftin daha az hücrel hasara uğradığı bildirilmiştir.^[7]

Urist,^[3] 1965 yılında ilk olarak, sığır kortikal kemiğinden doğal kemik morfojenik proteini (bone morfojenik protein; BMP) elde etmeyi başarmış ve osteojenik proteinlerin endokondral kemik yapımını ve şekillenmesini başlattığını bildirmiştir. Ayrıca kemik oluşumunu başlatan proteinlerin demineralize kemik matriksinde bulunduğunu ve mezenkimal kök hücrelerin osteojenik hücrelere farklılaşmasını ve bu sayede de kemik iyileşmesini sağladığını bildirmiştir.^[3]

Kemik bankacılığı ile allogreftlerin elde edilmesinden hazırlanıp saklanmasına ve hastaya nakline kadar olan tüm aşamaların birtakım kurallar çerçevesinde yapılması sağlanır. Bugün kemik bankacılığı profesyonel anlamda iki şekilde yapılmaktadır. Bunlardan birincisi, büyük cerrahi merkezlerin kendi bünyesinde kurdukları ve kendi gereksinimlerini karşılamaya yönelik ve ticari olarak kar amacı gütmeyen lokal kemik bankalarıdır. Bunlar oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Kemik kaynakları sıklıkla canlı donörlerdir. Daha az olarak da kadavralar kaynak olarak kullanılmaktadır.^[9] Kadavradan daha sıklıkla uzun kemik greftleri ve osteokondral greftler elde edilmektedir.^[10] İkincisi ise; sayıları daha az olan fakat uluslararası düzeyde hizmet veren ticari amaçla kurulmuş kemik bankalarıdır. Lokal kemik bankalarının en önemli kaynağı primer total kalça replasman artroplastisi sonrası elde edilen femur başlarıdır. Bu allogreftlerin elde edilmesi kolay ve maliyeti oldukça düşüktür. En önemli avantajları canlı donörden elde edildiği için hastalık taşıma riski kadavradan elde edilen allogreftlere göre daha azdır. Lokal kemik bankaları donör seçimi ve greft elde edilmesi açısından "American Association of Tissue Bank" (AATB) kriterlerine göre faaliyet gösterirler. Canlı donörden elde edilen greft için özellikle Hepatit C ve HIV için "pencere periyodu" sonrasında (3-6 ay) tekrardan donörün serolojisi incelenir ve adı geçen hastalıklar

ile ilgili negatif sonuç elde edilirse kullanıma sunulur. Lokal kemik bankaları tarafından elde edilen greftler öncelikle steril ortamda yumuşak dokusundan arındırılır, kültür alınıp antibiyotikli solüsyonda bekletildikten sonra steril olarak kavanozlara konular ve -86 °C'de dondurularak (deep freezing) saklanır. Bu allogreftlerin en önemli dezavantajı; kemik iliği ve kan hücreleri tam olarak temizlenmediği için immünojenik reaksiyon daha fazla görülür. Ayrıca her zaman istenilen ölçülerde greft temini mümkün olmaz.^[9] Dünyada bu tipte faaliyet gösteren kemik bankaları oldukça fazladır. Ülkemizde de lokal kemik bankası faaliyetleri sürdürülmektedir.^[11,12]

Bugün artık tüm dünyada ticari anlamda kemik bankacılığı AATB tarafından 1984 yılında ilk olarak yayınlanan ve 1992'de güncellenen kriterler doğrultusunda yapılmaktadır. Bunun yanında "European Association of Musculoskeletal Transplantation (EAMT)" ve "The Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banks (APASTB)" doku bankalarının da kriterleri uygulanmaktadır. Ancak bu doku bankalarının kriterlerinin temelinde de AATB'nin kriterleri yatmaktadır.^[1,2,10,13,14] Ticari faaliyet gösteren uluslararası doku bankalarının da kemik kaynağı canlı donörler ve kadavralardır. Canlı kaynak genellikle primer total kalça artroplastisi ameliyatı olan hastalardır. Ancak bu kemik bankalarının en önemli kaynağı kadavralardır.^[15]

American Association of Tissue Bank'ın donör doku başlığı kriterleri şu anda dünyada en fazla kabul gören kriterlerdir. Bu kriterler basamaklara ayrılmıştır.^[16]

1. Donör kaynağının belirlenmesi ve donör seçimi
2. Gerekli yasal izinlerin alınması
3. Greftin elde edilmesi aşaması
4. Donör uygunluğunun test edilmesi
5. Elde edilen dokunun greft olarak hazırlanması ve depolanması
6. Greftin uygunluğunun kontrolü ve son kullanıcıya ulaştırılması

Kadavra donör kaynağı sıklıkla hastaneler ve cenaze evleridir. Kadavra donör için en yakın yasal akrabasından izin almak gerekmektedir. Yine yakınlarından ayrıntılı bir öz geçmiş alınır ve sonra ölüm nedeninin aydınlatılması için otopsi uygulanır. Ölüm sonrası bulgular ve klinik öyküye göre bağımsız patologlar tarafından donörün uygunluğu onaylanır. Dokular başlığı esasına göre mevcut tüm yasa ve etik kurallar izlenerek alınır. Canlı donörden kişinin başlığı şeklinde elde edilen femur başları, kadavradan ise en yakın yasal akrabasının onayı ile elde edilir.^[15]

AMERICAN ASSOCIATION OF TISSUE BANK'IN DONÖR TARAMA KRİTERLERİ

1. Öykü, fizik inceleme, laboratuvar testleri veya otopsi sonucuna göre vücudunda enfeksiyon bulgusu olanlar.

2. Malignensi öyküsü olanlar.

3. Viral hepatit, sifiliz, yavaş virüs enfeksiyonu ve HIV (Human immunodeficiency virus) enfeksiyonu bulgusu olanlar.

4. Otoimmün hastalığı olanlar.

5. Dokularında yüksek oranda toksik madde olanlar.

6. Etiyolojisi belli olmayan hastalığı olanlar.

7. Hipofiz kökenli insan büyüme hormonu (human growth hormon) kullanmış olanlar.

8. Dejeneratif nörolojik hastalığı olanlar (Demans, Alzheimer, Parkinson gibi).

9. HIV enfeksiyonu için yüksek risk grubunda olanlar (homoseksüellik, uyuşturucu bağımlılığı olanlar veya risk grubu ile cinsel ilişkide olanlar).

10. Metabolik kemik hastalığı olanlar.

11. Multipl skleroz.

12. Creutzfeldt-Jakop hastalığı ve Gerstmann-Straussler-Scheinker sendromu olanlar.

13. Pıhtılaşma faktörü kullanan hemofili hastaları donör olamazlar.

DOKULARIN ALINMASI

Greftler, kadavra oda ısısında saklandıysa 12 saat, soğutulmuş ise 24 saat içinde alınmaktadır. Tüm dokular aseptik ortam ve şartlarda alınır, bu aseptik odaya İngilizce terminolojide "clean room" (temiz oda) denilmektedir. "International Organization for Standardization" (ISO) tarafından uluslararası ISO 14644 numaralı standart getirilerek temiz oda kavramını standardize etmiştir. Allogreftlerin elde edildiği standart "ISO class 6"dir. Bu odalar standart bir ameliyathane odasından havadaki içerdiği partikül bakımından 10 kat daha temizdir.^[17] Buna rağmen greftin donörden alınması sırasında kontaminasyon olabilmektedir. Bu nedenle tüm dokulardan kültür (aerob, anaerob ve mantar) alınır.^[17] Alınan bu greftler çapraz enfeksiyon geçişini engellemek için havuz yapılmaz.

DONÖRLERE UYGULANAN MİKROBİYOLOJİK VE SEROLOJİK TESTLER^[17]

a) *Bakteriyel test:* Bakteriyel kontaminasyonun varlığının aranması.

b) *Mantar testi:* Mantar kontaminasyonun varlığının aranması.

c) *HIV-1/2Ab test:* HIV-1, HIV-2 antikorunun aranması.

d) *HIV/HCV NAT:* HIV ve Hepatit C virus nükleik asit varlığının aranması.

e) *HTLV-1/2AB test:* İnsan T lenfotropik virüs 1 ve 2 antikorunun aranması.

f) *HbsAg test:* Hepatit B yüzey antijeninin aranması.

g) *HbcAb test:* Hepatit B core antikorunun aranması.

h) *HCVAb test:* Hepatit C antikorunun aranması.

i) *RPR/STS:* Sifiliz antikorunun aranması.

j) *CMV:* Sitomegalo virüs antikorunun aranması.

k) AB-0 kan grubu.

l) Revers transkriptaz testi.

m) Pirojen araştırılması ve

n) Kan kültürü.

Tüm dokuların AB-0 kan grubu bakılmasının nedeni; kan grubu, nakledilecek kemik dokusu seçimi için bir kriter olarak kabul edilmemektedir ancak doğurganlık çağındaki Rh(-) anneleri sensitize etmemek için, çok büyük greftler kullanılması gerektiğinde Rh(-) kan grubundan greft kullanmak uygun olacaktır.

Donörlerin tüm tıbbi öyküleri ve serolojik test sonuçları geriye dönük araştırma yapılabilmesine imkan sağlamak üzere protokol numarası verilerek arşivlenir. Bu protokol numarası ile greftin implantasyon anına kadar olan tüm geçmişinin her aşaması izlenebilir.^[15]

DOKULARIN İŞLENMESİ

Dokular gereksinime göre farklı işlemlerden geçirilerek paketlenir.

1. Dondurulup-kurutulmuş (Freeze dried-liyofilize)

2. Taze dondurulmuş (Fresh frozen)

3. Dondurulmuş (Frozen)

4. Taze osteokondral greftler

5. Demineralize bone matrisi

1. Dondurulup-kurutulmuş, liyofilize (Freeze Dried) allogreftler

Günümüzde ticari kemik bankaları tarafından en sık kullanılan yöntemdir. Eksi 80 °C'de dondurulmuş dokular vakum altında yavaş yavaş ısıtılarak içindeki sıvının buharlaşması ve nem oranının %5'in

altına düşmesi sağlanır. Proksimal femur gibi büyük kemik blokları bu yöntem ile tam olarak kurutulamaz ve donmuş ürün olarak saklanır. Kadavradan alınan greftler için HIV1/2, hepatit B ve C taşıma riskini en aza indirmek için serolojik testlerde polimeraz zincir reaksiyonu (polimerase chain reaction; PCR) kullanılır. Hazırlanan kurutulmuş dokular vakumlu ambalaj içerisinde oda sıcaklığında beş yıl saklanabilir. Bu allogreftleri kullanmadan önce 30 dakika serum fizyolojikte tutmak gerekmektedir.

Bu allogreftlerin hazırlanma aşamaları:

1. *Yumuşak dokularından arındırma*

2. *İlk parçalama işlemi (5 mm çaplı)*

3. *Başlangıç temizliği ve dekontaminasyon işlemi;* salin, aseton, etanol veya hidrojen peroksit ile işlenerek mikrobiyolojik temizlik sağlanırken aynı zamanda antijenik özelliğide azaltılır.

4. *Mikrobiyolojik tedavi;* üçüncü aşamadan sonra kalabilecek mikroorganizmaları da eradike etmek için antibiyotikli-antiviral ve antifungal içeren solüsyonlarda tutulur.

5. *Dondurma;* -80 °C'de dondurulur.

6. *Dehidratasyon;* solvent ile muamele edilerek ısıtılır, içerisindeki nem oranı %5'in altına düşürülür. Bu işlem ek olarak antijenik özelliğini azaltır.

7. *İkinci parçalama işlemi;* 250-750 mikron çapında parçalara ayrılır.

8. *Paketleme;* steril olarak vakumlu paketlenir.

9. *Terminal sterilizasyon;* doku biyomekaniğini zayıflatmayacak şekilde düşük doz (1.5 Mrad) gama ışını ile sterilizasyon uygulanır.

Dondurulup kurutulmuş greftler kortikal, kansellöz ve kortikokansellöz kemik şeklinde hazırlanabilir.

Kortikal kemik: Kortikal kemik ilerleyen yer değiştirme (creeping substitution) olarak tanımlanan osteonal tamir ile iyileşir. Bu süreçte eski kemik, kesici koniler oluşturarak bölgeye gelen osteoklastlar tarafından ortadan kaldırılır ve ardından osteoblastlar tamir için gelir. Yer değiştirme işlemi büyük parça kortikal allogreftlerde yalnızca allogreftin bir kısmı ile sınırlı kalırken geri kalanı allogreft olarak kalır. Yani femur üst uç gibi büyük blok allogreftlerde yer değiştirme tam olarak gerçekleşmez. Kortikal kemikler, biyomekanik olarak desteğe gereksinim olan veya iskelet bütünlüğünün sağlanması gereken yerlerde kullanılır. Kortikal kemik, kemik iyileşmesine yardımcı olan proteinler açısından zengindir, bu nedenle kemik iyileşmesini hızlandırmak için de kullanılır.

Kansellöz kemik: Kansellöz kemiğin inkorporasyonu vasküler invazyon ve mezenkim hücrelerinin bölgeye gelmesi ile başlar. Greft trabekülleri yeni kemik ile kaplanır ve greftin nekrotik trabekülleri zamanla rezorbe olur. Bunu trabeküllerin yeniden şekillenerek ve yönlenecek olgun bir hal alması izler. Kansellöz kemik genellikle tam yeniden şekillenmenin arzulanmadığı, BMP ve biyomekanik desteğin gerekli olmadığı durumlarda kullanılır.

Kortiko-kansellöz kemik: Yüzde elli kortikal, %50 kansellöz kemik içerir. İyileşme süreci boyunca biyomekanik stabiliteyi sağlar, her iki kemiğin farklı iyileşme süreçlerinden faydalanarak erken ve tam iyileşme sağlar. Liyofilize olarak oda ısısında saklanır. Kemik morfojenik proteini açısından zengin olup osteoindüksiyonu artırıcı etkisi vardır. Bu nedenle vertebra füzyon ameliyatlarında, asetabulum revizyonlarında ve ekleme yakın kistlerin doldurulmasında kullanılır.

2. Taze Dondurulmuş (Fresh frozen) allogreftler

Ekleme kırıkdağı içeren osteoartiküler dokular donörden alındıktan hemen sonra işlenir ve kırıkdağı korumak amacı ile DMSO (cryoprotectant) eklenerek kontrollü olarak dondurulur. Eksi 80 °C'de beş yıl saklanabilir.

3. Dondurulmuş (Frozen) allogreftler

Dokular temizlenip uygun şekilde kesildikten sonra vakumlu paketlerde -80 °C'de beş yıl saklanabilir. Femur üst uç gibi büyük kemik blokları bu yöntemle saklanır. Günümüzde en sık, dondurulmuş greftler kullanılmaktadır. Özellikle lokal kemik bankaları bu yöntemi daha fazla kullanmaktadır. Primer kalça artroplastisi ameliyatı sonrası elde edilen femur başları steril ortamda önce yumuşak dokusundan arındırılır, ardından kültür alınıp steril olarak birkaç kat plastik torbaya konulur. Paketlenen kemikler bekletilmeden -80 derecede hızla dondurulur. Serolojik testlerin tamamı yapılır, ancak özellikle HIV enfeksiyonunun "pencere periyodunu" ekarte edebilmek için, alınan greft, en az 180 gün süre ile karantinaya alınır ve bu süre içerisinde kullanılmaz, süre sonunda HIV testleri tekrar edildikten sonra kullanılabilir.^[1,15] Literatürde pencere periyodu hepatit B için ortalama 59 gün, hepatit C için 82 gün ve HIV için 22 gün olarak bildirilmiştir. Ancak PCR yöntemi uygulandığında HIV için bu sürenin 11 güne kadar azaldığı bildirilmiştir.^[13]

4. Taze osteokondral greftler

Kadavradan elde edilir. Eklemler *enblok* olarak steril çıkarıldıktan sonra steril Hartman solüsyonu içerisinde antibiyotik eklenerek 12-24 saat içerisinde

yer değiştirmek üzere saklanır. Uzun süre saklanması gerekirse -86°C 'de dondurularak saklanır.^[2]

5. Demineralize kemik matriks (DBM)

Kortikal kemik öğütüldükten sonra değişik aşamalardan geçirilerek minerallerinden arındırılır. Mineral içeriği %1'in altındadır. Çözünebilir haptent glikopeptidler ve antijenik hücre zarları yok edilir. Bu işlem ağırlıklı olarak tüm kemik proteinlerinin yalnızca %0.1'ini oluşturan BMP'yi açığa çıkarır. Açığa çıkan bu proteinler kemik ve kırıkta yapıyı uyarır. Demineralize kemik matriks kemik demineralizasyonu ile elde edilebildiği gibi rekombinant DNA teknolojisi ile de elde edilebilir.^[18]

Bu demineralize materyal otogreft veya allogreft kullanılan her bölgede kullanılabilir. İmmün yanıt yokluğu, hazır proteinlerin varlığı iyileşme sürecini çok hızlandırır. Osteoindüksiyon ve hızlı kaynamanın gerekli olduğu her yerde kullanılır. Kortikal ve kanselöz greft ile karıştırılabilir. Kemik morfojenik proteinler süpergen ailesinden TGF- β (transforming growth faktör-beta)'nın üyesidir. Rekombinant DNA yöntemi ile üretilen iki adet BMP (BMP-7 ve BMP-2) molekülü tanımlanmıştır.^[19]

Demineralize kemik matriks osteoindüktif özelliği ve maliyetinin allogreftlere göre daha ucuz olması nedeniyle kemik greftlerine iyi bir alternatif olabilir.^[18] Demineralize kemik matriks iyileşmeyi osteoindüktif ve osteokondüktif mekanizmayı harekete geçirecek sağlar. Oysa mineralize kemik allogreftler sadece osteokondüktif mekanizma ile iyileşmeyi sağlar.^[20]

İdeal allogreftin özellikleri şunlardır: Gelen yüklerle karşı koyabilecek dayanıklılıkta, uygulandığı kemik ile birleşebilme, yeniden şekillenebilme, biyoyumluluk, demineralize olduğunda osteoindüktif olması ve hastalık taşıma açısından yüksek güvenilirlik.^[20] Yeni teknolojik gelişmeler ile BMP'ler, doku mühendisliği, hücre tedavisi ve gen tedavisi gibi kavramların gelecekte allogreft kavramının yerini alması muhtemeldir.^[20]

HIV TAŞINMASI RİSKİ

Dondurma ve liyofilizasyon HIV riskini azaltır ancak yok etmez.^[17,21] American Association of Tissue Bank ve Dünya Sağlık Örgütü allogreft ile HIV taşınmasını önlemek için şu kriterleri tavsiye etmiştir: (i) Kemik allogreft donörleri için HIV yönünden risklerin değerlendirilmesi, (ii) donörün sağlık kayıtları, (iii) HIV testi ve canlı donörlerin izlenmesi. Tüm canlı donör kemikleri için dokunun elde edilmesinden en az 90 gün sonra HIV testleri tekrar edilmelidir. Bu ikinci testi de negatif çıkarsa transplantasyona müsaade

edilmelidir.^[22] Literatürde altı ay ile iki yıl arasında pencere dönemi olabileceği, bu dönemde seronegatiflik olabileceği, ancak bunun HIV enfeksiyonu olmadığı anlamına gelmeyeceği bildirilmektedir. Bu nedenle donör eğer canlı donör ise serolojik testlerin tekrarı, hatta PCR incelemesi önerilirken, kadavra donör için ise seronegatif çıkan donörler için allogreft işleme teknikleri ile HIV inaktive edilmeye çalışılmaktadır.^[23] Eliza test kitlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü %93-99'dur. Virüsün vücuda girişi ile enfeksiyonun ve antikorların belirgin düzeyde gelişimi arasında belirsiz, ancak uzun bir süreç vardır. Bu süreç genelde 3-6 ay arasında değişir, ancak 1-2 yıla kadar uzadığını bildiren yayınlar da vardır.^[24] Teorik olarak allogreftleri dondurma, dondurup kurutma gibi işlemlerin hiçbirinde HIV geçişi tam olarak önlenemez, HIV enfeksiyonunu tam olarak ekarte etmek için 2.5 Mrad üzerinde ışınlama yapılması gerektiği bildirilmiştir.^[25]

Allogreftler ile HIV enfeksiyonu taşınması riski günümüzde teorik olarak 1.67 milyonda bir'dir.^[17]

Allogreftlerin alınması veya transplantasyonu sırasında kontaminasyona açık olduğu, bu nedenle her türlü sterilizasyon tedbirine rağmen transplante edildikten sonra değişen sürelerde (ort. 2 hafta) antibiyotik profilaksisi önerilmektedir.^[14]

Kemik allogreftlerin uzun süreli saklanmasında dondurma ve dondurarak kurutma sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Dondurma kompresyon, torsiyon ve bükülme yönünden test edildiğinde biyomekanik özellikler değişmektedir. Dondurup kurutma işleminde ise kompresyon kuvvetinde ufak düşmeler olurken torsiyonel ve bükülme kuvvetlerine karşı dayanıklılığı %50-60 oranında azalır.^[24,26]

İşinlama sekonder sterilizasyon için sık kullanılan bir yöntemdir. Üç megaradlık bir ışınlama, torsiyonel güçlere karşı dayanıklılıkta %10-50 oranında kayba yol açar. Dondurulup kurutulmuş greftler ışınladığında torsiyon ve bükülme kuvvetlerine dayanma %30-70 oranında kayba uğrar.^[20,24] Derin dondurulmuş ve dondurulup kurutulmuş greftlerin sterilizasyonu ve özellikle HCV virüs inaktivasyonu için 25 kGy ile ışınlama uygulanmaktadır.^[2,14] Işınlamanın, sterilizasyonu sağlarken, biyomekanik yapıyı da zayıflattığı, bildirilmektedir. Özellikle biyomekanik dayanıklılık gerektiren masif kortikal allogreftler için bu durum önemlidir.

Ülkemizde halen, insandan doku alınması, saklanması ve nakli 1979 yılında çıkarılan ve 1982 yılında ekler yapılan 2238 numaralı kanun kapsamında yapılmaktadır. Bu kanunun tarihi bile ülkemizde kemik bankacılığı konusunda ne kadar geri olduğumuzu ortaya koymaya yetmektedir. Ülkemizde yüksek kapasitede çalışan birçok hastane bulunmasına karşın

kemik bankacılığı konusunda pek fazla faaliyet bulunmamaktadır. Bunun en önemli nedenleri:

1. Organ bağıışı konusunda halk olarak henüz yeterli bilinç düzeyine ulaşmamış olmamız.

2. Kemik grefti alınması, hazırlanması ve kullanılması ile ilgili yasal bir düzenlemenin henüz ülkemiz için tanımlanmamış olması.

3. Canlı donörden alınan greftin laboratuvar inceleme maliyetinin karşılanması ile ilgili olarak Sosyal Güvenlik Kurumu'nun herhangi bir protokolünün bulunmaması.

Ülkemizde bu incelemelerin maliyeti geçmişte donörün Sosyal Güvenlik Kurumu'na fatura edilmekte idi, ancak bu yöntemin etik olmaması nedeni ile günümüzde ülkemizde kemik bankacılığı faaliyetleri ciddi derecede az yapılmaktadır ve bu konu ile ilgili olarak ulusal literatürde yayınlanmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.^[11,12]

Ülkemizde her yıl yüksek oranda primer total kalça artroplastisi ameliyatı başarı ile uygulanmaktadır. Bu ameliyatlarda sırasında çıkarılan femur başlarının tamamına yakını atılmaktadır. Buna karşın her yıl yurt dışı kaynaklı allogreftlere yüklü miktarlarda paralar ödenmektedir. Profesyonel anlamda kemik bankası kurulması başlangıçta maliyeti yüksek bir işlem gibi görülsede, 30 cc'lik bir allogreftte binlerce lira ödediğimiz düşünülürde yapılacak yatırımın kısa sürede geri döneceği ve yeni yatırımlara kaynak hazırlayacağı görülecektir. Bu konuda en önemli görev Sağlık Bakanlığımıza ve üniversitelerimize düşmektedir. İlk olarak allogreft temini ve kemik bankacılığına ilişkin kanuni alt yapının hazırlanması ve mali desteğin sağlanması gerekmektedir. Sağlık Bakanlığı bünyesinde ulusal kemik bankası kurulması ve bu kemik bankasının desteği ile büyük cerrahi merkezlerde lokal kemik bankalarının yaygınlaştırılması, ülkemizin bu konuda dışa bağımlılığını azaltacak ve milli servetimiz ülke içerisinde kalacaktır.

KAYNAKLAR

1. Michaud RJ, Drabu KJ. Bone allograft banking in the United Kingdom. *J Bone Joint Surg [Br]* 1994;76:350-1.
2. Li D, Bi L, Meng GL, Liu M, Jin J, Liu Y, et al. Multi-variety bone bank in China. *Cell Tissue Bank* 2009;19. [Epub ahead of print]
3. Urist MR. Bone formation by autoinduction. *Science* 1965; 150:893-99.
4. Inclan A. The use of preserved bone grafts in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg* 1942;24:81-96.
5. Friedlaender GE. Biological and immunological aspects of allogenic bone transplantation. *Acta Universitatis Tamperensis* 1991;40:169-175.
6. Herbert JJ. Homografts and the bone bank. *J Bone Joint Surg [Br]* 1951;33-B:316-22.
7. Manning CW. A bone bank. *Proc R Soc Med* 1960;53:935-8.
8. Turner TC, Bassett CAL, Pate JW, Sawyer PN, Trump JG, Wright K. Sterilization of preserved bone grafts by high-voltage cathode irradiation. *J Bone Joint Surg* 1956;38:862-84.
9. Meermans G, Roos J, Hofkens L, Cheyens P. Bone banking in a community hospital. *Acta Orthop Belg* 2007;73:754-9.
10. Ivory JP, Thomas IH. Audit of a bone bank. *J Bone Joint Surg [Br]* 1993;75:355-7.
11. Tomak Y, Dabak N, Kökçü C, Gülman B, Karaismailoğlu N, Andaç A. Allogreft kullanımı ve kemik bankası üzerine deneyimlerimiz. *Acta Orthop Trumatol Turc* 2000; 34:139-46.
12. Aykurt M. Kemik bankası kurulması tıbbi prensipleri ve yasal yönleri. *J Kartal TR* 1990;1:19-30.
13. Kalter ES, de By TM. Tissue banking programmes in Europe. *Br Med Bull* 1997;53:798-816.
14. Nather A. Musculoskeletal tissue banking in Singapore: 15 years of experience (1988-2003). *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2004;12:184-90.
15. Khan MT, Stockley I, Ibbotson C. Allograft bone transplantation: a Sheffield experience. *Ann R Coll Surg Engl* 1998;80:150-3.
16. Palmer SH, Gibbons CL, Athanasou NA. The pathology of bone allograft. *J Bone Joint Surg [Br]* 1999;81:333-5.
17. Holtzclaw D, Toscano N, Eisenlohr L, Callan D. The safety of bone allografts used in dentistry: a review. *J Am Dent Assoc* 2008;139:1192-9.
18. Martin GJ Jr, Boden SD, Titus L, Scarborough NL. New formulations of demineralized bone matrix as a more effective graft alternative in experimental posterolateral lumbar spine arthrodesis. *Spine (Phila Pa 1976)* 1999;24:637-45.
19. Jones AL, Buchholz RW, Bosse MJ, Mirza SK, Lyon TR, Webb LX, et al. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg [Am]* 2006; 88:1431-41.
20. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am* 1999;30:571-81.
21. Buck BE, Resnick L, Shah SM, Malinin TI. Human immunodeficiency virus cultured from bone. Implications for transplantation. *Clin Orthop Relat Res* 1990;251:249-53.
22. U.S. Department of Health and Human Services. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 1988;37:39.
23. Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL, Coleman TR, Bottenfield S, Conley LJ, et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor. *N Engl J Med* 1992;326:726-32.
24. Huo MH, Friedlaender GE, Salvati EA. Bone graft and total hip arthroplasty. A review. *J Arthroplasty* 1992;7:109-20.
25. Asselmeier MA, Caspari RB, Bottenfield S. A review of allograft processing and sterilization techniques and their role in transmission of the human immunodeficiency virus. *Am J Sports Med* 1993;21:170-5.
26. Tomford WW, Doppelt SH, Mankin HJ, Friedlaender GE. 1983 bone bank procedures. *Clin Orthop Relat Res* 1983;174:15-21.