

SUBKÜTAN YERLEŞTİRİLEN KALSIYUM KARBONATIN (BİOSFER®) HEMOPOETİK ORGANLAR, BÖBREK VE BEYİN DOKULARININ DİSTROİK OSSİFİKASYONU (DO) AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ (DENEYSEL BİR ÇALIŞMA)

Doç. Dr. Çetin KASABOĞLU (*), Dr. Hakan ÖZYUVACI (*), Doç. Dr. Hülya KOÇAK (*), Dt. Banu GÜRKAN (*), Dr. Yersu KAPRAN (**), Prof. Dr. Misten DEMİRYONT (**)

ÖZET: Bu deneysel çalışmada 250-300 gr ağırlığında erkek Wistar-albino sıçanlarının cilt altı dokularına yerleştirilen kalsiyum karbonat seramiğinin (Biosfer®) dolaşımın kuvvetli olduğu karaciğer, dalak, böbrek ve beyin gibi organlarda distrofik ossifikasyon yönünden değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuç olarak materyalin bu organlarda herhangi bir patolojiye sebep olmadığı, güvenilirlikle kullanılabilen bir greft materyali olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Kalsiyum karbonat, visceral organlar, distrofik ossifikasyon

SUMMARY: This experimental study was performed on 250-300 gr weight Wistar-albino rats. Calcium carbonate granules (Biosfer®) was inserted subcutaneously, after 30, 60, 90 days, rats were sacrificed and their liver, spleen, kidney and brain were evaluated for distrofic ossification. Results of this experimental study is: Calcium carbonate greft material (Biosfer®) is very biocompatible and have not side effect on this organs in body. It is very useful and safer greft material.

KEY WORDS: Calcium charbonate, visceral organs, distrofic ossification

GİRİŞ

Günümüze kadar, vücutta meydana gelen eksikliklerin giderilebilmesinde, özellikle doku kayıplarının telafisi için çok değişik yöntemler ve materyaller, organik ya da inorganik birçok maddeler kullanılmıştır. Diş hekimliği alanında da, oral cerrahi girişimlerde kemik dokusunda meydana gelen kayıpların giderilmesinde iyi bir rejenerasyonun sağlanabilmesi amacı ile Paris alçısından durameter'e kadar birçok farklı yapıda materyal kullanılmıştır.

1980'li yılların başında kalsiyum karbonat veya kalsiyum fosfat (Hidroksilapatit (H.A)) yapısında kemik inorganik yapısı ile çok yakın benzerlik gösteren doğal ya da sentetik yollarla elde edilebilen materyaller kemik doku kayıplarının giderilmesinde çok yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır (3,4,5,8,9,15). HA kemik ve dişlerin rijid mineral yapısının büyük kısmını oluşturan bir bileşiktir (13). İnorganik kimyasal yapıya sahip olan bu kemik doku greftleri rezorbe olablen veya rezorbe olmayan, poröz veya nonporöz, düzgün veya keskin kenarlı, düzenli veya düzensiz şekilli, blok ya da granüler (150 mikrondan 4 mm çapına ulaşan değişik gren boyutunda) çok değişik formlarda üretilmişlerdir (19). Bu materyaller grubuna giren ve aynı özellikleri taşıyan fakat farklı gren büyüklüğünde olan Biocoral® ve Biosfer®'in oral cerrahi işlemler de kullanımlarının ve elle işlenebilirliklerinin kolay olması, düzenli iyileşme göstermesi, kemik bütünlüğünü sağlaması ve istenilen sonuçları vermesi nedeni ile çok sık kullanılmaktadır (6). Bugüne kadar bu maddelerin sitotoksik özelliklerinden, sert veya yumuşak doku üzerine olan lokal etkilerine kadar birçok özellikleri araştırılmıştır (1,11,12,16,17), ancak doku içine yerleştirildiklerinde, özellikle rezorbe olabilen bu greft materyallerinin dolaşımın zengin olduğu uzak organlar üzerindeki etkileri fazlaca değerlendirilmemiştir.

Bu çalışmamızdaki amacımız, karaciğer, böbrek, dalak ve beyin gibi dolaşımın zengin olduğu bu organlarda herhangi bir doku dejenerasyonu veya distrofik ossifikasyon mevcu-

diyeti açısından değerlendirme yapabilmek için bu deneysel araştırma planlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gereçler:

Araştırmada, 15 adet erkek 250-300 gr. ağırlığında Wistar-albino sıçanı ve greft materyali olarak kalsiyum karbonat yapısında olan Biosfer® kullanılmıştır.

Biosfer® mekanik direnci kortikal kemiğe eşit, %45 oranında poröz yapıda, 150 mikron çapında porlara sahip 4 mm çapında küresel biçimli, Argonit kristal yapısına sahip %97 oranında kalsiyum karbonat, eser miktarlarda flor, stronsiyum, çinko, demir ve bakır ihtiva eder. Bu yapı embriyonel memeli kemiğine benzer yapıdadır. Greft materyali olarak kullanıldığında kemiğin inorganik matrisinin yerine geçerek iyileşme süresinde rezorbe olur ve yerine kemik dokusunun geçmesi ile repozisyonun tam ve çabuk olmasını sağlar (6).

Yöntem:

15 adet sıçana eter anestezisi vererek sırt ciltlerini traşladık. Cilt dezenfeksiyonunu, iyot solüsyonu ile sağladıktan sonra sagittal düzlemde 1cm cilt insizyonu yaptık, künt diseksiyon ile subkütan dokuda bir tünel hazırladık ve bu tünel içerisine bir adet Biosfer® granülü yerleştirdik, cerrahi prensiplere uygun olarak 3/0 ipek dikiş materyali ile cildi sütüre ettik.

Operasyonları tamamlanan sıçanları beş'er hayvandan oluşan üç ayrı gruba ayırdık. 1. grubu oluşturan sıçanları 30 gün sonra, 2. grubu oluşturan sıçanları 60 gün sonra, 3. grubu oluşturan sıçanları 90 gün sonra sakrifiye ettik. Bu süre içinde hayvanları İstanbul yem sanayi tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren yem ve şehir suyu ile besledik. Takip sürelerini dolduran gruplar eter anestezisi altında sakrifiye edilerek bu hayvanların beyin, böbrek, karaciğer ve dalakları çıkartıldı, yine subkütan olarak yerleştirilen Biosfer® çevre dokuları ile birlikte çıkartılarak histopatolojik incelemeleri yapılmak üzere İ.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'na gönderildi. Sağlıklı sıçanların beyin, karaciğer, dalak ve böbreklerinin histolojik özellikleri bilindiği için kontrol amacı ile sağlıklı sıçanların sakrifiye edilerek incelenmesi gereksiz görüldü.

* İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Çapa/İstanbul

** İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

Konvansiyonel yöntemlerle takip edilen parçalar Hemo-toksilen-Eosin ve Distrofik ossifikasyon varlığı açısından değerlendirilebilmesi açısından von Kossa boyası ile boyanmış ve ışık mikroskobu ile incelenmişlerdir.

BULGULAR

İ.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'na gönderilen organlardan % 10 formaldehit takibi ile hazırlanan kesitlerin tümü Hemotoksilen-Eosin, gerekli görülenler ek olarak von Kossa histokimyasal boyası uygulanarak ışık mikroskobunda incelendi. Kesitlerde karaciğer, böbrek ve beyinde normal morfolojik özellikler izlendi., herhangi bir kalsifikasyon odağı belirlenmedi. Tüm vakalarda dalakta hiperemi mevcuttu. Cilt altı yağ dokusuna ait tüm kesitlerde yerleştirilen materyal çevresinde fokal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu görüldü, multinükleer dev hücre saptanmadı.

TARTIŞMA

Kemik doku kayıplarının telafisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş ve üretilmiş olan bu materyaller tıbbin birçok dalında yaygın olarak kullanılmaktadır. Oral cerrahide, periodontal ceplerin tedavisinden, processus alveolarislerin yükseltilmesine kadar birçok alanda kullanılmaktadırlar (3,4,5, 7,8,14,15,19).

Schaffer (15) 1993 yılında yayınladığı klinik çalışmasında 70 hastalık bir gruba poliglaktin 910 örgü torbacıklar içerisinde kalsiyum fosfat seramiği (HA) ile fibrin adezivlerini birlikte uygulamış ve 50 ay süresince hastalarını takip etmiş ve materyalin çok başarılı ve doku ile iyi uyduğunu vurgulamıştır. Bizde deneysel araştırmamızda materyalin doku ile iyi uyduğunu belirledik.

Kesikbaş (7) 1994 yılında yaptığı klinik çalışmasında kemik içi defektlerinin tedavisinde kalsiyum karbonat (Biocoral 450®) kalsiyum fosfat, kollajen tip1 ve glikozaminoglikan (Biosite®) karışımının uygulamış, her iki materyalinde kontrol grubuna oranla ataşman kazancı ve yeni kemik oluşumu açısından deney gruplarında daha iyi olduğunu, yine aynı kriterlere göre biocoral 450®'nin Biosite®'e oranla daha iyi sonuçlar verdiğini belirtmiştir.

Yukarıdaki örnekler klinik uygulamalarda materyallerin kullanımını belirtmek amacı ile verilmiştir. Materyalin lokal etkileri ve sitotoksik etkileri üzerine de birçok araştırmalar yapılmıştır.

Misiek ve arkadaşları (10) 1984 yılında değişik yüzey özelliğine sahip iki farklı hidroksilapatinin lokal etkilerini araştırmak üzere köpek submukozalarına materyalleri yerleştirmişlerdir. Submuköz reaksiyonların değerlendirilmesi sonucunda keskin, düzensiz yüzeyli HA ile düz yüzeyli HA arasında doku reaksiyonu açısından bir farklılık olmadığı ancak, keskin kenarlı HA partikülleri etrafındaki enflamasyonun düz yüzeyli HA ya oranla daha geç sürede dağıldığını materyaller çevresinde dev hücreler olmadığını vurgulamışlardır. Bizde yaptığımız histopatolojik incelemelerde materyal çevresinde dev hücrelere rastlamadık.

Frame (2) 1987 yılında HA'nın kemik ve yumuşak doku da son derece biyouyumlu olduğunu herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu yaratmadığını belirtmiştir.

Pinholt ve arkadaşları (13) 1992 yılında yaptıkları deneysel çalışmalarında 4 farklı HA materyalini sıçanlarda processus alveolaris yükseltilmesinde kullanmışlar, çevre doku reaksiyonu ve yerleştirilen materyallerin kimyasal özelliklerini infrared spektrometre ile analiz etmişlerdir. Sonuç olarak bir materyalin üretildiği firmaca HA olduğu iddia edildiği an-

cak florapatit yapısında olduğunu ve biyo uyumluluğunun zayıf olduğunu saptamışlardır. Biz, araştırmamızda kalsiyum karbonat seramiğinin (Biosfer®) doku dostu olduğunu ve vücutta dolaşımın zengin olduğu organlarda birikim yapmadığını belirledik.

Evans (1) 1991 yılında sentetik HA'ı invitro fibroblastlara uygulamışlar, hücrelerin total büyüme oranlarınınve mitotik aktivitelerinin azaldığını buna karşılık piknotik hücre artışının görüldüğünü belirtmişlerdir. Sitotoksik etkinin kimyasal yoldan ziyade fiziksel yolla meydana geldiğini küçük partiküllerin hücreler tarafından fagosite edildiğini belirlemişlerdir.

Vrouwenvelder ve arkadaşları (18) 1993 yılında yaptıkları invitro hücre kültürü çalışmalarında sıçan osteoblast kültürleri içine bioaktif cam, HA, titanyum ve paslanmaz çelik yerleştirmişlerdir. Bioaktif cam yerleştirilen kültür hücrelerinde osteoblasta benzer morfolojiye sahip hücreler HA, titanyum ve paslanmaz çelik yerleştirilenlere oranla daha fazla üremişlerdir. Ayrıca hücre proliferasyonunun da daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir.

Bu ve buna benzer birçok araştırmalar yapılmasına rağmen doku içine yerleştirilen kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfatı seramiklerinin viseral organlar ve beyin üzerine etkilerinin pek araştırılmadığı görülmüştür. Bu yönden materyallerin etkilerini araştırmak amacı ile yapılan bu deneysel çalışma sonucunda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde subkütan olarak yerleştirilen Biosfer® in iyileşme ve rezorpsiyon süreci içinde viseral organlar ve beyinde herhangi bir distrofik ossifikasyona sebep olmadığı ve de böylece vücutta birikim yapmadığı belirlenmiştir. Subkütan olarak yerleştirilen Biosfer® in 90 gün sonunda oldukça fazla boyutta rezorbe olduğu ve çevre dokuda herhangi bir yabancı cisim reaksiyonu olmadığının belirlenmesi de materyalin biyo uyumlu olduğunu göstermektedir. Elde edilen bu histopatolojik bulgular doğrultusunda Biosfer® in doku dostu olduğu, vücutta birikim yapmadığı ve sistemik yan etkilerinin olmadığı farklı bir yönden incelenmiş ve birkez daha güvenilirlikle kullanılabilecek bir materyal olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Evans EJ: Toxicity of hydroxylapatite in vitro the effect of particle size. *Biomaterials* 1991 vol 21 (6) 574
2. Frame JW: Hydroxylapatite vas biomaterial for alveolar ridge augmentation. *Int. J Oral Maxillofac Surg* 1987. 16:642.
3. Gonglof RK: Alveolar ridge augmentation with collagen tubes containing bone and hydroxylapatite. *Int. J. Oral Maxillofac Surg.* 1991 21:12
4. Holtz G: Alveolar ridge augmentation with hydroxylapatite using fibrin sealant for fixation (Part 2). *Int. J Oral Maxillofac Surg.* 1991 20:208.
5. Inotek, From Biocoral to oral Surgery: Hand book: Olivier Barbaroux-IFREMER Saint-Gonery FRANCE 1989
6. Kesikbaş H: İki farklı alloplastik greft materyalinin periodontal kemik içi defektelerindeki etkilerinin incelenmesi (Doktora Tezi) İstanbul, İstanbul Üniversitesi 1994
7. Kreusch T, Harle F: Augmentation of the alveolar ridges with hydroxylapatite in a vicryl tube. *Int. J. Oral Maxillofac Surg* 1991 20:144
8. Mehlich DR: Collagen/Hydroxylapatite implant for augmenting deficient alveolar ridges a 24 month clinical and histologic summary. *Oral surg. Oral Med. Oral pathol.* 1989 68:505
9. Misiek DJ, Kent JN, Carr RF: Soft tissue response to hydroxylapatite particles of different shapes. *J Oral Maxillofac.* 1984 Surg. 42:150
10. Özyuvacı H: Hidroksilapatit yerleştirilmesinden sonra kemik yapısındaki biyomekanik ve histolojik değişikliklerin deneysel incelenmesi (doktora tezi) İstanbul, İstanbul Üniversitesi 1992.
11. Özyuvacı H, Soydan N, Ilıcalı A, Oral C: Hidroksilapatit-Kollajen (Tip 1)-Glikozaminoglikan (HAKG) karışımının sıçan gluteal kasi içinde erken dönemde meydana getirdiği reaksiyonların histolojik incelenmesi. *İ.Ü. Diş Hek. Fak. Der* 1994. 28:3
12. Pinholt EM, Ruyter IE, Haanaes HR, Bang G: Chemical, Physical and Histologic studies on four commercial apatites used for alveolar ridge augmentation. *J. Oral Maxillac. Surg* 1992 50:859

14. Reznick JB, Gilmore CW: Host response to infection of a subperiosteal hydroxylapatite implant. Oral Surg. Oral Med. Oral pathol. 1989 67:665
15. Scaffer AB: The combined use of hydroxylapatite segments and granules for alveolar ridge reconstruction. J Oral Maxillofac Surg. 1993 51:26
16. Serre CM, Papillard M, Chavassieux P, Boivin G: In vitro induction of a calcifying matrix by biomaterials constituted of collagen and or hydroxylapatite: an ultrastructural comparison of three types of biomaterials 1993 14:2 97
17. Verheyen CCPM, Wijn JR, Blitterswijk CA, Groot K, Rozing PPM: Hydroxyl-apatite/Poly (L-lactide) composite: An animal study on push-out strengths and interface histology. Journal of Biomedical Materials Research 1993 27:433
18. Vronwenvelder WCA, Groot CG, Groot K: Histological and biochemical evaluation of osteoblast cultured on bioactive glass, hydroxylapatite, titanium alloy and stainless steel. Journal of Biomedical Materials Research 1993 27:265
19. White E. Shors EC: Biomaterial aspect of interpore - 200 porous hydroxylapatite. Dental Clinics of North America 1986 30/1:49