

DENEYSEL KEMİK DEFİKTLERİNE UYGULANAN İKİ FARKLI MEMBRANIN KEMİK VE ÇEVRE DOKU ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Doç. Dr. Ayşegül APAYDIN (*), Dr. Hakan ÜZÜVACI (*), Dt. Sel YILDIRIM (*), Dt. Güneş AYIŞIGI (*),
Prof. Dr. Misten DEMİRYONT (**)

ÖZET: Bu deneysel çalışmada 20 adet 250-300 g erkek Wistar-albino sıçanı kullanılmıştır. Sıçanlar sağ ve sol tibialarına bikortikal defekt oluşturularak, bir grupta polytetrafluoroetilen (Rezorbe olmayan) bir grupta da poliglaktin 910 mesh (rezorbe olabilen), sağ tibialardaki defekt bölgesini örtecek şekilde yerleştirilmiştir. Sol tibialarda oluşturulan defektler kontrol için boş bırakılmıştır. 3, 7, 15, 21 ve 56 günlük iyileşme sürelerini dolduran sıçanlar sakrifiye edilmiş, disseke edilen defekt alanları incelenmiş ve histopatolojik yönden değerlendirilmiştir. Sonuç olarak kemik defektlerinde her iki tip membran uygulanan grupta da çevre doku reaksiyonunun olduğu, ancak, kontrol grubuna oranla osteogenezin daha düzenli olduğu belirlenmiştir.

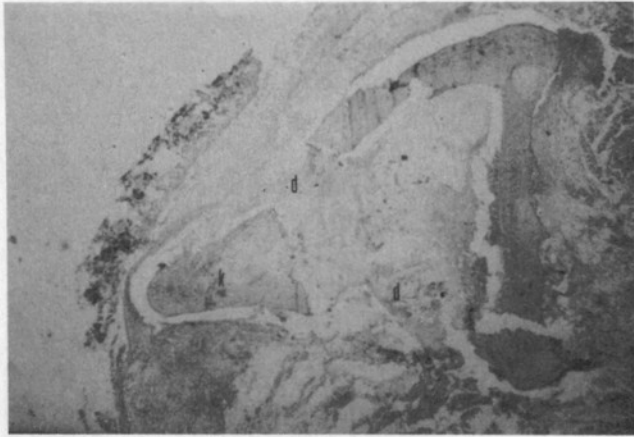
SUMMARY: In this experimental study, 20 male Wistar-albino rats (body weight 250-300 g) were used. Bicortical bone defects were prepared on the right and left tibias each animal. Defects on the right tibias were covered with polytetrafluoroethylene (non resorbable) membrane in one group, and with polyglactin 910 mesh (resorbable) membrane in the other. Defects on the right tibia, left as they are to serve as control in that no membrane was placed. The rats were sacrificed at the end of healing periods of 3, 7, 15, 21 and 56 days and the defect areas were evaluated histopathologically. As a result, peripheral tissue reactions were seen with two types of membranes. However, according to the control defects the osteogenesis was proper in defects covered with membranes.

GİRİŞ

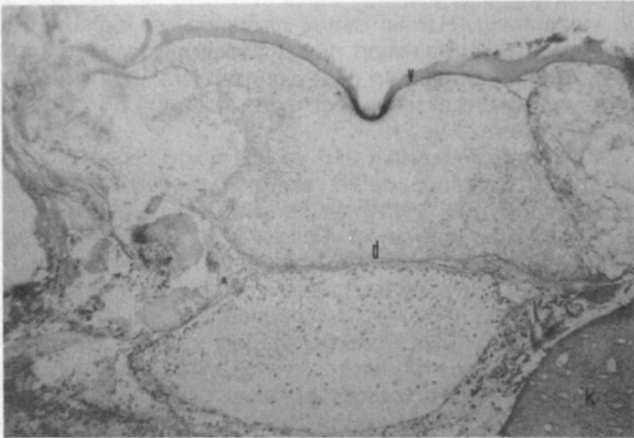
1970'li yılların sonlarına doğru dişhekimliği periodontoloji alanında yeni bir tedavi prensibi ortaya atılmış ve yönelen-

* İ. Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi
A.B.D

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



Resim 1 : Üç günlük kontrol grubu d: Defekt bölgesi , k: Kortikal kemik H & E x 40.



Resim 2 : Üç günlük poliglaktin 910 uygulanan grup. d: defekt bölgesi, k: Kortikal kemik. v: poliglaktin 910 membran H&E x 100.

dirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) olarak tanımlanmıştır (1,2,3). Bu yaklaşımın amacı membran gibi fiziksel bir bariyerin yardımı ile dişeti epiteli, bağ dokusu, periodontal doku ve kemik dokusunun uygun süre ve koşullarda rejenerasyonunu sağlamaktır (4,5,6,7,8,9,10). Bu uygulamada makromolekülleri geçirebilen fakat hücrelerin girişini engelleyen mikroporöz membranlar sayesinde defekt bölgesindeki pıhtının arzu edilen hücreler tarafından invaze olması, istenmeyen hücrelerin pıhtıdan uzak tutulması sağlanır (6,7,8,9,10,11,12). YDR prensibi, son yıllarda, oral cerrahi ve oral implantoloji alanlarında da uygulanmaya başlanmıştır (9,13,14,15,16,17). Burada ise yönlendirilen ve rejenerasyonu istenen doku kemik dokusudur ve işleme de "kemik ogmentasyonu" ismi verilmektedir (18). Bu sayede kemik defektlerinde pıhtının fibroblastlar tarafından işgal edilmesi veya implant çevresinde fibröz bir kapsül oluşması gibi komplikasyonlar önlenabilmektedir. Membran iç yüzeyi ile kemik arasında oluşacak yapay boşluk ve burada toplanacak pıhtı bu sayede sadece osteojenik potansiyeli olan hücrelerle ilişkide olacak ve sonuçta yeni kemik yapımı yönlendirilebilecektir (13,15,16,17,18).

YDR'nunu sağlamak amacı ile tıbbın çeşitli dallarında da kullanılan membranlar absorbe edilebilen ve edilemeyen materyallerden üretilmiştir (4,10,13,19,20,21,22). Bu membranların yapısal özellikleri istenilen sonucun sağlanması

ile doğrudan ilişkilidir. Her iki tip materyalin inert olması, iyileşme süresince devamlılığını koruyabilmesi ve stabil kalabilmesi aranan özelliklerin başında gelmektedir (44,10,3,19,20,21). Sıkça kullanılan ve absorbe edilemeyen Politetrafluoroetilen (PTFE) esaslı membranların iç kısmı oklusif bir mikroyapıya sahip olup yaraya bağ dokusu geçişini engeller, dış ortamla temasa geçerse plak oluşumunu azaltır ve kemik hücrelerinin göç edebileceği, bir boşluk oluşturur (1.18). Membranın dış kısmı ise daha iyi bir doku integrasyonu sağlayacak bir biçimde üretilmiş olup yaranın stabilizasyonunun sağlanması ve bağ dokusu migrasyonunun önlenmesinde önemlidir (7,8,9,13,19).

Bilindiği gibi oral cerrahide çeşitli nedenlerle oluşan büyük kemik defektlerinin iyileşmesi sırasında karşılaşılan en önemli sorunlardan biri kemik iyileşmesinin istendiği biçimde gerçekleşmemesidir (15,18,20,23), iyileşme bozukluğuna, özellikle bikortikal kemik defektlerinde sıkça karşılaşılabılır. Örneğin bazı kist olgularında karşımıza çıkan bu tür defektlerin iyileşmesi sırasında olabilecek bağ dokusu migrasyonu kemik morfolojisini olumsuz yönde etkileyebilecektir.

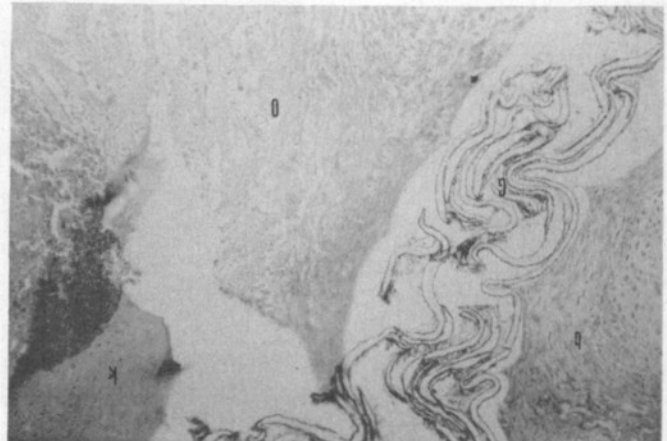
Biz bu çalışmamızda, deneysel olarak oluşturduğumuz bikortikal kemik defektlerinde YDR sağlayan absorbe edilebilen ve edilemeyen iki farklı tipteki membranın iyileşme üzerine olan etkilerini, avantaj ve dezavantajlarını irdelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız 4-6 aylık, 250-300 gr. ağırlığında 20 adet erkek Wistar-albino sıçanı üzerinde gerçekleştirildi. Araştırmamız süresince sıçanlar İstanbul yem sanayii tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren özel yem ve şehir suyu ile beslendiler. Sıçanlar kullanılan membrana göre 2 ana gruba ayrıldılar;

1. Grup: Abzorbe edilebilen poliglaktin 910 (Vicryl®) membran uygulanan 10 sıçandan,
2. Grup: Abzorbe edilemeyen PTFE esaslı (Gora-Tex®) membran uygulanan 10 adet sıçandan oluşmaktaydı.

Operasyonlar IM 120 mg/kg ketamin ile sağlanan genel anestezi altında gerçekleştirildi. Tüm sıçanların sağ ve sol bacaklarının medial yüzü traşlandıktan sonra cilt ensizyonu yapılarak, künt disseksiyonlar ile tibiaların medial yüzüne ulaşıldı. Medial yüzde düşük devirli mikromotor ve 014 numaralı rond frez kullanılarak, serum fizyolojik soğutması ve irrigasyonu ile bikortikal kemik defektleri oluşturuldu. Deney



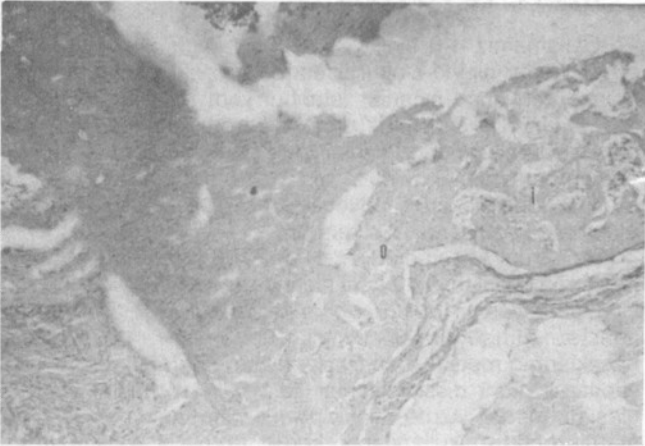
Resim 3 : Onbeş günlük Politetrafluoroetilen membran uygulanan grup. O: Osteoid madde, G: Politetrafluoroetilen membran, b: Bağ dokusu, k: kortikal kemik H&E x 100.

grubunu oluşturan sağ tibialardaki defektlere membranlar yerleştirilirken, sol tibialardaki defektler ise kontrol olmak üzere boş bırakıldı. Kemikler üzerindeki cerrahi uygulamalar tamamlandıktan sonra cilt 3-0 ipek dikiş materyali ile kapatıldı. Operasyonu takib eden 3. gün, 7. gün, 15. gün, 21.gün ve 8. haftalarda hayvanları sakrifiye etmek üzere alt gruplar oluşturuldu. Takip sürelerini dolduran sıçanlar yüksek doz pentotal uygulaması ile sakrifiye edildi ve sağ-sol tibialar çevre yumuşak doku ile birlikte çıkartıldı. Disseke edilen tibialar bir hafta süre ile %10'luk formolde fikse edildikten sonra 22.2gr/100ml EDTA solüsyonunda dekalsifiye edildiler. Rutin doku takibinden sonra hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 8-10 mikron kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyanıp ışık mikroskopunda histopatolojik yönden değerlendirildiler.

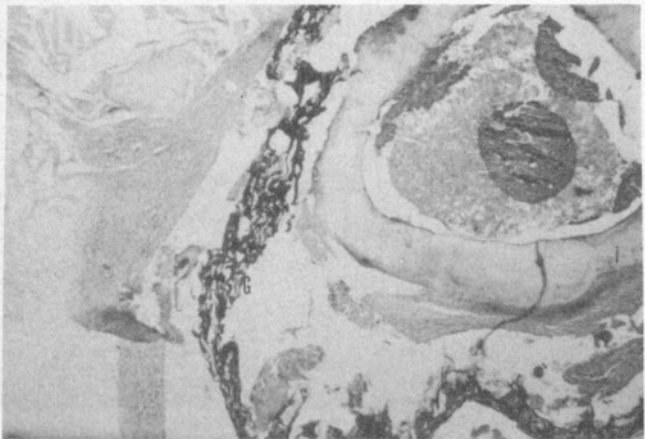
BULGULAR

Çalışmamız da tüm hayvanlar iyileşme süreçlerini komplikasyonsuz olarak tamamladılar. Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan operasyon bölgelerinden hazırlanan kesitler histopatolojik yönden incelendiler.

3. Gün de Poliglaktin 910 ve PTFE uygulanan kemik defektlerinde organizasyonu tamamlanmamış hematoma görüldü. Defekt bölgelerinde herhangi bir osteoblastik aktivite-



Resim 4 : Sekiz haftalık Poliglaktin 910 membran uygulanan grup O: osteoid madde i: iyileşme bölgesi H•E x 100



Resim 5 : Sekiz haftalık Politetrafluoroetilen membran uygulanan grup G: Politetrafluoroetilen membran i: iyileşme bölgesi H•E x 40



Resim 6 : Sekiz haftalık kontrol grubu. i: iyileşme bölgesi O : osteoid madde H•E x 100.

ye rastlanmadı. Her iki deney grubunda da membranlar çevresinde yoğun polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu saptandı. Kontrol grupları ile deney grupları arasında iyileşme ve çevre doku reaksiyonu açısından herhangi bir fark bulunmadı (Resim 1 ve 2).

7. Gün de Poliglaktin 910 ve PTFE uygulanan gruplar ve kontrol grubunda defekt alanında procallus oluşumu saptandı. PTFE uygulanan grupta materyal çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu Poliglaktin 910 uygulanan grup ve kontrol grubuna oranla daha fazla idi. Bu süreçte Poliglaktin 910'un tüm kesitlerde rezorbe olduğu görüldü.

15. Gün de alınan kesitlerin histopatolojik incelemesinde; Poliglaktin 910 ve PTFE esaslı membran uygulanan her iki deney grubunda da defekt alanında osteoid madde yapımı görüldü. Osteoid madde yapımı açısından kontrol grubuyla bir farklılık yoktu. Ancak membran uygulanan defektlerde bağ dokusu migrasyonunun büyük ölçüde önlediği saptandı (Resim 3). Poliglaktin 910 uygulanan deney grubunda materyalin bu süre sonunda tamamen absorbe edildiği ve PTFE'ye oranla daha az çevre doku reaksiyonuna (mononükleer hücre infiltrasyonu) sebep olduğu gözlemlendi. İlk gruba göre çevre doku reaksiyonu daha hafifti.

21. Gün sonunda tüm kesitlerde defektlerin büyük oranda yeni kemik yapısıyla doldurulduğu saptandı. Kontrol grubu ile deney grupları arasında osteojenik aktivite açısından belirgin bir fark saptanmaz iken PTFE uygulanan defektlerdeki kemik iyileşmesinin, Poliglaktin 910 uygulanan defektlere göre daha düzenli olduğu, PTFE'nin çevre doku migrasyonunu belirgin derecede önlediği görüldü.

8. Hafta sonunda kontrol ve her iki deney grubunda defektlerin tamamen iyileştiği, lameller yapıda bir kemik dokusunun mevcudiyeti görüldü. Poliglaktin 910 uygulanan grupta kortikal kemikteki iyileşmenin PTFE uygulanan gruba oranla daha düzensiz olduğu daha geri süreçte olduğu belirlendi (Resim 4 ve 5). Her iki grupta da çevre dokudaki iltihabi hücre infiltrasyonunun oldukça az olduğu ancak PTFE yerleştirilmiş defektlerde nispeten daha fazla olduğu görüldü. Kontrol grubunda herhangi bir çevre doku reaksiyonu saptanmadı (Resim 6).

TARTIŞMA

Büyük kemik defektleri söz konusu olduğunda kemik konturlarının normal morfolojisinin korunması ve iyileşmenin bağ dokusu migrasyonu olmadan sağlanması esastır

(15,18). Bu amaçla günümüze kadar çeşitli biyomateryaller ve kemik greftleri kullanılmıştır. 1980'li yıllarda kemik defektlerinin düzenli iyileşmesine yardımcı olabilmek amacıyla rezorbe olabilen ve olmayan farklı tipte membranlardan yararlanılarak çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar yapılmıştır. Rezorbe olmayan membranların en önemli dezavantajı çıkartılmaları için ortalama 3-6 ay sonra 2. bir operasyon gerekmesidir (2). Absorbe olabilen materyallerden olan poliglaktik ve poliglikolik asit esaslı membranların ise dokuda hidrolizi sırasında oluşabilecek reaksiyonların iyileşmeyi belli aşamalarda olumsuz yönde etkileyebileceği ve dolayısı ile materyalin seçimi sırasında tüm bu özelliklerin dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır (21).

Dahlin ve arkadaşları (16) sıçan mandibularında oluşturdukları 5mm lik kemik defektlerinde PTFE esaslı membran uygulamışlar ve 3,6 ve 9 haftalık takipleri sonucunda membran uygulanan defektlerdeki kemik rejenerasyonunun kontrol gruplarına oranla anlamlı düzeyde fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Warrar ve arkadaşları (14) maymunlarda oluşturdukları periodontal defektlere absorbe olabilen poliglaktik asit ve poliretan membranlar yerleştirmişlerdir. 1-8 aylık takip süresi sonunda çalışma ve kontrol defektleri arasında periodontal rejenerasyon açısından anlamlı farklılıklar saptamamışlardır. Kullanılan membranların absorpsiyon süreleri ile rejenerasyon süresinin birbirleriyle uyumluluk göstermediği ve membranların yapısal özelliklerinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda da poliglaktin 910 esaslı membranın erken dönemde absorbe edildiği ve 8 hafta sonunda bu defektlerdeki kemik rejenerasyonunun PTFE uygulanan veya kontrol defektlerine oranla daha düzensiz olduğu gözlemlendi.

Aaboe ve arkadaşları (20) Tavşan tibialarında oluşturdukları defektlere absorbe edilebilen ve edilemeyen membranlar yerleştirmişler ve alınan sonuçları kontrol grupları ile kıyasladıklarında farklılıklar saptamamışlardır. Ancak membran uygulanan defektlerin çevresinde farklı derecelerde iltihabi hücre infiltrasyonu belirlemişler, ancak bu bulgunun kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilemediğini belirtmişlerdir (20). Bu sonuç bizim çalışmamızla uygunluk göstermekteydi. Çalışmamızda absorbe edilen membrana karşı oluşan çevre doku reaksiyonunun, diğer literatür sonuçlarını destekler nitelikte, önemsiz bir düzeyde olması nedeniyle iki aşamalı implant kullanılan olgularda veya ikinci kez operasyon yapılmasını kabul etmeyen kimi hastalarda bu tür membranların kullanımını önerebiliriz. Bazı araştırmacılar absorbe olabilen materyalin çalışma süresince stabilizasyonunun koruyamadığı ve membranın defekt içine doğru çıktığını belirtmişlerdir (24). Bizim çalışmamızda kullanılan hayvan türüne uygun olarak daha küçük defektlerin oluşturulması nedeniyle böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Ancak oluşacak yeni kemik miktarının membran stabilizasyonu ile yakından ilişkili olduğunu düşünerek olursak özellikle büyük kaviterlerde otojen kemik greftleri veya titanyum destekli membranlardan yararlanılabilir (24).

Sonuç olarak YDR sağlayan membranlardan yararlanı-

lacağında operasyon alanına, kemik kavitenin büyüklüğüne ve hastanın ihtiyaçlarına göre seçim yapılmasının uygun olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Gora-Tex Periodontal material (Tanıtım kitapçığı) Gora & Associates Inc. 1991
2. Becker W, Becker BE, Berg L, Prichard J, Caffesse RG, Rosenberg E. New attachment after treatment with root isolation procedures: ClassIII and classII furcations and vertical osseous defects. *International journal of periodontics and restorative dentistry* 1988; 3:9-23.
3. Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots in to bone tissue. *J. Periodontol.* 1980;7:96-105.
4. Galgut P, Pitrola R, Waite I, Doyle C, Smith R. Histological evaluation of biodegradable and non-degradable membranes placed transcutaneously in rats. *J. Periodontol* 1991; 62:581-586.
5. Tinti C, Vincenzi G, Cartellini P, Prato PG, Clauser C. Guided tissue regeneration in the treatment of human facial recession: A 12 case report. *J. Periodontol* 1992;63:554-560.
6. Caffesse GR, Quinones RC. Guided Tissue regeneration: Biologic rationale, Surgical technique and clinical results. *Compend. Contin. Educ. Dent.* 1991;13:166-178.
7. Metzler GD, Seamsons CB, Mellonig JT, Cher EM, Gray JL. Clinical evaluation in the treatment of maxillary classII molar furcation invasions. *J. Periodontol* 1991;62:353-360.
8. Sandberg E, Dahlin C, Linde A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: An experimental study in rats. 1993; 51:1106-1114.
9. Gottfredsen K, Nimb L, Buser D, Hjørting-Hansen E. Evaluation of guided bone generation around implants placed into fresh extraction sockets: An experimental study in dogs. *J. Oral Maxillofac. Surg* 1993; 51:879-884.
10. Fugozotto PA, Hempton TJ. Guided tissue regeneration in oral reconstruction: Surgical and restorative applications. *JADA* 1993; 124:82-85.
11. Mundell RD, Mooney MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. *J. Oral Maxillofac Surg.* 1993; 51:1004-1012.
12. Hjørting-Hansen E, Andreasen JO. Incomplete bone healing of experimental cavities in dog mandibles. *Br. J. Oral Surg.* 1971;9:33-40.
13. Levine RA. Guided tissue regeneration: Clinical applications associated with dental implant. *Compend. Contin. Educ. Dent.* 1991;13:182-196.
14. Becker W, Becker BE, Handelsman M, Ochsenbein C, Albrechtsson T. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets: A study in dogs. *J. Periodontol.* 1991; 62; 703-709.
15. Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. *Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg.* 1990;24:13-19.
16. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone Defects by guided tissue regeneration. *plast. Reconstr. Surg.* 1988;81:672-676.
17. Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. *Int. J Oral and maxillofac imp.* 1989;4:19-25.
18. Gora-Tex Augmentation material (tanıtım kitapçığı). Gora & Associates Inc. 1991.
19. Caton J, Greenstein G, Zappa U. Guided tissue regeneration using Viryl periodontal mesh. *Compend. Contin. Educ. Dent.* 1991;13:202-207.
20. Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Solheim E, Praetorius F. Guided tissue regeneration using degradable and nondegradable membranes in rabbit tibiae. *Clin. Oral Impl Res.* 1993; 4:172-176.
21. Warrar K, Karring T, Nyman S, Gogolewski S. Guide tissue regeneration using biodegradable membranes of polyglactik acid or polyurethane. *J. Clin. Periodontol* 1992;19:633-640.
22. Minabe M. A Critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. *J. Periodontol.* 1991; 62:171-179.
23. Kent JN, Zide MF. Wound healing: Bone and biomaterials. *Otolaryngol. Clin. North. Am.* 1984; 17:273-319
24. Gora-Tex Technical information. Gore & Associates Inc. Trademarks of W.L. 1994