

KOLLAJENİN (OSTEOVİT) OSTEOGENEZ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Dr. Banu GÜRKAN*, Dr. Mehmet YALTIRIK*, Dr. Hülya KOÇAK*, Dr. Zerrin ÇEBİ*, Dr. Okhan ORAL*, Dr. Bilge BİLGİÇ**

ÖZET: Kollajen yara iyileşmesinde önemli fizyolojik rol oynar. Bu çalışmada, sığır kollajeninin yeni bir formu olan osteovitin biyoyumluluğunun ve kemik rejenerasyonunun erken dönemine olan etkisinin araştırılması ve kontrol grubu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Araştırmada 15 adet Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların tibialarında açılan kemik kavitelerine kollajen (osteovit) implante edilerek, 7., 14. ve 21. günlerin sonunda elde edilen kesitler histopatolojik olarak incelendi. Çalışmanın sonucunda kollajen yerleştirilen kemik defektlerinde 7., 14., 21. gün gruplarında yabancı cisim granülasyon dokusuna rastlanılmadı. Yirmibirinci günde kollajen etrafında yeni kemik yapımının olduğu görüldü. Sonuç olarak, kollajenin kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilemeyen biyoyumlu bir materyal olduğu saptandı.

ANAHTAR KELİMELEER: Kollajen, biyoyumluluk, kemik rejenerasyonu.

ABSTRACT: EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF EFFECTS OF COLLAGEN (OSTEOVIT) ON THE OSTEOGENESIS: Collagen plays an important physiological role in the process of the wound healing. In this study, the effect of a new form of bovine collagen (osteovit) in the early stage of bone regeneration and its biocompatibility and comparison with the control group are investigated. The results are compared with the control group. In this study, 15 Wistar Albino type rats were used. The section obtained at the end of 7., 14., and 21. days after implanting the collagen (osteovit) from the created bone cavities of tibias of the rats were investigated histopathologically. At the end of the study, no foreign body granulation tissue was observed at the collagen implanted bone defects at the day 7 th, 14.th and 21. respectively. Bone formation was seen around the collagen at the day of 21. It is concluded that collagen is a biocompatible material and has no side effects on the bone healing.

KEY WORDS: Collagen, biocompatibility, bone regeneration.

Oral ve maksillofasiyal cerrahi girişimlerde, gerek hemostazın sağlanması, gerek kemik defektlerinin estetik ve fonksiyon olarak rekonstrüksiyonunda çeşitli materyellerin kullanımı söz konusudur. Cerrahinin tüm dallarında yumuşak dokudan ve kemikten kaynaklanan kanamalar ameliyat sahasını kapatıp görüşü engellemekte ve ameliyatın uzamasına neden olmaktadır. Kemikten kaynağını alan kanamaların durdurulmasında uygulanabilecek yöntemlerden birisi de, kanayan bölgeye hemostatik bir ajanın yerleştirilmesidir (1,2,3,4).

Günümüzde mevcut çok sayıda hemostatik ajan arasından seçim yapmada, bu maddelerin yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemesi ve yol açmaları nedeniyle bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır. İdeal bir hemostatik ajanda bulunması gereken özellikler; rezorbe olabilmesi, kemik rejenerasyonuna engel olmaması, biyoyumluluk, kemik yapımını ve iyileşmesini hızlandırmasıdır (5,2).

Tendon, cilt ve kemikte yüksek konsantrasyonda bulunan kollajen hemostatik ajanlardan biri olup, insan ve hayvanlarda total vücut protein miktarının %20-%30'unu oluşturur. Kollajen zayıf antijenik etkisi, kanamanın önlenmesinde ve durdurulmasında etkili olması nedeniyle tercih edilmektedir (6).

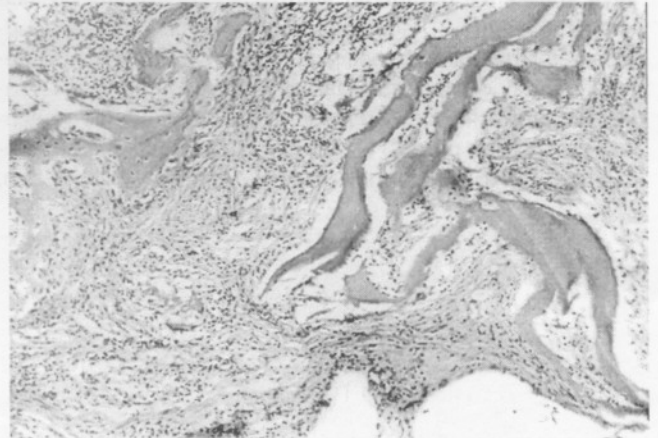
Bu çalışmamızda, sıçanların tibialarında oluşturulan kemik defektlerine yerleştirilen osteovitin biyoyumluluğunu ve kemik iyileşmesine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYEL VE METOD

Araştırmamızda 200±20 gr ağırlığında, 15 adet erkek Wistar-Albino sıçan kullandık. Deneysel çalışmalarımızı İ. Ü.

İstanbul Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (DETAM) gerçekleştirdik.

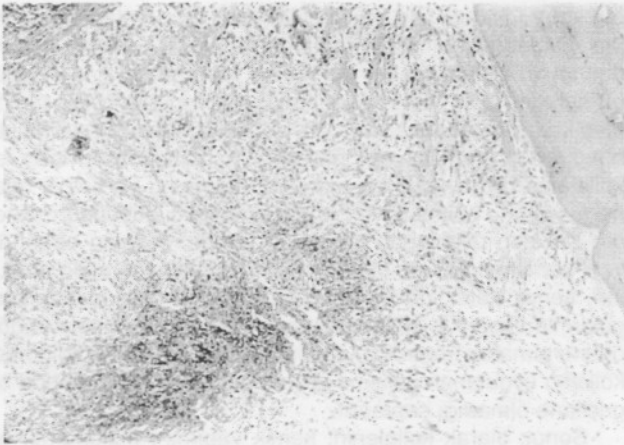
Denekler araştırma süresince şehir suyu ve İstanbul yem sanayi tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren yem ile beslendi. Çalışmamızda sağ arka bacaklar kontrol, sol arka bacaklar da deney grubu oluşturacak olan 15 Wistar-Albino sıçanlarının her iki arka bacağı denekler eter anestezisi altında uyutulduktan sonra traş edildi. Her iki bacağın mediyal yüzünde 2 cm uzunluğunda uzun eksene paralel ensizyonlar yapılarak periyostu da içeren diseksiyon yapıldı. Daha sonra düşük devirde yuvarlak frezeyle serum fizyolojik soğutması ve irigasyonu altında korteksten medulaya uzanan defekt oluşturuldu. Sol tibiaadaki defekte steril serum fizyolojik içinde bir süre bekletilmiş osteovit yerleştirilip yara yerleri katlarına uygun olarak a travmatik dikiş ipliği ile kapatıldı. Osteovit, sığır spongiozasından elde edilen, kimyasal işlemlerden sonra gamma ışınlarıyla sterilize edilen kollajen esaslı bir maddedir. Sıçanların sağ bacaklarında ise



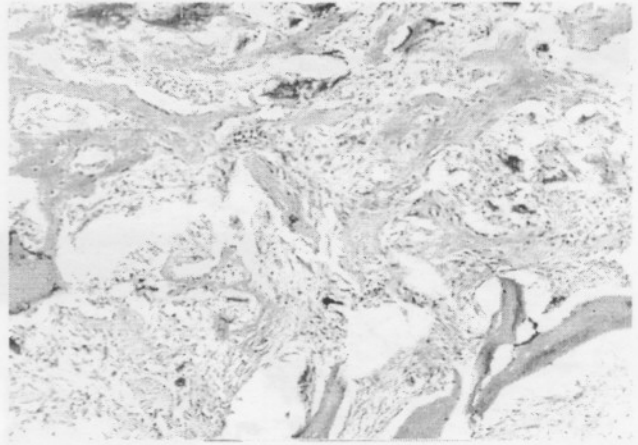
Resim 1: İltihabi hücre elemanları, fibroblastik hücre proliferasyonu (Deney grubu 1. hafta, H.E x125).

* İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı.

** İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı.
Oral Cerrahi Derneğinin 4. Bilimsel Toplantısında (25-30 Mayıs 1998 Antalya) bildiri olarak sunulmuştur.



Resim 2: Fibröz doku, iltihabi hücrelerle içiçe, korteksten başlayan yeni kemik oluşumu (Kontrol grubu 1. hafta, H.E x125).



Resim 4: Belirgin yeni kemik oluşumu (Deney grubu 3. Hafta, H.E x125).

aynı işlemler yuvarlak frezeyle ve ameliyat sahası steril serum fizyolojik ile soğutulularak yapıldı. Oluşturulan defektler kontrol amacı ile boş bırakıldı ve yara yerleri katlarına uygun olarak kapatıldı.

Üç gruba ayrılan sıçanlar, sırasıyla kemik iyileşmesinin erken dönemi olan 7., 14. ve 21. günlerde letal doz eter anestesisi altında sakrifiye edildi. Çıkarılan tibialar %10'luk formolde tesbit edildikten sonra, %10'luk nitrik asit çözeltisinde dekalsifiye edildi. Rutin doku takibinden sonra hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5-10 mikronluk kesitler Hematoksilin-Eozin ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi.

BULGULAR

7. gün

Osteovit yerleştirilmiş kemik defektlerinde lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan alan ve hafif fibrozis görüldü. Defekt oluşturulan alanın periferinden başlayan kortekse komşu minimal reaktif kemik yapımı gözlemlendi. Osteovit uygulanan grupta yabancı cisim reaksiyonuna rastlanmadı (Resim 1).

Kontrol grubunda ise, lenfosit ve plazma hücreleri ile infiltre olan defekt alanlarında yoğun fibrozis görüldü. Yeni kemik yapımının deney grubuna oranla biraz daha belirgin olduğu gözlemlendi (Resim 2).



Resim 3: Kortikal kemik, buna komşu alanda reaktif kemik yapımı, fibröz doku, az sayıda iltihabi hücre (Deney grubu 2. Hafta, H.E x125).

14. gün

Deney grubunda osteovitin çevresinde lenfosit ve plazma hücreleri infiltrasyonu görüldü. Bu iltihabi hücre infiltrasyonunun kontrol grubuna oranla daha yoğun olduğu gözlemlendi. Osteovit çevresinde damardan zengin fibröz bağ dokusu içerisinde, lezyonun periferinden başlayan reaktif kemik yapımının olduğu ve osteoblastik aktivitede de 7. güne oranla artış olduğu gözlemlendi. Bu grupta da yabancı cisim reaksiyonuna rastlanmadı (Resim 3).

Kontrol grubunda ise, kavitenin fibrosit ve fibroblastlardan oluşan fibröz doku ile dolu olduğu, arada oluşan yeni kemik trabekülleri, az sayıda lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu gözlemlendi.

21. gün

Osteovit uygulanan kemik kavitelelerinde iltihabi granülasyon dokusunun yerini, osteoviti kuşatan kemik trabeküllerinin aldığı gözlemlendi (Resim 4). Arada fibroz bağ dokusu görüldü.

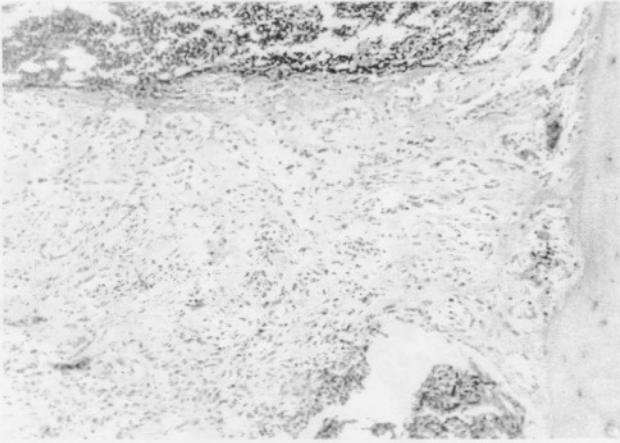
Kontrol kavitelelerinde ise, fibröz doku ile dolu kavitenin içindeki geniş alanlarda lezyonu dolduracak şekilde köprü yapan yeni kemik yapımının olduğu gözlemlendi (Resim 5).

TARTIŞMA

Günümüze kadar hemostatik maddelerle ilgili deneysel ve klinik çalışmaların çoğunda materyellerin hemostatik etkileri araştırılmıştır. Dokuda oluşabilecek iltihabi reaksiyon ve kemik rejenerasyonu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar az sayıdadır (5).

Guarlinck ve ark. (7), yaptıkları klinik araştırmada oral cerrahi girişimde jelatin süngeri kullanmışlar ve materyelin doku ile uyumlu bir hemostatik ajan olduğunu bildirmişlerdir. Finn ve ark. (5), köpeklerde oluşturdukları kemik defektlerine farklı tipteki hemostatik ajanları uygulayarak kemik rejenerasyonunu incelemişlerdir. Geç dönem değerlendirmelerinde avitene, gelfoam ve cerrahinin uygulanan grupta yeni kemik formasyonu gördüklerini, bone wax'ın fibröz granülasyon dokusu, plazma hücreleri ve dev hücrelerle karakterize yoğun bir yabancı cisim reaksiyonuna neden olarak kemik rejenerasyonunu olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Howard ve ark. (8), köpeklerde oluşturdukları kemik defektlerinde jelatin sünger uygulamışlar ve jelatin süngerin kemik replasmanını engellediğini belirtmişlerdir.

Petersen ve ark. (3), yaptıkları klinik çalışmada jelatin süngerin iyileşmeyi az da olsa geçiktiren etkili bir hemostatik



Resim 5: Kortekse bitişik yoğun reaktif kemik oluşumu (Kontrol grubu 3. hafta, H.E x125).

ajan olduğu sonucuna varmışlardır.

Kollajen, kemik yapımının başlangıcında pıhtıyı tutarak trombositlerin biraraya gelmesine neden olur. Bu özelliğinden dolayı etkili bir hemostatik ajan olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (1,6). Yapılan biyolojik ve klinik çalışmalarda kollajenin yara iyileşmesinde olumlu rol oynadığı belirtilmiştir (4,11). Yapısal bir matriks proteini olarak kollajen doku tamirinde fizyolojik bir modülatör olarak etkili olmaktadır. Kollajen izisi arttırmakta, hücreler için eksik olan yeri doldurarak ve metabolizmalarını etkileyerek fibroblast proliferasyonunu sağlamaktadır Kollajenin yara onarımında rehber rolü olduğu da düşünülmektedir (9).

Micheletti ve ark. (10), yaptıkları klinik çalışmada kollajeni diş çekimlerinde, periodontal cerrahide, alveolitis tedavisinde ve oral cerrahide kullanmışlardır. Aynı araştırmacılar antikoagulan tedavisi görenlerde, von Willebrand hastalığı, Osler-Rendu-Weber hastalığında ve trombositopenisi olanlarda kollajeni tek başına veya fibrin yapıştırıcı ile birlikte kullanarak olumlu sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir.

Haasch ve ark. (11), sıçan tibialarında yaptıkları kemik defektlerinde sellüloz asetat ve doğal kollajen süngerini uygulamışlar ve doğal kollajen süngerin rezorbe olarak kemik iyileşmesini engellemediği, sellüloz asetatın ise yabancı cisim reaksiyonuna neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Vormolen ve ark (4), farklı hemostatik maddelerin kana-

ma kontrolündeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında kollajen süngerin hemostazı sağlama ve biyoyoumluluk açısından tercih edilebilecek en iyi topikal hemostatik ajan olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda, kollajen (osteovit) yerleştirilen kemik defektlerinde 7., 14. ve 21. gündeki gruplarda yabancı cisim granülasyon dokusuna rastlanmadı. Bu bulgular kollajenin biyoyoumlu bir materyal olduğunu ve kemik rejenerasyonunu olumsuz yönde etkilemediğini düşündürmektedir. Kollajen uygulanan grupta 21.günde, kollajen etrafında yeni kemik yapımının olduğu gözlemlendi. Çalışmamızın bulguları, kemik defektine kollajen yerleştirilen çalışmaların bulguları ile uygunluk göstermekteydi. Yeni kemik oluşumu göz önüne alınarak kontrol ve çalışma grubu karşılaştırıldığında, kollajen uygulanan çalışma grubunda kemik oluşumunda bir gecikme olmadığı saptandı.

Sonuç olarak kollajenin, kemik yapımını hızlandırıcı bir madde olmamakla birlikte hemostatik etkisi dolayısıyla kemik defektlerinde uygulanabilecek kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilemeyen, biyoyoumlu bir materyel olarak güvenle kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Coln D, Horton J, Ogden ME, Baja LM, Evaluation of hemostatic agents in experimental splenic laceration. Am J Surg 1983; 145: 256-259.
2. Mattson T, Anderssen K, Koendell PA, Lindskog S.A Longitudinal comparative histometric study of the biocompatibility of three local hemostatic agents. Int J Oral Maxillofac Surg 1990; 19: 47-50.
3. Petersen JIL, Krogsgaard J, Nielsen KM, Norgard EB. A comparison between two absorbable hemostatic agents: gelatin sponge (spongostan) and oxidized regenerated cellulose (surgicel). Int J Oral Surg 1984; 13: 406-410.
4. Vormolen JHC, Ringers J, Bots GIAM, VanDer HA, Hermans J. Hemostatic agents: Brain tissue reaction and effectiveness. A comparative animal study using collagen fleece and oxidized cellulose. Neurosurgery 1987; 20: 702-709.
5. Finn MD, Schow SR, Schneiderman ED. Osseous regeneration in the presence of four common hemostatic agents. J Oral Maxillofac Surg 1992; 50: 60-12.
6. Mannai C, Leake D, Pizzoterrato A, Ciapetti G, Sangiorgi C. Histologic evaluation of purified bovin tendon collagen sponge in tooth extraction sites in dogs. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986; 61: 313-323.
7. Guarlinck WC, Berg L, Gelfoam in oral surgery. Oral Surg 1948; 1: 632-9.
8. Howard PE, Wilson JW, Rible GA. Effects of gelatin sponge implantation in cancellous bone defects in dogs. JAMA 1988; 192: 633-637.
9. Mian M, Beghe F, Mian E. Collagen as a pharmacological approach in wound healing. Int J Tiss Reac 14 (Suppl) 1992; 1-9.
10. Micheletti G, Onorato I, Micheletti L. Heterologous, lyophilised non-denatured type-I collagen in dentistry. Int J Tiss Reac 14 (Suppl) 1992; 39-42.
11. Haasch GC, Gerstein H, Austin BP. Effects of two hemostatic agents on osseous healing. J Endodontics 1989; 15: 310-314.