Ekzojen Heparinin Rat Pulpa dokuları Üzerindeki Etkilerinin Histolojik ve Densitometrik Olarak İncelenmesi

Dr. T. Kuraner *, Dr. B Özçelik *, Dr. A. Serper *, Dr. G. Mocan **, Dr. E. Mümin *, Dr. M. Eryılmaz *****

ÖZET

Bu çalışmada ratlara 32 gün süreyle 2x2IU/gr. Na-Heparin subkütan olarak verildi. Deney başlangıcı ve bitiminde anterior diş pulpalarının densitometrik incelemesi yapıldı. Daha sonra dişler histopatolojik incelemeye alındı. Densitometrik analizde pulpada heparin sonrası yoğunluk miktarında artış gözlendi. Histolojik incelemede ise pulpada, kapiller proliferasyonu, konjesyon ve fibrozis olduğu gözlendi. Çevre kemik dokusunda ise dejenere kemik spikülleri ve rezorptif lakünalar olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler : Ekzojen heparin, internal dentinal rezorpsiyon

SUMMARY

In this study, 2x2IU/gr. Na-heparin was given to rats subcutaneously for 32 days. The densitometric analysis of the anterior teeth pulps were pre and post experimentally evaluated, then the teeth were histopathologically examined. The density of the pulp was increased after the heparin application. Capillary proliferation, congestion, and fibrosis was seen histologically in the pulp. The resorptive lacunae and degerenerative bone spiculae was seen on the peripheral bone tissue.

Key words: Exogeneous heparin, internal dentinal resoption

GİRİŞ

Mast hücreleri herhangi bir travmayla karşılaştığında, hücre yapıları bozulup yapılarındaki granüller çevre dokulara ve kan dolaşımına dağılır[1,2]. Endojen heparin de yine vücutta mast hücrelerinden salgılanan asit mukopolisakkarit yapısında bir medyatördür[3]. Organizmada açığa çıkan bu heparinin koagülasyon, lipit metabolizması ve mineral metabolizmasının regülasyonu üzerinde olumsuz etkileri, araştırmacılarca rapor edilmiştir[2,4,5]. Tromboembolik hastalıklar ve iskemik kalp hastalığı nedeniyle kronik ekzojen heparin uygulanmasında da yine benzer şekilde doza bağlı osteoporosis olduğu açıklanmıştır[6,7].

Kemikle benzer yapıda olan diş sert dokularından dentin ve semente ait rezorpsiyonlarda da kemik rezorpsiyonları ile aynı kimyasal değişiklikler meydana gelmektedir[8] Literatürde, osteoporozise neden olduğu bildirilen ekzojen heparin tedavisinin diş dokuları üzerindeki etkisine ait bir çalışmaya ise rastlanmamıştır.

Bu literatür bilgileri ışığında, çalışmamızda ratlarda ekzojen heparin uygulamasına bağlı pulpadaki değişiklikler histopatolojik ve densitometrik analizlerle incelenerek dentinde heparine bağlı rezopsiyon bulgularının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

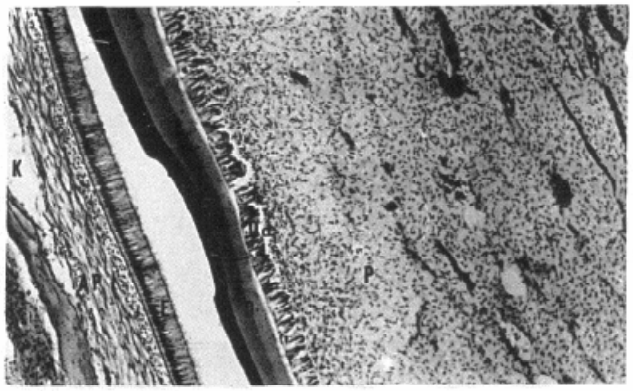
Bu çalışmaya toplam 13 adet ratla başlanmış olmasına rağmen heparinize edildikten sonra beşinin kaybı nedeniyle çalışmamız, ağırlıkları 20-250 gr. arasında olan 8 adet Swiss Albino ratları ile tamamlandı. Bunlardan üçü kontrol grubu olarak ayrıldı ve bu gruptaki ratlara heparin uygulanmadı. Diğer beş rat ise deney grubunu oluşturdu. Deney grubundaki ratlar heparinize edilmeden önce intramüsküler olarak uygulanan 15 mg/kg ketalar (Parke-Davis) ve 0.1 cc Rompun %2(bayer) ile anestezi altına alındı. Daha sonra Philip Tomoscan 350 modeli 3. jenerasyon tüm vücut bilgisayarlı tomografi cihazına karın üstü yatırıldı. Koronal pozisyonda 1.5 mm kesit kalınlığında, açı verilmeden ardarda, kesitler arasında boşluk bırakılmadan kayıtlar alındı. Alınan bu kayıtlarda yoğunluğun belirlenmesi için Hounsfield ünitesi olarak ölçümler yapıldı[9].

Deney öncesi başlangıç kayıtları alınan ratlara 32 gün süreyle günde iki kez olmak üzere 2 IU/gd Na-heparin (liquemine-Roche), subkütan olarak uygulandı. 32. günün sonunda aynen başlangıç kayıtlarının alınmasında olduğu gibi hayvanlar, benzer yöntemle anestezi altına alınarak bilgisayarlı tomografi tetkileri (BT) tekrarlandı.

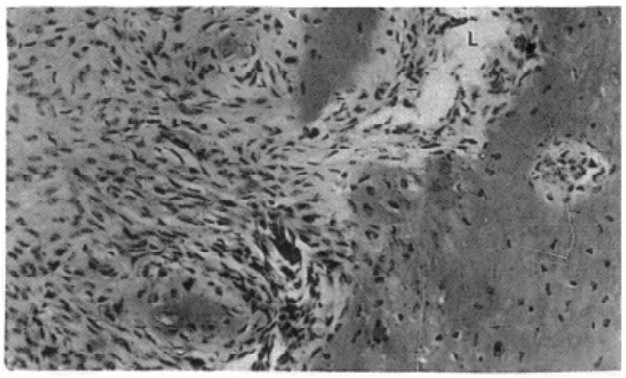
Na-Heparin enjeksiyonu öncesi ve sonrasında, karşılaştırma sırasında yanılgıyı azaltmak amacıyla BT kesitleri arasında pozisyon ve kesit düzlemi farklılığı olmaması için ilk kesitler alınırken başlangıç ve bitiş (orbita-dental hatta paralel) yerleri işaretlendi. Bu şekilde elde edilen başlagıç ve sonuç yoğunluk değerleri, karşılaştırmalı olarak değerlendirilmek üzere kaydedildi. Daha sonra hayvanlar, eter anestezisi ile öldürüldü.

Pulpa ve dentindeki histopatolojik değişiklikleri incelemek amacıyla ratların üst çeneleri göz tabanı hizasından çıkartılıp %10 luk formalin solüsyonunda fikse edildikten sonra Plank-Rychlo içerisinde dekalsifiye edildi. Daha sonra parafine gömülerek uzunlamasına kesitler alındı ve hematoksilen-eozinle boyandı. Hazırlanan preparatlar, ışık mikroskobunda incelendi.

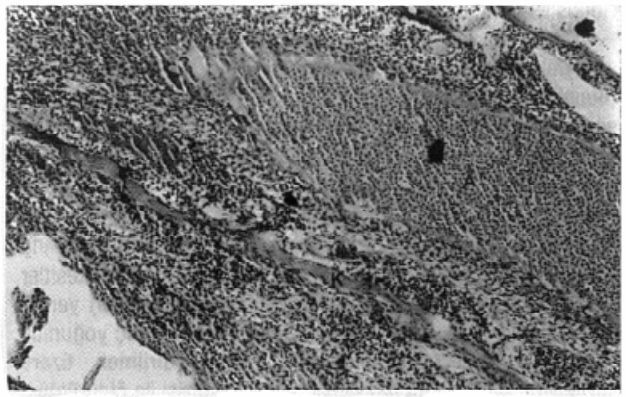
* Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Endodonti Bilim Dalı
** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
*** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı



Resim 1 : Pulpa (P), Odontoblast(Od), Dentin(D), Epitel (E), Alveolar Periost (AP) Kemik (K) Pulpada kapiller damar artımı, konjesyon ve fibroblastik proliferasyonx115



Resim 2 : Akut osteomiyelite tipik bir örnek: Kemikte dejenerasyon ve harabiyet (K), genişçe bir odakta abseleşme(A)x115



Resim 4a: Rat maksillasında laküner rezorbsiyon (L) ve osteoklast (okla işaretli)x230

BULGULAR

Histopatolojik tetkikde 32 gün süreyle heparinize edilmiş ratlardan alınan kesitlerde, pulpa ve diş sert dokuları incelendi. Pulpada, kapiller proliferasyonu, konjesyon ve fibrozis olduğu gözlendi. Epitel altında ise yoğun lenfoplazmositer iltihabi infiltrasyon ve fibrozis belirlendi.(Resim 1) Dentinde histolojik incelemede herhangi bir patolojik bulgu saptanmadı. Kemikte ise, fokal abse odakları akut osteomniyelit bulguları olarak ilikte yoğun polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve dejenere kemik spikülleri gözlendi.(Resim 2) Bazı örneklerde kemikte rezorbsiyon lakünaları ve bu lakünalar içinde osteoklast hücresi belirlendi.(Resim 3).

Densitometrik analiz ise pulpa dokusunda yapılmış olup bu analiz sonuçlarına göre kontrol grubunda herhangi bir değişiklik yokken, deney grubunda başlangıçta pulpada ortalama yoğunluk miktarı 515.8+14 iken ortalama son yoğunluk miktarı 778.4+32 olarak belirlendi.(Tablo 1) Resim 4-5)

TARTIŞMA

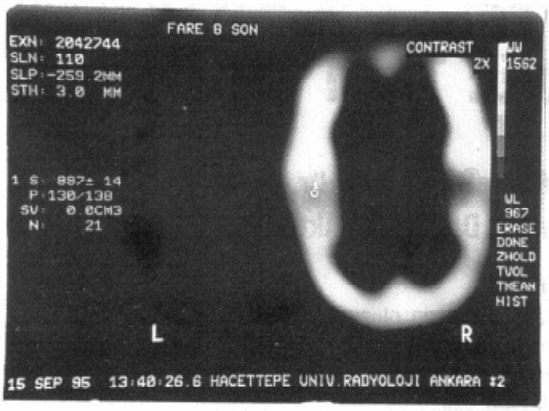
Antikoagülan etkisi nedeniyle tedavi amacıyla kullanılan heparinin yaygın olmamakla birlikte önemli bir komplikasyonu osteoporozistir[7,10,11,12]. Heparin nedeniyle meydana gelen osteoporozisin mekanizması hala tam kesinlik kazanmamakla birlikte Avioli[13] heparin bağımlı osteoporozisin muhtemel patofizyolojisinde dört mekanizmadan söz etmiştir. Bunlar osteoklast aktivitesi üzerine etkisi olan paratiroid hormonunun aktivasyonu, osteoblast aktivitesinde azalma, heparin ile ilişkili kollagenaz aktivitesi nedeniyle kemik rezorpsiyonunda artma, vitamin D metabolizmasındaki anomaliler olarak sıralanmıştır.

Diş sert dokularından dentinde internal rezorbsiyon adını alan dentinal rezorbsiyonlar da histokimyasal yapı yönünden kemikle benzerlik göstermekte olup, bu dokularda da rezorpsiyondan sorumlu osteoklast adı verilen çok çekirdekli dev hücreler şekillenir[8,14]. Bu nedenle çalışmamızda kemikte, dentinde ve dentin yapımından sorumlu olan pulpada ekzojen heparin uygulanmasına bağlı değişiklikler karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu incelemede, ekzojen heparin uygulanması sonrası kemikte süpürasyon gösteren osteomiyelit bulguları ve dejenere kemik spiküllerine rastlandı. Bazı örneklerde ise, rezorbsiyon lakünaları içinde osteoklast hücreleri gözlendi. Öte yandan, dentin dokusunda ise rezorbsiyon olduğuna dair herhangi bir histopatojik bulguya rastlanmadı. Pulpa dokusu, özelleşmiş bir bağ dokusu olup temel fonsiyonlarından biri dentin yapımıdır.Dentin dokusunda meydana gelen rezorbsiyonlarda, pulpa dokusundan gelişen odontoklastlar rol oynamaktadır[15]. Çalışmamızda, bu amaçla incelediğimiz pulpa dokusunda kapiller proliferasyonu, konjesyon ve fibrozis olduğu belirlendi. Hammarström ve Lindskog'a[16] göre, internal dentinal rezorbsiyonlarda önce intrapulpal hemoraji meydana gelmekte, daha sonra hemoraji granülasyon dokusu ile yer değiştirmektedir. Bu dokunun proliferasyonu, dentin duvarlarına baskı yaparak predentin formasyonunu durdurup, konnektif dokudan odontoklastların diferansiyasyonu ile rezorbsiyon başlamaktadır. Wedenberg ve Zetterqvist[17] daimi ve süt dişlerinde yaptıkları incelemede, aktif internal rezorbsiyonda daha çok lenfosit ve makrofajların bulunduğu çeşitli derecelerde inflamasyon olduğu ve kan damarlarının dilate olduğunu belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda pulpanın histopatolojik bulguları, bu araştırıcıların buguları ile benzerlik göstermekte olup, dilate kan damarları ve inflamasyon bulguları belirlenmiştir.

Densitometrik analizde, fibrozis halinde dokuda yoğunluk artışı olduğu belirtilmektir[16]. Bizim çalışmamızda da heparin



Resim 4 : Densitometrik analiz kayıtları



Resim 5 : Densitometrik analiz kayıtları

sonrası histolojik incelemede, fibrozisin belirlendiği pulpada densitometrik analizde yoğunluk artışı olduğu gözlenmiştir.

Bu bulgular ışığında, çalışmamızda pulpanın histopatolojik görünümü, internal rezorbsiyon bulguları ile benzerlik gösterdiğinden ve aynı zamanda densitometrik analizde de fibrozise bağlı yoğunluk artışı gözlendiğinden ekzojen heparinin dentinde rezorbsiyona yol açabileceği görüşündeyiz. Ancak, dentinde rezorbsiyona ait histopatolojik bulgular elde edilemediğinden, heparinin dentindeki rezorbtif etkisinin doza ve süreye bağlı olduğu görüşündeyiz.

Pulpada, internal rezorbsiyona ait ön bulgular olarak değerlendirebileceğimiz histopatolojik görünüm nedeniyle, ancak daha uzun süreli ekzojen heparin uygulanması ile dentindeki rezorbtif etkilerinin tam olarak belirlenebileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Gambardella RA, Mills B, Allerton SA. Enzymes in developing bone: Effects of heparin and parathyroid extract. IADR Abstracts 1972; 234:749.
2. Goth A. Medical Pharmacology, 8 th. ed. St. Louis : Mosby, 1976; 411.
3. Zachrisson BU, Schultz-Haudt SD. Biologically active substances of the mast cell. J. Periodontol. Res. 1967; 2:21.
4. Martin CR. Thymus gland and heparin influences on renal electrolyte excretion in male hooded rats. Gen. Comp. Endoc. 1970; 15: 339.
5. Crisp AJ, Chapman CM, Kirkham SE, Schiller AL- Krane SM. Articular mastocytosis in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1984, 27:845.
6. De Swiet M, Dorrington Ward P, Fidler J, Horsman A, Kartz D, Letsky E, "et al". Prolonged heparin therapy in pregnancy causes bone demineralization. Br. J. Obstet. Gyneocal 1983; 90: 1129.
7. Griffith GC, Nichols G., Asher G, Asher JD, Flanagan B. Heparin osteoporosis. J. Am. Med. Assoc. 1965; 193:91.
8. Seltzer S. Endodontology. Biologic considerations in endodontic procedures. 2nd ed. Philadelphia Lea and Febiger. 1988; 170.
9. Lange S, Grumme T, Kluge W, Ringel K, Meese W. Cerebral and spinal computerized tomography. 2 nd ed. Germany: Schering AG, 1989; 9.
10. Edeiken J, Dalinka M, Kasick D. Edeikens roentken diagnosis of disiases of bone: Volume II: Metabolic and dystrophic bone disease. 4 the ed. Baltimore U.S.A.: Willams & Wilkins, 1990; 1085.
11. Crisp AJ, Wright JK, Hazleman BL. Effects of heparin, histamine, and salmon calcitonin on mouse calvarial bone resorption. Ann. Rheum. Dis. 1986; 45:422.
12. Monreal M, Vinas L, Moneral L, Lavins S. Lafoz E, Angles AM,. Heparin-related osteoporosis in rats. Haemostasis 1990; 20-204.
13. Avioli LV. Heparin-induced osteoporosis: An appraisal. Adv. Exp. Med. Biol. 1975; 52:375.
14. Hasselgren G,, Strömberg T. Histochemical demonstration of acid hydrolase activity in internal dentinal resorption. Oral Surg. 1976; 42:381.
15. Trowbridge HD, Kim S. Pulp development structure and function. Cited in Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. 5 th ed. St. Lousis.; Mosby Year Book 1991; 308.
16. Hammarström L, Lindskog S. General morphologic aspects of resorption of teeth and alveolar bone. Int. Enrdod. J. 1985; 18: 293.
17. Wedenberg C, Zetterquvist. Internal resorption in human teeth - A histological, scanning electron microscopic, and enzyme histochemical study. J. Endodon. 1987; 13: 255.
18. Ambrose J. Computerized transverse axial scannnig (tomography): Part 2. Clinical application. Br. J. Radiol. 1973; 46: 1023.