

Etilen oksit gazı ile sterilize osteomyelitli kemiğin oto-greft olarak kullanılması

(Sıçanlar üzerinde deneysel çalışma)

N. Serdar Necmioğlu⁽¹⁾, Ahmet Kapukaya⁽¹⁾, Halil Bekler⁽¹⁾, Atiye Temiz⁽²⁾, Ayten Gezici⁽³⁾

Osteomyelit tedavisi için, enfekte kemiği çıkartıp, etilen oksit gazı ile sterilize ederek tekrar yerine implante edip, kemikteki gelişimi deneysel olarak takip etmek istedik. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma laboratuvarında yapılan bu çalışmada 20 adet sıçanın sağ tibia metafizleri saflaştırılmış stafilococcus aureus patojen bakterileri ile enfekte edildi. Deneysel olarak osteomyelit geliştirilen sıçanların enfekte bölgeleri segmenter olarak çıkartıldı, bazıları kontrol grubu olarak ayrıldı. Sekiz adedi etilen oksit gaz sterilizasyonu tabi tutuldular. Bir, üç, altıncı haftada radyolojik incelemeye alındılar. Altıncı haftanın sonunda histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Sterilize edilen greftinde enfeksiyon bulguları yokken yeterli kaynama kapasitesi oluşturmadığı tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Etilen oksit, osteomyelit

Using of the infected bone sterilizing with ethylene oxide, as an autograft

For treatment of osteomyelitis: The infected bone was taken out and sterilized with ethylene oxide. We implanted it back its place to use an autograft. In this study, metaphyses of right of 20 rats were infected with refined staphylococcus aureus, in the research laboratory of Medical Faculty of Dicle University. Contaminated regions of rats experimentally created osteomyelitis were taken out regional. After the control group was sepaşıoned, remainders (8 rats) were sterilized with ethylene oxide. Those were radiologically examined at 1st, 3rd and 6th weeks and histopatologically investigated in the end of the 6th week. We observed that, infection

Keywords: Ethylene oxide, osteomyelitis

Osteomyelit'in tarihçesi çok eskilere kadar gider, eski Mısır mummyalarında bile rastlanılan bu hastalık son zamanlardaki cerrahi ve kemoterapötik gelişmelerle daha az korkulacak bir hal almasına rağmen, Gilmour'a (1962) göre yıllardır değişmeden kalan az sayıda hastalıktan biridir (10).

Enfeksiyon tedavisinde, kemoterapi ve cerrahinin faydasız olduğu durumlarda, enfekte dokunun vücuttan uzaklaştırılması temel prensiptir. Ancak enfekte kemiklerin, appendiks veya tonsiller gibi vücuttan çıkartılması söz konusu olamayacağından tedavisi, sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu yüzden osteomyelitte enfekte kemiğin patojen organizmalardan tam olarak kurtarma yolları aranmakta ve kemiği steril etme isteği oluşmaktadır. Yaklaşık 100 yıl önce Seen (1889) antiseptik solüsyonlar kullanarak osteomyelit tedavisinde dekalsifiye olmuş kemiği tekrar implant olarak kullanmıştır (14).

Bizde bu görüşle yola çıkarak sıçanlarda deneysel olarak meydana getirilen osteomyelitli kemikleri etilen-oksit gazı ile steril ederek tekrar yerine implante edip gelişimini takip ettik. Sterilizasyon için bakterisid etkili olması ve steril edilmesi istenen maddelerin her tarafına nüfuz edebilmesi nedeniyle emniyetli olduğunu bildiğimiz Etilen-oksit gaz yöntemini tercih ettik.

Gereç ve yöntem

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarında üretilen ortalama 250 gr olan Spraque-Davley cinsi 20 adet sıçan kullanıldı. Bu sıçanların tümünün sağ tibia metafizleri drilize edilerek, medullarına saflaştırılmış Stafilococcus aureus solüsyonu inoküle edildi. 10 günden sonra sıçanlarda osteomyelit oluşumu ilk 15 gün içinde sintigrafik ve radyolojik olarak takip edildi (Şekil 1, 2).

Onbeşinci gün osteomyelit bulgusu veren 16 sıçanın preoperatif hazırlığı tamamlandıktan sonra 1.5 mg dozunda ketamin anestezisi ile uyutuldu. sıçanlar için hazırlanmış operasyon odasında enfekte tibia metafizleri segmenter olarak çıkarıldı. Sekiz tanesi kontrol grubu olarak ayrıldı. Diğer 8 fragman numaralandırılarak hastanemizde bulunan etilen oksit cihazıyla (Amsco-Portegas marka pre-vac sistem A. m-23) gaz sterilizasyonuna tabii tutuldu. Set ekspozüre süresi üç saat olan bu cihazla steril edildikten sonra aynı kemik boşluğuna Kirschner teli ile implante edildiler (Şekil 3).

Kontrol grubu olarak ayrılan sıçanlarda aynı aşamalara tabi tutuldular. Segmenter olarak aynı insizyonla çıkarılan segmenter tibia parçaları steril tamponlar içinde eşit süre de beklendikten sonra kendi yerlerine kirschnerle tespit edilip, cilt kapatıldı. Sıçan-

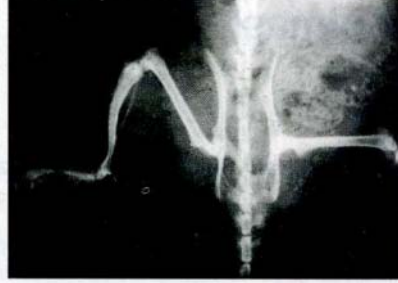
(1) Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Yard. Doç. Dr.

(2) Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Yard. Doç. Dr.

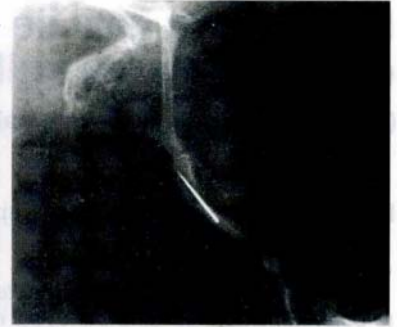
(3) Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Yard. Doç. Dr.



Şekil 1: Sağ tibia metafizleri enfekte edilmiş sıçanların 15 günde sintigrafik görünümü. Osteomyelit aktivasyonu gösteren up-take tutulumunda artış



Şekil 2: Sağ tibia metafizleri enfekte edilmiş sıçanların 15 günde radyolojik görünümü



Şekil 3: Steril edilen enfekte kemiğin yerine implante edilmiş durumu

ların hiçbirine post-operatif antibiyotik uygulaması yapılmadı. Yara pansumanları her iki grup içinde sadece betadine silme şekliydi. Sıçanların, birinci, üçüncü ve altıncı haftalarda grafileri çekildi. Altıncı haftanın sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek patolojik incelemeye alındı.

Sonuçlar

Enfekte edilen 20 sıçanın 4'ünde osteomyelit bulgusu alınmadığından çalışma dışında tutuldu. Ayrıca 2 sıçan'da internal materyalinin stabilizasyonun erken bozulması sonucu çalışma 14 sıçan ile tamamlandı. Bunların 8'i etilen oksit gazı ile sterilizasyona tabi tutuldular.

Radyolojik tanı sonuçları

Sıçanlarda osteomyelitin geliştiği 15. günde 1. radyografi 3. ve 6'ncı haftada ikinci ve üçüncü radyografik kontrolleri yapıldı.

I. grafilerde postoperatif sterilize edilen ve kontrol grubunun segmenter parçalarının tibialara tesbiti ile osteosentez materyalinin durumu incelendi. Bu radyografilerde osteomyelite bağlı kabul edilen lokal osteoporoz ve dekalsifikasyon bulguları mevcuttu (Şekil 3). Postoperatif 3. haftada kallus dokusu minimaldi. Sterilize edilen fragmanın adaptasyonu sekestr şeklinde ve rezorbsiyon başlamıştı.

6. haftada sterilize edilmiş segmenter parçalarda sekestrasyon belirgin hal almış, rezorbsiyonda ise artma vardı. Stabilité ve kaynama bulguları yeterli değildi (Şekil 4). 6. haftada sterilize edilmemiş segmenter parçalarda ise kemik enfeksiyonuna bağlı kabul edilen, nekroz ve kemik kalitesinde sklerozla beraber yer yer yumuşama ile rezorbsiyon mevcuttu (Şekil 5)

Makroskopik görünüm: Klinik olarak sağ tibiasında osteomyelit gelişen sıçanlar ekstremitelerinin üzerine yük veremediler ve üç sıçanda fistül gözlemlendi.

Mikroskopi: 6. haftada sakrifiye edilen sıçanlarda elde edilen oto-greftlerin histopatolojik incelenmesinde etilen oksit gazı ile steril edilmiş grupta; aseptik nekroza uğramış lakünalar arasında boşalmış kemik dokusu, bunlara bitişik yeni oluşan kıkırdak dokusu, yer yer osteoblastlar izlenmekteyken, iltihabi hücrelere rastlanılmadı (Şekil 6). Greft olarak kullanılmış grupta sekestrize kemik spikülleri arasında yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu, fibroblastik aktivite ve damar kesitleri görüldü (Şekil 7)

Tartışma

Enfeksiyon veya başka nedenlerle oluşan kemik defektleri yerine rejenerasyon kapasitesi olan kemik grefti, kullanılmaya düşüncesi Hipokrat'a kadar uzanmaktadır (14).



Şekil 4: Altıncı haftada, sterilize edilmiş segmenter parçanın görünümü



Şekil 5: Kontrol grubunda 6. haftanın sonunda görünüm



Şekil 6: Sterilize edilmiş segmenter parçanın mikroskopik görünümü. Aseptik nekroza uğrayan lakünalar, buna bitişik yeni oluşmuş kıkırdak dokusu görünümü



Şekil 7: Kontrol grubunun mikroskopik görünümü (H. E. -41)
Sekestirize kemik spikülleri arasında yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu

Kemik grefti değişik amaçlarla yıllar içinde geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Osteomyelitli kemiğe eksize ederek yerine otojen greft kullanımı mümkün olabileceği özellikle çocuklarda geniş miktarda otoplast temini güçtür. Bunun yanında morbiditeyi (ağrı, yara problemi, kozmetik görünüm ve enfeksiyon) artırması ve defektif bölgenin optimal şekilde doldurulması çok kısıtlıdır (2, 6).

Otoplast yerine allograft düşünüldüğünde; bulunmasındaki güçlük yanında diğer doku transplantasyonlarında olduğu gibi immunolojik komplikasyonların mevcudiyeti kıymetini azaltmaktadır (3, 6, 7, 15).

Canlı dokudan ayrılan tüm kemik greftleri canlılığını yitirmektedirler. Ancak kemiğin tekrar rejenerasyonuna büyük katkıları vardır. Bunları osteogenezis, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon temel mekanizmaları ile yapmaktadır (1, 3, 6, 11, 14).

Tüm sterilizasyon yapan madde ve cihazlarda olduğu gibi etilen-oksit gazı ile sterilizasyonda da osteogenezis tamamen bozulmaktadır (9). Osteoinduktivite ise, ki bu olay konnektif doku hücrelerinin kemik oluşturan hücreler haline dönüşmesidir. Bu olayda induktivite stümlatörleri ve lokal büyüme faktörleri identifiye edilmişlerdir (transforming growth factors (T. G. F), bone-derived growth factor, cartilage-derived growth factor) (6, 9, 13, 14). Kemiklerin etilen-oksit gazı ile sterilizasyonu esnasında TGF'nin inaktive olmasına rağmen total şekilde azalma olmamıştır. Yine osteoinduktivite de rol alan morfogenetik proteinin, etilen oksit gazı ile sterilizasyonda azaldığı görülmüştür (6). Bu yöndeki diğer çalışmalarda ise biyomekanik olarak etilen oksit gazı ile steril edilen kemiklerde kemiğin kompresyon gücünde zayıflama bulunmuştur (2, 12). Etilen oksit gazı ile sterilizasyonda ısınma anında, kemikte hücresele düzeyde viskozitenin azalması ve membran filtrasyonda bozulma meydana gelmektedir. Buna rağmen bazı araştırmacılar kemik oluşumunda etilen oksit gazı ile steril edilmiş greftlerin kullanılabilmesi söylemişlerdir (8, 9).

Etilen oksit gazı ile sterilizasyonun avantajları; dokunun tamamen steril olmasının (HIV dahil) yanında, sterilize edilen bu dokuların kullanılmasının vücutta toksik etki yaratmamasıdır (4, 5, 16).

Çalışmamızda osteomyelitli kemiği steril edip greft olarak kullandığımızda, greftin osteogenezis ve osteoinduktivite kapasitesini, ancak osteokonduktivite yönünden; yani osteojenik hücreler ve induktivite stimülasyonu olmadan kemik oluşturan komponentlere yatak oluşturmaları ve hücre göçü ile revaskülarizasyon sağlayarak yeni oluşacak kallus dokusu için iyi bir zemin oluşturduğunu gözledik.

Kaynaklar

1. Glowacki, J., Mullike, J. B.: Demineralized bone implants Clin. Plast. Surg. 12, 233-238, 1985.
2. Harron, L. D., Dewman, M. H.: The failure of ethylene oxide gas sterilized freeze dried bone graft for thoracic and lumbal spinal fusion. Spine (5): 496-500, 1989.
3. Horowitz, M. C., Friendlaender, G. E.: Immunologic aspects of bone transplantation. Ort. Clin. North. Am. Vol. 18 No. 2, 155-165, 1987.
4. Kearny, J. N., Franklin, U. C., Aguirrecoicoa, V.: Evaluation of ethylene oxide sterilization of tissue implants. J Hosp-infect, Jan. 13 (1): 71-80, 1989.
5. Kudryk, V. L., Scheidt, M. J., Mc Quade, M. J.: Toxic effect of ethylene-oxide-sterilized freeze-dried bone allograft on human gingival fibroblasts. J. Biomed. Mater-Res. Nov. 26 (11): 1477-88. 1992.
6. Lane, J. M., Sandhu, H. S.: Current approaches to experimental bone grafting: Orthop. Clin. North. Am. Vol. 18, No. 2, 213-226, 1987.
7. Langer, F., Czitrion, A., Pritzker, K. P.: The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone. J. Bone Joint Surg. 57-A: 216-219, 1975.
8. Moore, T. M., Artel, R., Arenas, M.: Influence of postmortem time and temperature on osteoinductive activity of demineralized. Micro perforated ethylene oxide sterilized. Syngeneic bone implant in the rat. Clin Orthop. Oct. 259: 239-44, 1990.
9. Munting, E., Wilnart, J. F., Wijne, A.: Effect of sterilization on osteo induction. Acta Orthop. Scand. Feb. 59 (1): 34-8, 1988.
10. Nade, S.: Acute Haematogenous osteomyelitis in infancy and childhood. J. Bone Joint Surg. 65-B: No. 2, 109-119, 1983.
11. Nade, S.: Osteogenesis after bone and bone marrow transplantation. Acta Orthop. Scand. 48, 572-576, 1977.
12. Pelker, R. R., Friendlaender, G. E.: Biomechanical aspects of bone autografts and allografts. Orthop. Clin of North. America, Vol. 18, No. 2, 235-239, 1987.
13. Puolakkainen, P. A., Ranchal, J. F., Strong, D. M.: The effect of sterilization on transforming growth factor beta isolated from demineralized human bone: Transfusion, Aug. 33 (87): 679-85, 1993.
14. Reddi, A. H., Weintraub, S., Muthukumar, N.: Biologic Principles of bone Induction Orth. Clin. North. Am. Vol. 18, No. 2, 207-212, 1987.
15. Wangerin, K., Ewers, R., Bumann, A.: Behavior of differently sterilized allogenic lyophilized cartilage implants in dogs. J Oral. Maxillofac-Surg. March 45 (3) 236-42, 1987.
16. Zisis, T., Martin, S. A., Cerbas, E.: A scanning electron microscopic study of in vitro toxicity of ethylene oxide sterilized bone repair materials. J. Oral Implantol, 15 (1) 41-46, 1989.

Yazışma adresi:

Yard. Doç. Dr. N. Serdar Necmioğlu

Dicle Üniv. Tıp Fakültesi

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Diyarbakır, Türkiye