

SIÇANLARDA KALVARYA DEFEKTLERİNDE KORAL GREFT MATERYALİNİN İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Altan DOĞAN*, t. Levent TANER**,
Atilla ÖZDEMİR***, Koksal BALOŞ****

ÖZET

Bu araştırma sıçanlarda kalvarya defektlerinde koral greft materyalinin (Biocoral 450 — Inoteb, France) kemikleşmeye etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır. 10 adet albino sıçan üzerinde gerçekleştirilen çalışmada parietal kemiklerde oluşturulan cerrahi defektlerden yarısına Biocoral implantasyonu yapılırken diğer yarısına herhangi bir greft uygulaması yapılmamış ve kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hayvanlar 30 gün sonra öldürülerek ilgili bölgelerden blok biopsiler alınmış, elde edilen kesitler rutin histopatolojik işlemlerden geçirilerek Hematoksilen ve Eosin boyasıyla boyanmıştır. Daha sonra ışık mikroskopunda yapılan değerlendirmede her iki grupta da kemik defekt kenarlarında osteoblastik aktivitenin bulunduğu ancak defektlerden hiç birinin yeni kemikle dolmadığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Kemik Rejenerasyonu, Koral Greft Materyali.

SUMMARY

EFFECT OF CORAL GRAFT MATERIAL ON HEALING IN RATS

This study was undertaken to evaluate the regenerative potential of a coral graft material in calvarial defects in 10 albino rats.

- (*) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Dr. Dt.
(**) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Doç. Dr.
(***) GATA Dişhek. Bil. Merk. Periodontoloji Bilim Dalı Yrd. Doç. Dr.
(****) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Prof. Dr.

After creating circular bone defects on parietal bones, one half of the defects were filled with coral graft material (Biocoral 450-Inoteb, France) whereas other half was left ungrafted and used as control. Animals were sacrificed 30 days after implantation and block biopsies were taken from the related areas. Rutin histopathological procedures were performed and sections were stained with Hematoxylin and Eosin. Evaluations were made under light microscopy. Although limited osteoblastic activity was seen at the margins of the defects no bone fill was observed in the defects.

Key Words : Bone Regeneration, Coral Graft Material.

GİRİŞ

Kalsiyum karbonat esaslı olan koral greft materyalinin iç poröz yapısı kemiğe benzemektedir ve mikroporöz yapısı kemik depolanmasına ve vasküler gelişmeye izin veren yaklaşık 200 um çapında interkonekte porlardan oluşmuştur (11). Koral greft materyali biyokompatibilitesi, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından periodontal, mandibuler ve diğer kemik defektlerinin tamirinde osteokondüktif bir materyal olarak kullanılmaktadır (6, 12). Ancak bugüne kadar yapılan çalışmalarda materyalin osteojenik aktivitesini daha objektif inceleme olanağı sağlayan kalvarial defektlerde kullanılmadığı görülmüştür (5, 10). Bu araştırma sıçanlarda ömür boyu yeni kemik oluşumuyla dolmayan kalvaryaya defektlerinde Biocoral'in kemikleşmeye etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METHOD

Araştırma 10 adet albino sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Eter inhalasyonu ile genel anestezi altına alınan sıçanların kafatası tüyleri uzaklaştırıldıktan sonra dermiş üzerinde orta hattan geçecek şekilde düz insizyon yapıldı. Deri ve periost elevatör yardımıyla dissekte edilerek parietal kemikler açığa çıkartıldı. Her iki tarafta parietal kemiklerde, trefin frez yardımıyla salin irrigasyonu altında 4 mm çapında ikişer sirküler kemik defekti oluşturuldu. Bu şekilde oluşturulan defeklerden yarısı defekt başına ortalama 50 mg koral greft materyaliyle (Biocoral 450) doldurulurken diğer yarı-

sına herhangi bir greft uygulaması yapılmayarak boş bırakıldığı ve kontrol grubu olarak kullanıldı. Hayvanlardan bir kısmı bu işlemler sırasında duramaterin perfore olması nedeniyle operasyon masasında kaybedildi. Postoperatif 30. günde dekapite edilen sıçanların kafatasları üzerlerindeki deriyle birlikte çıkartılarak % 10'luk formalin solüsyonuna konuldu. Tespit ve dekalsifikasyon işlemleri sırasında bazı örneklerde deri dokusunun uzaklaştığı görüldü. Dekalsifiye edilen örnekler bir gece akarsu altında yıkandıktan sonra rutin doku takibine alındı. Parafine gömülen dokulardan 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alınarak Hematoksilen ve Eosin ile boyandı. Değerlendirmeler ışık mikroskobunda yapıldı.

BULGULAR

Biocoral Grubu

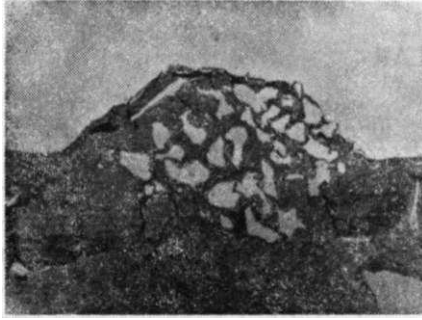
Histopatolojik değerlendirmelerde, dekalsifikasyona bağlı olarak Biocoral partiküllerinin tamamen uzaklaştığı ve geride partikül boşluklarının kaldığı görüldü. Tüm örneklerde defekt tabanını oluşturan ve kortikal plağa ait kemik tabakasının koparak ayrıldığı ve üzerinde kompakt halde Biocoral partikül boşluklarının yer aldığı izlendi (Resim 1). Gerek implantasyon bölgesi gerekse kemik üzerindeki subkutan dokularda yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu görüldü. Bir örnekte bu tabloya şiddetli ödem ve kanama eklenmişti. Bazı kesitlerde implantasyon alanına komşu deri yumuşak dokusunda nekroz ve yüzeyde ülserasyon dikkati çekti. Bir örnek dışında genelde dağılmadan kompakt halde izlenen partikül boşlukları arasında fokal mononükleer iltihab hücresi toplulukları içeren fibrovasküler doku izlendi. Bazı örneklerde mikroapseler gözlemlendi. Partikül boşluklarıyla bunları çevreleyen fibrovasküler doku ara yüzünde çok çekirdekli dev hücrelerinin uzandığı dikkati çekti. Bazı partikül boşlukları çevresinde Biocoral'i parçalayarak sitoplazması içine alan dev hücrelerin sinsityal dizelenme gösterdikleri ve dolayısıyla dantela benzeri veya ağ benzeri görünüme neden oldukları izlendi (Resim 2). Partiküller komşuluğunda yeni kemik veya osteoid yapımı saptanmadı.

Bazı kesitlerde defekt boşluğu yan duvarlarından boşluğa doğru ilerleyen yeni kemik yapımı izlendi. Özellikle kemiğin iç kortikal plağının yeni kemikle kalınlaşarak açık kalan defekt tabanını-

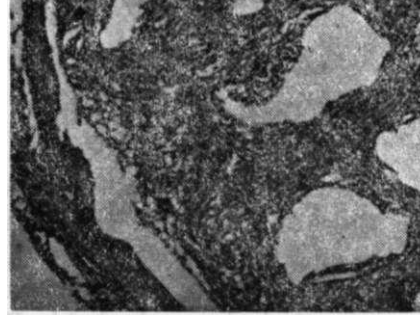
dan boşluğa doğru uzandığı dikkati çekti (Resim 3). Bir örnekte partiküllerin kemiğin iç yüzeyi boyunca dağıldıkları ve dev hücrelerce çevrelendikleri görüldü.

Kontrol Grubu

Bazı örneklerde deride ülserasyon ve yoğun iltihab izlendi. Bu örneklerde defekt boşluğunun iltihabi hücre infiltrasyonu gösteren ödemli doku ile dolduğu ve defekt tabanında yeni kemik yapımının olmadığı görüldü (Resim 4). Ülserasyonun olmadığı ve mi-



Resim 1. Biocoral grubunda implantasyon bölgesinde iç kortikal plakta kırılma ve kompakt halde partikül boşlukları (Hematoksilen ve Eosin - H & E x 40).

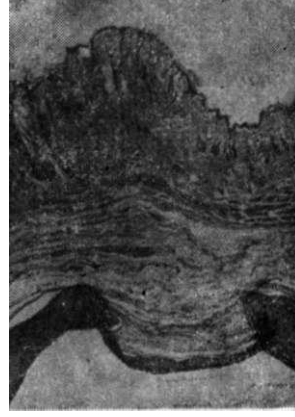


Resim 2. Biocoral grubu. Partikül boşlukları çevresinde yabancı cisim parçalaması gösteren sinsiyal dizimde dev hücreleri (H & E x 200).

nimal hücre infiltrasyonunun bulunduğu örneklerde defekt boşluğunu çevreleyen kemik duvarlarında osteojenik aktivitenin bulunduğu izlendi (Resim 5). Defekt yan duvarlarından gelişen periostal bağ dokunun defekt boşluğu üzerinde uzandığı dikkati çekti. Bir örnekte defekt tabanında yer alması gereken orijinal kemiğin bulunmadığı, bunun yerine, bazıları matür kemik fragmanlarını çevreleyecek biçimde yeni oluşmuş kemik adacıklarının kısmen defekt tabanını döşediği görüldü. Birçok kesitte özellikle iç kortikal plağın tabanı defekt hizasında, tepesi defekten uzak noktada bir üçgen oluşturacak şekilde belirgin bir kalınlaşma gösterdiği izlendi. Kalvaryada defektlerinde genelde defekt tabanını döşeyen kemik lamelinin kopmadan yerinde durduğu görüldü (Resim 6).



Resim 3. Biocoral grubu ödemli, iltihabı özellikteki implantasyon alanı içine uzanan yeni kemik dokusu (ok) (H & E x 100).



Resim 4. Kontrol grubu. Defekt alanının panoramik görünümü (H & E x 40).



Resim 5. Kontrol grubu. Defekt yan duvarlarından defekt boşluğuna doğru uzanan yeni kemik (ok) (H & E x 200).



Resim 6. Kontrol grubu. Kalvaryal kemiğin iç tarafında yeni kemikle kalınlaşma ve eski kemik fragmanlarının yeni kemikle sarılması (ok) (H & E x 100).

TARTIŞMA

Sentetik greft materyalleri sıklıkla kemik defektlerinin cerrahi tedavisinde kullanılmaktadır. Son yıllarda mercan iskeletinden (Porites genus) elde edilen koral greft materyalleri kemik birikimine basamak oluşturan mikroporöz yapısı ve dokular tarafından kabul görmesi nedeniyle sert dokuların tamirinde kullanılmaya başlanmıştır (1, 3, 6, 7, 12). Daha önce yapılan çalışmalarda kemik defektlerine implante edilen Biocoral'in osteoklastlar tarafından kademe kademe rezorbe edilerek yerini yeni oluşan kemiğe terk ettiği gösterilmiştir (6). Kemik gelişimi greftin çevresindeki komşu kemik yüzeylerinden başlamakta ve 6-12 ay içinde yeni kemik koralin iç kanal yapısını doldurmaktadır (6, 11). İn vitro çalışmalarda, osteoblast kültüründe inkübe edilen koral partikülleri üzerinde kemik nodul formasyonunun olduğu görülmüştür (9). İmplant çevresinde kemik gelişimi için materyalin kemiğe teması şarttır. Doğrudan yumuşak doku içine implante edilen koral partikülleri çevresinde yeni kemik oluşumunun görülmediği ve materyalin osteoindüktif potansiyelinin bulunmadığı anlaşılmıştır (2, 4).

Bu çalışmada da sıçanlarda cerrahi olarak oluşturulmuş kalvaryaya defektlerine implante edilen Biocoral'in kemikleşmeye etkisi incelenmiştir. Trefan frezler yardımıyla parietal kemiklerde oluşturulan silindirik kemik defektlerinin ne kontrol grubu örneklerinde ne de Biocoral implante edilen örneklerde kemikle dolmadığı gözlenmiştir. Araştırmada bu modelin seçilmesinin amacı kafatası kemiklerinin osteojenik aktivitesinin düşük olması ve bir stimülasyon olmadan defektlerin yeni kemikle dolmamasıdır (5, 10). Genellikle kemik tamirini değerlendirmek için seçilen modellerde kontrol defektlerinin herhangi bir indüktif materyal konmadan kendiliğinden dolduğu saptanmıştır. Kemik defektlerinde oluşacak iyileşmenin miktarı defektin boyutlarına bağlıdır ve spontan iyileşmenin engellenmesi için defektin yeterince büyük olması gerekmektedir. Bu durumun sağlanması kullanılan greft veya implantın osteojenik potansiyelini dah net bir şekilde değerlendirme fırsatı vermektedir. Membranöz kemikleşmeyle oluşan kalvaryada, defektler spontan olarak kapanma eğilimi göstermezler (10). Spontan rejenerasyon göstermeyen bu tip defektlere kritik boyutlu defekt (critical sized defect) denmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda sıçanlarda parietal kemiklerde çeşitli çaplarda (2 ile 8 mm ara-

sında) oluşturulan defektlerin spontan olarak yeni kemikle kapanmadığı görülmüş ve bu durum kafatası kemiklerinin zayıf kan dolaşımı desteğine ve nisbeten daha az kemik iliğine sahip olmalarına bağlanmıştır (2, 10). Doll ve ark. sıçanlarda oluşturdukları kalvaryaya defektlerinde koral esaslı hidroksiapatit ve demineralize kemik matriksini tek başına veya indüktif bir protein olan osteogenin ile kombine olarak kullanmışlardır (2). Radyografik ve histolojik incelemelerde tek başlarına implante edilen greft materyallerinin kemik dolmasına neden olmadığı ancak osteogeninle kombine edildiğinde rejenerasyonun gerçekleştiği saptanmıştır. Çalışmamızda da her iki gruba ait örneklerde literatürle uyumlu olarak defekt kenarlarında az miktarda kemik formasyonu görülmüştür. Ancak defekt içinde saptadığımız iltihabi reaksiyon iyileşmenin fibröz bağdoku formasyonu ile oluşacağını düşündürmektedir. Yine elde edilen bulgularda duramaterden gelen osteoblastik aktivite dikkati çekmiştir. Nitekim defekt tabanını döşeyen duramater kolajen ve elastik liflerden zengin olmasının yanı sıra osteoblastik özellikte mezenşimal hücreler de içermektedir (8).

Kemik ve kemikle ilgili dokulara implante edilen Biocoral'e karşı iltihabi veya yabancı cisim reaksiyonunun saptanmadığı ve materyalin osteoklastik aktiviteyle rezorbe edilirken yerini yeni kemiğe bıraktığı bildirilmiştir (6). Ancak araştırmamızda greft materyali çevresinde herhangi bir osteoklastik veya osteoblastik aktivite gözlenmemiştir. Daha çok yoğun iltihabi reaksiyona bağlı yabancı cisim dev hücrelerinin greft materyali çevresinde dizilerek onu rezorbe etmeye çalıştıkları saptanmıştır. Bölgedeki bu yoğun iltihabi reaksiyon duramaterin zedelenmesi veya yaranın enfekte olması sonucu ortaya çıkmış olabilir. İyileşme sırasında akut iltihabi fazın uzun sürmesine bağlı olarak reperatif faza geçişte gecikmeler ortaya çıkabilir. Yoğun iltihabi reaksiyon yanında defekt bölgesini saran kemiğin ince olması da osteojenik potansiyeli etkilemektedir. Çalışmada genellikle defekt bölgesindeki alt kortikal plağın ya tamamen ortadan kaldırılmış olduğu ya da koparak yan duvarlardan ayrıldığı gözlenmiştir. Çevre dokulardan ayrılan ve beslenmesi bozulan alt kortikal kemikteki dejeneratif değişiklikler veya belki de sekesterizasyon nedeniyle yabancı cisim dev hücre reaksiyonu meydana gelmiş, bu arada bölgedeki Biocoral granülleri bu iltihabi reaksiyondan dolayı olarak etkilenmiştir.

KAVARYA DEFEKTLERİNDE BIOCORAL'IN ETKİSİ

Bu çalışmadan elde edilen bulguların ışığında koral greft materyalinin osteokondüktif özelliğe sahip bir greft olduğu, kullanılan defekt modelinin, cerrahi prensiplere maksimum uyulduğunda ve çok hassas bir manipilasyon eşliğinde greft materyallerinin osteojenik potansiyellerinin incelenmesinde uygun bir model olduğu ve ayrıca bu defektlerde bir indüksiyon olmadan spontan iyileşmenin oluşmadığı söylenebilir. Ancak defektlerin oluşturulması sırasında hayvanların fazla travmatize edilmesi, duramaterin perforasyonu olması, defektlerin beyine yakınlığı nedeniyle oluşabilecek enfeksiyonların hayvanların ölümüne neden olması gibi komplikasyonları da yanında getirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Block, M.S., Kent, J.N., Ardoin, R.C., Davanport, W. : Mandibular augmentation in dogs with hydroxyapatite combined with demineralized bone. J. Oral Maxillofac. Surg.. 45 : 414-420, 1987.
2. Doll, B.A., To.vle. H.J., Hollinger, J.O., Reddi, A.H., Mellonig, J.T. : The osteogenic potential of two composite graft systems using osteogenin. J. Periodontol., 61 : 745-750, 1990
3. El Deeb, M., Hosny, M., Sharawy, M. : Osteogenesis in composite Grafts of allogenic demineralized bone powder and porous hydroxyapatite. J. Oral Maxillofac. Surg.. 47 : 50-56, 1989.
4. Glass, A.D., Mellonig, J.T., Towle, H.J. : Histologic evaluation of bone inductive proteins complexed with coralline hydroxyapatite in an extraskelatal site of the rat. J. Periodontol., 60 : 121-126, 1989.
5. Glowacki, J., Altobelli, D., Mulliken, J.B. : Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. Calcif. Tissue Int., 33 : 71. 1981.
6. Guillemin, G., Meunier, A., Dallant, P., Christel, P., Pouliquen, J-C., Sedel, L. : Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities. J. Biomed. Mater. Res., 23 : 765-779, 1989.
7. Moscow, B.S., Lubarr, A. : Histological assessment of human periodontal defect after hydroxyapatite ceramic implantation. Report of a case. J. Periodontol., 54 : 455-462, 1983.

8. Ramsay. D.A., Robertson, D.M. : Meninges and their reaction to injury. Davis, R.L., Robertson, D.M. [Eds.] : Textbook of neuropathology. Williams & Wilkins, Philadelphia, 2nd edition, 167, 1991.
9. Sautier. J.M., Nefussi, J.R., Boulekbache, H., Forest, N. : In vitro bone formation on coral granules. In Vitro Celi Dev. Biol., 26 : 1079-1085, 1990.
10. Schmitz, J.P., Hollinger, J.O. : The critical sized defects as an experimental model for craniomandibular nonunions. Clin. Orthop.. 205 : 299-308, 1986.
11. Tencer, A.F., Mooney, V., Brown, K.L., Silva, P.A. : Compressive properties of polymer coated synthetic hydroxylapatite for bone grafting. J. Biomed. Mater. Res., 19 : 957-969, 1989.
12. West. T.L., Brustein, D.D. : Freezed-dried bone and coralline implants compared in the dogs. J. Periodontol.. 56 : 348-351, 1985.