

ÜÇ FARKLI HEMOSTATİK MADDENİN DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNDEKİ (SIÇAN TİBİA) DOKU UYUMLULUĞU VE KEMİK İYİLEŞMESİNİN ERKEN DÖNEMİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Sami Yıldırım¹ Vakur Olgaç² Sel Yıldırım³
Hakan Özyuvacı⁴ A. Bülent Katipoğlu⁴

Yayın kuruluşuna teslim tarihi : 28. 3. 1994
Yayın kuruluşuna kabul tarihi : 3. 5. 1994

ABSTRACT

A HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION AND COMPARISON OF THE BIOCOMPATIBILITY OF THREE DIFFERENT HEMOSTATIC AGENTS IN THE EARLY STAGE HEALING OF EXPERIMENTAL BONE DEFECTS

In this study, the effects of three different hemostatic agents in the early stage of healing of experimental bone defects and their biocompatibility were compared. Four bone defects were prepared simetrically in Wistar albino rat tibias, aged 4-6 months. Bonewax, spongostan, surgical, were placed in three defects respectively, while the fourth one was allowed to fill with blood to serve as the control. After histopathological evaluation, it was found that surgical and spongostan were more biocompatible when compared with bonewax. However, it was concluded that all of the materials had negative effects in the early stage of healing.

Key words: Bonewax, surgical, spongostan, biocompatibility, bone healing.

ÖZET

Bu çalışmada üç farklı hemostatik maddenin biokompatibilitesi ve kemik iyileşmesinin erken dönemindeki etkileri incelenmiştir. 4-6 aylık Wistar albino sıçanlarının tibialarına simetrik olarak dört defekt oluşturulmuş ve içlerine bonewax, spongostan ve surgical yerleştirilmiş, bir defekt kontrol için boş bırakılmıştır. Yapılan histopatolojik tetkikler sonucunda spongostan ve surgical'in bonewax'a oranla daha fazla biokompatibl olduğu görülmüştür, ancak her üç materyalin de iyileşmenin erken döneminde olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Bonewax, surgical, spongostan, doku uyumu, kemik iyileşmesi

GİRİŞ

Cerrahinin tüm dallarındaki uygulamalar sırasında karşılaşılabilen en önemli sorunların başında kanama gelmektedir. Kontrol altına alınamayan kanamalar ameliyat sahasını kapatıp görüşü engelleyebilmekte, komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olabilmekte; hatta hastanın hayatını tehdit edebilmektedir. Bu derece önemli bir komplikasyonun kaynağının gerek zaman kaybedilmeden belirlenmesi, gerekse uygun yöntemlerle ortadan kaldırılması aynı derecede önem taşımaktadır. Kemikten kaynağını alan kanamaların durdurulması için uygulanabilecek

yöntemlerden biri kanayan bölgeye hemostatik maddelerin yerleştirilmesidir (3, 4, 6, 10, 13). Pıhtının oluşumu için bir matris görevi gören hemostatik materyaller ilk önce nöroşirürjide daha sonra cerrahi uygulamaların tümünde kullanılmaya başlamıştır (3, 5, 6, 7). Hemostatiklerin esas kullanım amaçları hemostazı sağlamasıdır. Bunun yanında rezorbe olabilmesi ve kemik rejenerasyonuna engel olmaması materyalde aranan özelliklerin başında gelmektedir (4). Kullanımda çok çeşitli hemostatiklerin bulunması ve ayrıca literatürde bazı hemostatik maddelerin yara iyileştirmesini olumsuz yönde etkilediğine ilişkin bilgilerin olması, bu maddelerin seçimini zorlaştırmaktadır

1 Doç. Dr. İ Ü Diş Hek Fak Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

2 Dt İ Ü Tıp Fakültesi Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi Bilim Dalı

3 Dt İ Ü Diş Hek Fak Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

4 Dr İ Ü Diş Hek Fak Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

(1, 4, 8, 10, 12, 13, 14). Günümüze kadar hemostatiklerle ilgili deneysel ve klinik çalışmaların çoğunda materyallerin hemostatik etkileri araştırılmış, dokuda oluşabilecek iltihabi reaksiyon ve kemik rejenerasyonu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar kısıtlı sayıda kalmıştır (4).

Bu çalışmada sıçan tibialarında oluşturulan kemik defektlerine, lokal hemostatik maddeler grubundan olan bonewax*, surgical** ve spongostan*** yerleştirilerek, kemik iyileşmesinin erken dönemine olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılarak araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda 16 adet, 4-6 aylık, 200±50 gr ağırlığında erkek Wistar albino sıçanları kullanıldı. Eter anestezisi altında sağ ve sol bacağın medial yüzünde, ciltte yaklaşık 3 cm uzunluğunda longitudinal ensizyonlar yapılarak periostu da içeren disseksiyonlar yapıldı. Daha sonra düşük devirde rond frez (0.14 Meisinger) ile serum fizyolojik soğutması ve irrigasyonu altında 5 mm aralıklarla 3 er mm uzunluğunda korteksten medullaya uzanan defektler oluşturuldu. Sağ tibiada hazırlanmış iki defekte sırayla bonewax ve surgical sol tibiadaki defektlerin birine ise spongostan yerleştirilirken diğer defekt kontrol amacı ile boş bırakıldı. Yerleştirilen maddelerden;

Bonewax, 1892 yılında Horsley tarafından hazırlanmış, absorbe olabilen en eski ve en ucuz hemostatik maddedir (1, 5, 8). Balmumu ve yumuşatıcı bir madde olan izopropil palmitatın karışımı olup kullanım için küçük parçalar halinde hazırlanmıştır. Plastik yapısı nedeni ile açık kemik yüzeyine kolaylıkla uygulanır. Etkisi sadece mekaniktir, pıhtılaşma mekanizması üzerinde direkt etkisi yoktur. Fonksiyonu bittikten sonra kaviteden uygun bir biçimde uzaklaştırılması gereklidir (1, 2, 4, 8, 10, 13).

Surgical, rejenere sellülozun oksidasyonu ile elde edilir. Alkali çözeltilerde çözüldüğü halde suda ve asidik çözeltilerde çözünmez. Kullanımı için "ağ" şeklinde bulunur ve cerrahi alana uygulanması oldukça kolaydır. Etkisi tam olarak bilinmemekle beraber pıhtılaşma mekanizmasına direkt etkisi olmadığı, hemoglobinle beraber sellülozik asitten oluşan yapay pıhtı meydana getirerek mekanik yollarla hemostazı sağladığı belirtilmektedir (3, 4, 10, 15, 16).

Spongostan, absorbe olabilen, suda çözünmeyen jelatin köpüğünden elde edilen süngerimsi bir maddedir. Sünger formunda olduğu için kolaylıkla kesilebilir ve ameliyat sahasına istenilen şekilde yerleştirilebilir. Spongostan, dokuya uygulandığı zaman trombositlerin parçalanmasını hızlandırır ve fibrin lifleri için bir matriks işlevi görür (4, 6, 9, 10).

Kemikteki cerrahi uygulama tamamlandıktan sonra cilt 3-0 ipek dikişler ile kapatıldı. Çalışmada kullanılan sıçanlar takipleri süresince İstanbul yem sanayii tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren özel yem ve şehir suyu ile beslendiler. Dört gruba ayrılan sıçanlar sırayla kemik iyileşmesinin erken dönemi olan 7, 14, 21 ve 30. günlerde sakrifiye edildiler. Çıkarılan tibialar %10'luk formolde fikse edildikten sonra, sodyum sitrat ile tamponlanmış formik asit çözeltisinde dekalsifiye edildiler. Rutin doku takibinden sonra hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 8-10 mikronluk kesitler hematoksilen + eosin ile boyanıp İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Patoloji bilim dalında ışık mikroskopunda incelendiler.

BULGULAR

Deneklerden 7, 14, 21 ve 30. günlerde elde edilen kesitler histopatolojik yönden incelendiğinde;

7. Günde, bonewax ve surgical yerleştirilmiş kemik defektlerinin materyal ile dolu olduğu, bonewax içeren kavitenin içindeki materyal çevresinde fibröz kapsül olduğu saptandı. Her iki materyalin çevresinde organize olmaya başlayan hematoma vardı. Bu alanlarda lenfosit ve plazma hücreleri infiltrasyonu yanında, yer yer makrofajlar bulunuyordu. Spongostan içeren kavitede materyal ve çevresinin hematoma ile dolu olduğu, hematoma bazı alanlarda organize olduğu gözlemlendi. Bu alanlarda genç mezenkim hücreleri, fibrosit ve fibroblastlardan oluşan bol damarlı bağ dokusu vardı. Bağ dokusu içinde lenfosit, plazma hücresi infiltrasyonu saptandı. Birkaç alanda henüz farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin osteoidi andıran materyal çevresinde dizildikleri ve osteoblastlara differansiye oldukları görüldü (Resim 1). Kavite hazırlanması sırasında travmatize edilen periost altında kemik yapımı vardı. Kontrol defektlerinde ise kavitenin organize hematoma ile dolu olduğu, çevrede birkaç yeni kemik trabekülü, lenfosit ve plazma hücreleri infiltrasyonu görülmekteydi (Resim 2).

14. GÜNDE, bonewax çevresinde nekrotik doku artıkları ve fibröz kapsül oluşumu görüldü. Çevrede mikroabseler, arada yabancı cisim dev hücreleri vardı (Resim 3). Surgical çevresinde fibröz kapsül, yer yer yabancı cisim dev hücreleri hafif lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu izlenmekteydi. Spongostan çevresinde damardan zengin fibröz bağ dokusu ve içerisinde yer yer küçük kemik trabekülleri görüldü. Çevrede lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu görülmekteydi. Kontrol grubunda ise kavitenin fibrosit ve fibroblastlardan oluşan fibroz doku ile dolu olduğu izlenmekteydi. Arada yeni kemik trabekülleri, çok az sayıda lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu görülmekteydi.

21. Günde, bonewax grubunda kavitenin materyal ile dolu olduğu çevresinde fibröz kapsül oluşumunun varlığı ve iltihabi infiltrasyon saptandı. Surgical grubunda (Resim 4) kavitenin fibröz doku ve materyal ile dolu olduğu görüldü. Çevrede küçük kemik trabekülleri, hafif iltihabi infiltrasyon görülmekteydi.

* Bonewax (w810), Ethicon, Inc, Somerville, NJ

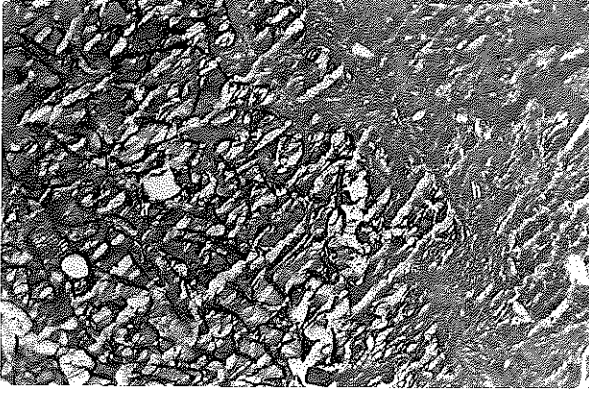
** Spongostan (Standart, Ferrosan, Denmark)

*** Surgical (w1912, Johnson-Johnson Products, Inc, Somerville, NJ)

Spongostan grubunda, kavite içinde materyal olduğu, çevresinde fibröz bağ dokusu ve az sayıda küçük kemik trabekülleri saptandı. Kontrol kavitelerinde ise kavitenin fibröz doku ile dolu olduğu ve fibröz doku içindeki geniş alanlarda yeni kemik yapımı olduğu gözlemlendi (Resim 5).

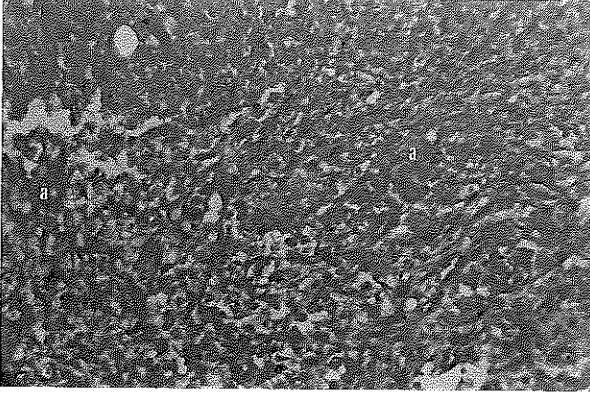
Resim 1. 7 gün sponge. HE x 100.

Materyal (a) ve çevresinde lenfosit, plazma hücresi infiltrasyonu içeren fibroz bağ dokusu (b).



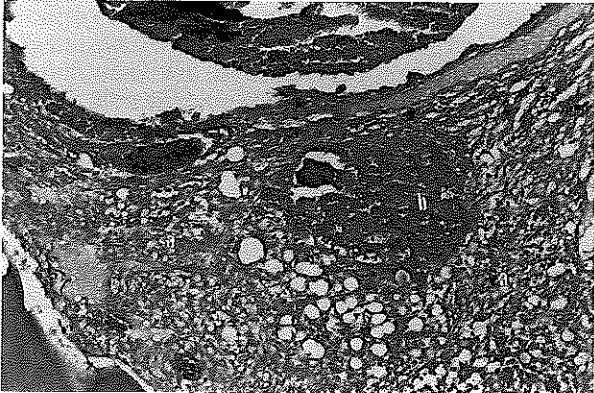
Resim 2. 7 gün kontrol. HE x 250.

Kavite içinde organize olan hematoma ve iltihapsal hücre infiltrasyonu (a).



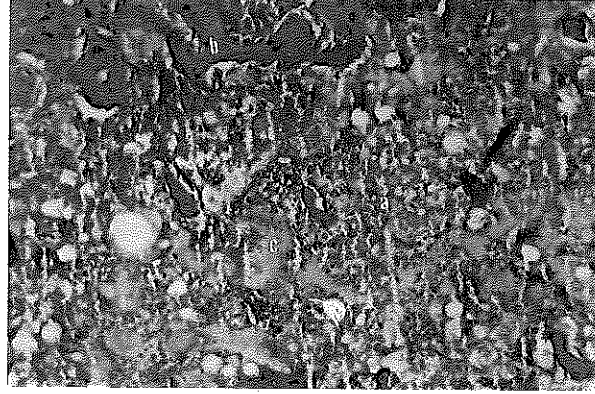
Resim 3. 14 gün bonewax. HEX100

Materyal çevresinde iltihapsal hücre infiltrasyonu içeren bağ dokusu (a) ve içinde mikroabse odağı (b).



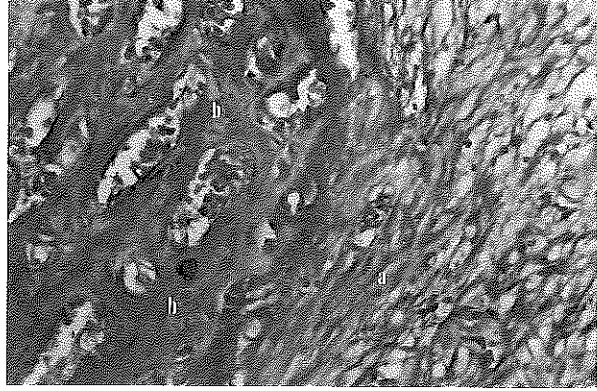
Resim 4. 21 gün surgical. HE x 100

İltihapsal hücre infiltrasyonu içeren bağ dokusu (a) içinde küçük kemik trabekülleri (b) ve materyal artıkları (c).



Resim 5. 21 gün kontrol. HE X 250

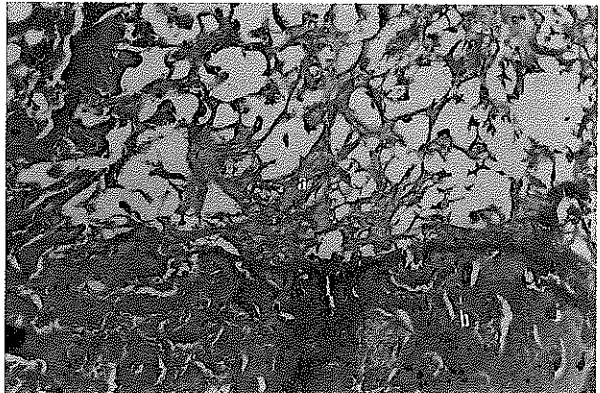
Kavite içinde fibroz bağ dokusu (a) arasında geniş alanlarda yeni kemik trabekülleri (b)



30.Günde, bonewax grubunda kavitenin materyal ile dolu olduğu ve fibröz bir kapsül ile çevrelenmiş izlenmekteydi. Ayrıca çevrede lenfosit ve plazma hücresi infiltrasyonu vardı (Resim 7). Surgical (Resim 8) ve Spongostan (Resim 6) gruplarında kavitele- rin fibröz doku ile dolu olduğu arada materyal artıklar-

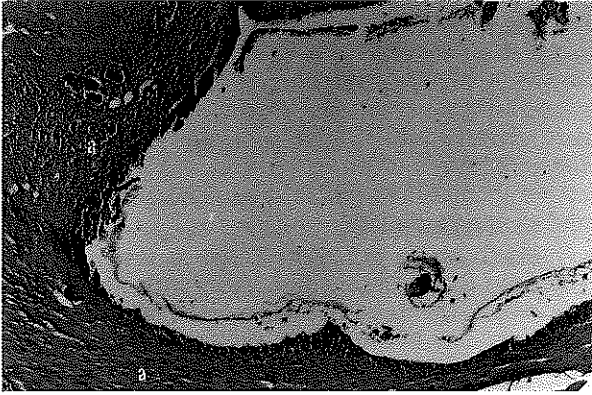
Resim 6. 30 gün sponge. HE X 100

Materyal (a) çevresinde kemik trabekülleri (b)



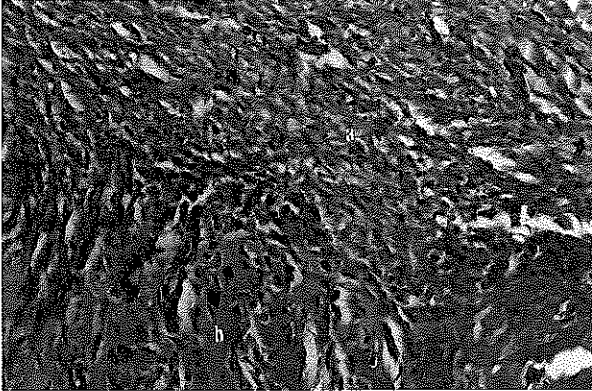
Resim 7. 30 gün bonewax. HE x 40

Materyal kesit hazırlanırken ortadan kalkmış ve çevresinde iltahapsal hücre infiltrasyonu içeren fibröz bağ dokusu ve kapsül (a)



Resim 8. 30 gün cerrahel. HE x 250.

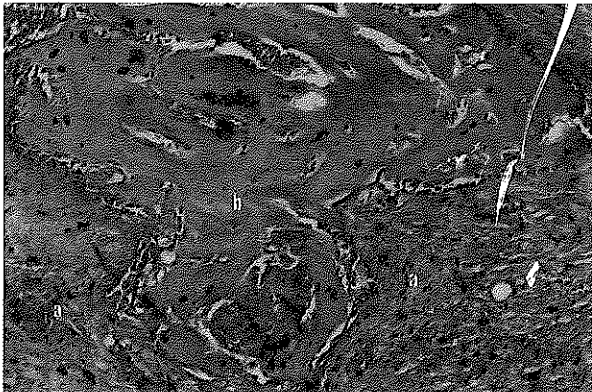
Fibröz bağ dokusu (a) içinde yeni kemik trabekülleri (b)



rı ve küçük kemik trabekülleri bulunduğu saptandı. Kontrol kavitelerinin tamamında, kavitenin (Resim 9) büyük bir bölümün yeni kemik trabekülleri ile dolu olduğu, yer yer fibröz dokuların varlığı saptandı. Araştırmamızda elde edilen bulgular toplu olarak Tablo I'de görülmektedir.

Resim 9. 30 gün kontrol. HE x 100

Kavite içinde fibröz bağ dokusu (a) arasında geniş yeni kemik yapım alanları (b).



Tablo I: Hemostatik maddelerin kemik iyileşmesi sırasında oluşturduğu histopatolojik değişiklikler

	Hematom Organizasyonu	Fibröz Doku Oluşumu	Osteoblastik Aktivite	Kapsül ile Sınırlanma	Yabancı Cisim Reaksiyonu	Nekroz	İltihap	Materyalin Rezorbe Olunma Derecesi
7. gün (S)	3	3	1	1	3	3	3	4
7. gün (BW)	3	3	0	3	2	3	3	4
7. gün (Su)	3	2	0	0	2	2	3	4
7. gün (K)	3	2	2	0	0	2	3	0
14. gün (S)		3	2	2	2	0	2	3
14. gün (BW)		1	0	3	3	3	3	4
14. gün (Su)		3	0	3	2	1	2	3
14. gün (K)		4	2	0	0	0	2	0
21. gün (S)		2	2	2	2	0	2	3
21. gün (BW)		0	1	3	2	0	2	3
21. gün (Su)		3	2	1	1	0	2	2
21. gün (K)		4	3	0	0	0	0	0
30. gün (S)		3	2	2	1	2	2	3
30. gün (BW)		3	0	2	2	2	2	3
30. gün (Su)		3	1	2	2	0	2	2
30.gün (K)		4	3	0	0	0	1	0

0: Yok 1: Çok az 2: Az 3: Orta derecede 4: İleri derecede
S: Spongostan Bw: Bonewax Su: Cerrahel K: Kontrol

TARTIŞMA

Kanamamanın kontrolünde kullanılan bu maddelerin kemik iyileşmesinin erken dönemini ne şekilde etkilediğine dair literatür taraması yapıldığında, anlamlı farklılıkların ilk 30 günlük süreçte tespit edilebileceği belirlenmiştir (1, 4, 8, 10, 13, 15). Bu literatür desteğinde çalışmada sakrifikasyon işleminin iyileşmenin hangi safhalarında yapılacağı belirlendi.

Guralnick ve ark. 1948 yılında yayınladıkları makalelerde 250 oral cerrahi girişimde jelatin süngeri kullanmışlar ve materyalin doku dostu iyi bir hemostatik olduğunu belirtmişlerdir (6).

Geory ve ark. yaptıkları deneysel çalışmalarında köpek kaburgalarında oluşturdukları kemik defektlerine uyguladıkları bonewax'ın iyileşmeyi geciktirdiğini, bu materyalin basınca maruz kalacak ve iyileşmenin hızlı olması gereken bölgelerde kullanılmaması gerektiği sonucuna varmışlardır. Absorbe olan hemostatik maddelerde de iyileştirmeyi geciktiren önemli faktörün materyalin doku pH'sını asitleştirmesi böylece Ca+ birikimi ve alkalen fosfatın aktivitesini geciktirmesi olduğunu vurgulamışlardır (5).

Howard ve Kelly (1969) sıçan tibialarında yaptıkları deneysel çalışmalarında bonewax'ın iyileşme-

yi olumsuz yönde etkilediğini saptamışlardır. Çalışmalarında, hayvanları 31. günde sakrifiye ederek, tibialarda bonewax uygulanan grupla kontrol grubunu kıyasladıklarında, kontrol grubunda hemen hemen tam bir iyileşme mevcut iken bonewax uygulanan defektlerde materyalin rezorbe olmadığı ve osteoblastik aktiviteyi geciktirdiğini görmüşlerdir (8). Bizim çalışmamızda da 30 günde bonewax'ın iyileşmeyi olumsuz yönde etkilediği ortaya çıkmıştır.

Nappi ve Lehman 1980 yılında yaptıkları klinik ve deneysel çalışmalar sonucunda oksitlenmiş rejenel sellülozün (surgicel) kemik iyileşmesini geciktirdiğini saptamışlardır (14).

Güven ve arkadaşları yaptıkları çalışmada hemostatik maddelerden surgicel, bonewax ve spongostanın doku pH'sı üzerine olan etkilerini araştırmışlar, surgicel'in doku pH'sını asitleştirdiğini, diğer iki maddenin herhangi bir değişikliğe sebep olmadığını saptamışlardır (7).

Johnson ve Fromm yaptıkları deneysel çalışmalarında bonewax'ın yabancı cisim reaksiyonuna sebep olduğunu ayrıca stafilokokkus aereusun spongios kemik tarafından uzaklaştırılması engellediğini tesbit etmişlerdir (11).

Olson ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada köpek mandibularında çekim boşluklarına gelfoam, surgicel ve polylactic asit uygulamışlar ve kontrolle karşılaştırmışlardır. Yedi gün sonraki incelemede kontrol gruplarında iyileşmenin normal olduğunu ve deney gruplarının hepsinde yoğun iltihabi reaksi-

yon olduğunu görmüşlerdir. Ayrıca 14. ve 30. günde iyileşmeyi olumsuz yönde etkileyecek herhangi bir bozukluk olmadığı ancak kontrol grubuna oranla iyileşmenin geciktiğini saptamışlardır (15).

Ibarrola ve ark. sıçanlarda yaptıkları çalışmada surgicel, spongostan ve bonewax kullanmışlar, 7, 14, 40 ve 120 günlük sürelerde kemik defektlerinde olan etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak bonewax'ın osteogenezi inhibe ettiğini, surgicelin kronik iltihaba sebep olduğunu ve bu üç madde içinde en iyi iyileşmenin spongostan uygulanan kemiklerde görüldüğünü belirtmişlerdir (10).

Mattoson ve ark. yeni Zellanda tavşanlarında yaptıkları deneysel çalışmalarında, kullandıkları bonewax, surgicel ve spongostan'ın doku uyumlu olmadıklarını, ancak hemostazın sağlanmasındaki avantajları açısından kullanılabilirliklerini vurgulamışlardır (13).

Finn ve ark. (1992) köpeklerde yaptıkları çalışmada, oluşturdukları kemik defektlerine uyguladıkları dört farklı hemostatik maddeden avitene, surgicel ve gelfoam'ın iyileşme üzerine olumsuz etkilerini görmüşler, ancak bonewax kullandıkları defektlerde iyileşmenin geciktiğini saptamışlardır (4).

Araştırmamızın sonucunda, kemik defektlerine yerleştirdiğimiz bonewax, spongostan ve surgicelin defektin iyileşmesinde erken dönemde kontrolle oranla iyileşmeyi geciktirdiğini ancak spongostan ve surgicelin bonewaxtan daha fazla doku uyumlu olduğunu gördük.

KAYNAKLAR

1. Alberius P, Klinge B, Sjogren S. Effects of bonewax on rabbit cranial bone lesions. *J Cranio Max Fac Surg* 1987; **15**: 63-7.
2. Aurelio J, Chenail B, Gerstein H. Foreign-body reaction to bone wax. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; **58**: 98-100.
3. Bjorenson JE, Groove HP, List MG, Haasch GC, Austin BP. Effects of hemostatic agents on the pH of body fluids. *J Endodontics*, 1986; **12**: 289-92.
4. Finn MD, Schow SR, Schneiderman ED: Osseous regeneration in the presence of four common hemostatic agents. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; **50**: 608-12.
5. Geary JR, Frantz VK: New absorbable hemastatic bonewax. *Ann Surg* 1950; **132**: 1128-37.
6. Guralnick WC, Berg L. Gelfoam in oral surgery. *Oral surg* 1948; **1**: 632-9.
7. Güven Y, Yıldırım MS, İyigün T. Değişik hemostatik maddelerin vücut sıvılarının pH'sına etkisi. *İÜ Diş Hek Fak Dergisi* 1991; **25**: 155-8.
8. Howard TC, Kelley RR. The effect of bonewax on the healing of experimental rat tibial lesions. *Clin Orthop Rel Res* 1969; **63**: 227-32.
9. Howard PE, Wilson JW, Ribble GA. Effects of gelatin sponge implantation in cancellous bone defects in dogs. *JAMA* 1988; **192**: 633-7.
10. Ibarrola JL, Bjorenson JE, Austin BP, Gerstein H. Osseous reaction to three hemostatic agents. *J Endod* 1985; **11**: 75-83.
11. Johnson P, Fromm D. Effect of bonewax on bacterial clearance. *Surgery* 1981; **89**: 206-9.
12. Laskin JL, Lucas WJ, Davis WMCL. The effects of a granular gelatin preparation on the healing of experimental bone defects. *Oral Surg* 1981; **52**: 23-7.
13. Mattsson T, Anderssen K, Koendell A, Lindskog S. A longitudinal comparative histometric study of the biocompatibility of three local hemostatic agents. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1990; **19**: 47-50.
14. Nappi JF, Lehman JA. The effects of surgicel on bone formation. *Cleft Palate J* 1980; **17**: 291-6.
15. Olson RAJ, Roberts DL, Osbon DB. A comparative study of polylactic acid, gelfoam, and surgicel in healing extraction sites. *Oral Surg* 1982; **53**: 441-9.
16. Pierce AM, Wiebkin OW, Wilson DF. Surgical: it fate following implantation. *J Oral Pathol* 1984; **13**: 661-70.

Yazışma adresi:

Doç. Dr. Sami Yıldırım
İ. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Hast. ve Cerr. Anabilim Dalı
34390 Çapa - İstanbul