

KOLLAGEN (OSTEOVİT) YUMUŞAK DOKU İYİLEŞMESİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Mehmet Yaltrıncık*, Banu Gürkan, Hülya Koçak,
Zerrin Çebi, Okhan Oral , Bilge Bilgiç**

ÖZET

Kollagen canlı organizmanın ve hayvanların yapısal proteini olup total vücut proteininin %20 ila %30 unu oluşturur. Zayıf antijenik özelliğinin yanında yara iyileşmesinin tedavisinde önemli fizyolojik rol oynar. Kanamanın önlenmesinde ve kontrole alınmasında etkili olup son yıllarda tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı deneysel olarak sıçanların subkutan dokularına yerleştirilen kollagenin (osteovit) 3,7,14, ve 21 . günlerdeki yumuşak doku iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak araştırmaktır. Çalışmanın sonucunda kullanılan materyalin yara iyileşmesini geçiktirmediği ve vücut tarafından iyi tolere edilebildiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler : Osteovit, yara iyileşmesi,sıçan.

SUMMARY

Collagen is the most abundant protein in human being and animals, constituting 20% to 30% of the total body protein. In addition to its very poor antigenity , and because it is of hemostasis and Plays an important physiological role in the process of wound healing . Collagen has been described by many authors as the material of choice for prevention and control of bleeding . For the last decade, collagen has been used extensively. The purpose of this study soft tissue response collagen (osteovit) were evaluated histopathologically 3,7,14 and 21 days following subcutaneously implantations in rats. The result showed that all materials were well tolerated to impair nor contribute to wound healing.

Keywords : Osteovit, wound healing, rat.

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

** İ.Ü.Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Patoloji Anabilim Dalı .

GİRİŞ

Cerahi girişimler esnasında veya mudahaleyi takibeden dönemde meydana gelen kanamalar yara kenarlarının açılması ve enfeksiyon oluşturabilecek bir kültür ortamının meydana gelmesi gibi ciddi ve hayati tehlikelere neden olabilmektedir. Lokal olarak uygulanan hemostatik ajanların uygulanmasını takip eden dönemde kemik iyileşmesi üzerine olan etkileri ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmasına karşın bu maddelerin yumuşak doku reaksiyonları ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır (1,2,3,4)

Hyaluranik asit içeren kollagen matriks yara iyileşmesinde önemli rolü olan monositler için kemotaksik faktör gibi rol oynar. Fibroplastik proliferasyon için mekanik ağ görevini görür, yara iyileşmesinde rolü olan fibronektini çeker, kan trombositlerini cezbederek adezyonlarına ve agregasyonlarına neden olur, faktör xii'yi aktive eder böylece pıhtılaşma ve fibrojenезi hızlandırır. (6,7,8,9,10)

Canlı organizmanın yapısal proteini olan ve aynı zamanda çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli rol oynayan kollagen hemostatik ajan olarak kullanımı son yıllarda popülerite kazanmıştır (11). Bu çalışmada eksperimental model üzerinde subkutan olarak yerleştirildiğimiz osteovitin doku uyumluluğu ve yumuşak doku reaksiyonlarını histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve Metod

Araştırmamızda 200-220gr ağırlığında erkek 36 adet Wistar -Albino sıçanı kullanıldı. Deneysel çalışmalarımızı İ.Ü. Tıp fakültesi deneysel Tıp araştırma ve uygulama merkezinde (Detam) gerçekleştirdik. Deney hayvanları araştırma süresince şehir suyu ve İstanbul yem sanayi tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren yemlerle beslendi.

Deney hayvanları deney süreleri olan 3., 7., 14., ve 21. günlere beşer denek düşecek şekilde dört guruba ayrıldı. Eter anestezisi altında sırt derileri traşlandıktan ve antiseptik solüsyonla silindikten sonra 15 nolu bisturi ile ciltte aynı hat üzerinde 0.5 cm boyunda insizyonlar yapıldı. Deri altı alan kunt diseksiyonla genişletildi, steril serum fizyolojik içersinde yumuşatılmış olan kollagen (Osteovit) deney gurubu için sağ tarafta oluşturulan alana yerleştirildi (Resim 1). Kontrol gurupları ise aynı günlere dörder denek düşecek şekilde dört guruba ayrıldı. Ciltte hazırlanan alan kontrol amacıyla boş bırakıldı, yara yerleri 3/0 ipek dikişler ile suture edildi.

Deney sürelerinin bitiminde letal doz eter anestezisi ile sakrifiye edilen denekler kesi bölgelerinden subkutan dokularıda içerecek şekilde yaklaşık 1'er santimetre karelik, dokular alındı .Alınan bu doku örnekleri%10 luk formol solusyonu içinde histopatolojik inceleme için İ.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Bilim dalına gönderildi.Hemotoksilen- Eozin ile boyanan kesitler ışık miroskobunda histopatolojik olarak değerlendirildi.

BULGULAR

3 günlük gurupta kas dokusu içine yerleştirilen kollagenin bütünlüğünü koruduğu ,etrafina nekrotize iltihap hücrelerinin infiltre olduğu dokunun damarlanmasının az olduğu ve reaksiyonel dokunun, materyalin yerleştirildiği bölge civarında olduğu görülmüştür(Resim2).

7 günlük gurupta yerleştirilen materyalin etrafında iltihabi granulasyon dokusu ve fibröz doku artışıyla birlikte materyalin yer yer rezorbe olmaya başladığı görüldü(Resim3) .7 günlük kontrol grubunda iltihap hücreleri ve damarca zengin bölge izlenmekteydi.

14 günlük deney gurubunda yerleştirilen materyalin rezorbsiyonunun devam ettiği ve ince fibröz bağdokusu ile çevrili olduğu görülmüştür(Resim4). 14 günlük kontrol grubunda ise fibröz bağdokusu artışı olduğu görüldü.

21günlük deney grubunda subkutan doku içine yerleştirilen materyalin rezorpsiyonunun devam ettiği,fibröz dokuda artış, ve iltihap hücreleri izlenmekteydi (Resim 5) 21 günlük kontrol grubunda fibröz doku ve iltihap hücrelerinin yanında deney grubundan farklı olarak cerrahi saha içinde kalan kıla karşı fokal yabancı cisim dev hücresi görüldü.

Sonuç olarak bütün guruplarda kas içine yerleştirilen kollagen materyallerinden elde edilen histopatolojik kesitlerde kontrol guruplarından farklı olarak deney guruplarında iltihap hücrelerinin daha fazla olduğu ve fibröz doku artışının belirgin olduğu tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Son yıllarda gerek yaygın kapiller sızıntıyı kontrol etmede, gerekse geçiken yara iyileşmesinin tedavisinde rehber rolü olduğu düşünülen kollagen zayıf antijenik etkisi ,kanamanın önlenmesinde ve kontrole alınmasında etkili olan bağ dokusunun asıl yapısal komponenti olup vücut tarafından iyi tolere edilebilen bir maddedir.(7,13)

Yapılan birçok çalışma göstermiştir ki yaşam sisteminin asıl yapısal proteini olan kollagen yara iyileşmesini fizyopatolojik olarak olumlu etkilediği bildirilmiştir. Fakat etki mekanizması tam anlamıyla bilinmemekle birlikte kollagenin belli bazı hücre tipleri üzerine kemotaktik etkisinin olması, fibroblastik proliferasyonu ve lizisi artırarak direkt olarak hücre metabolizmasına katılıp hücrede eksik olan yeri doldurarak yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği, ve eksuda volumunu artırarak hücre komponentlerinde özellikle makrofajlarda artmaya neden olarak hemostatik etkilerini gösterdikleri en çok kabul gören mekanizmalardır. (12).

Mian ve Martin (13) Toplam 30 hastanın açık cilt yara yüzeylerine lokal olarak kollagen uygulamışlardır ve kollagenin iyileşme zamanını belirgin ölçüde kısalttığını bildirmişlerdir.

Palmeri(6) 72 hastada cilt ülseri üzerinde kollagenin iyileşme üzerine etkisini klinik olarak incelemişler ve olumlu sonuç aldıklarını vurgulamışlardır.

Chvapil ve ark (14) tavşan ve domuzlarda eksperimental olarak oluşturdukları ikinci ve üçüncü derece yanıklarda kollagen süngerleri uygulamışlardır. Kollagenin iyileşme sürecini hızlandırdığı bakteri sayısını azalttığını yüzeysel yaralardaki epitelizasyonu artırdığı derin yaralarda ise granülasyon dokusunun kalınlığını, damarlanmayı ve fibroblastik hücre varlığını artırarak yara iyileşmesini hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Blair ve ark (15) tavşanların karaciğerinde deneysel olarak yaptıkları eksizyon bölgesine okside sellüloz, kalsiyum alginat ve kollagen implante ederek bu ajanların hemostatik etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda okside sellüloz ve kalsiyum alginatın üç ay içinde rezorbe olduğu kollagenin yabancı cisim reaksiyonuna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Alpaslan ve ark (5) üç farklı hemostatik ajana karşı gelişen yumuşak doku reaksiyonlarını inceledikleri eksperimental çalışmalarında bu ajanların yara iyileşmesini hızlandırıcı etkilerinin olmadığını bununla birlikte yumuşak doku tarafından iyi tolere edildiklerini gözlemişler ve hemostazı sağlamak amacıyla kullanabileceklerini belirtmişlerdir.

Coln (4) ve Vormolen (3) ise yumuşak dokularda meydana gelen kanamanın kontrolünde farklı hemostatik maddelerin etkilerini incelemişler kollagen süngerin hemostaz sağlamada tercih edilebilecek en iyi hemostatik ajan olduğunu bildirmişlerdir.

Scher ve Coll (16) oksidize sellüloz ile mikrofibriller kollageni subkutan uyguladıkları deneysel araştırmalarında, enfeksiyon açısından kıyaslandığında mikrofibriller kollagene göre oksidize sellülozun daha avantajlı olduğunu bildirmişlerdir.

Gümrü ve ark.(17), yaptıkları deneysel araştırmalarında kollagen sungeri subkutan olarak yerleştirmişler ve 24, 48 ve 72 saatlerdeki yara iyileşmesi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. 48. saatten sonra görülen fibroblast proliferasyonunun ve bağ dokusu lifleri yoğunluğunun artmasına dayanarak kollagenin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu ileri sürmüşlerdir.

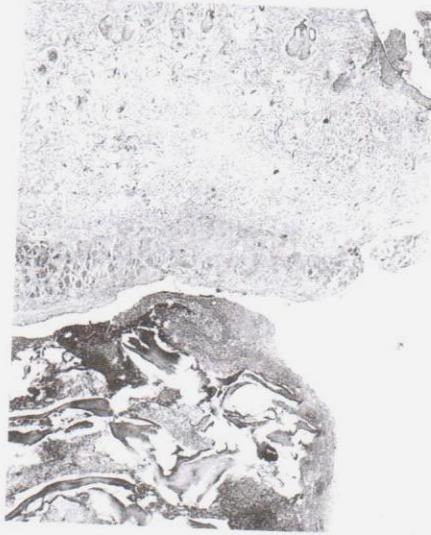
Mian ve ark. (12), yaptıkları deneysel çalışmada 24-48 ve 72 saat sonunda subkutan kollagen uygulanan grupta polimorfönükleositler ve makrofajların sayısını tespit etmişlerdir. Kollagen kullanılan grupta uygulamayı takip eden 48. saate maksimum düzeyde olup, bunun istatistiksel olarak anlamlı ve yara iyileşmesinin de daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Bizde çalışmamızda experimental olarak deneklerin subkutan dokusuna yerleştirilen kollagen matriksin 3. ,7. ,14. , ve 21. günlerde yara iyileşmesine olan etkisini kontrol gurubuyla histopatolojik olarak karşılaştırdığımız çalışmamızda, deney gurubunda 7. günden sonra damarlanmanın iyi olduğunu ve 14. günden sonra iltihabi hücrelerin azaldığını gözledik. Fibroz dokunun daha yoğun olması ve yabancı doku reaksiyonunun olmamasına dayanarak osteovitin yara iyileşmesinde olumlu katkılarının gözlenmesi literatür bilgileri ile uyumluluk göstermekteydi.

Resim1: Subkutan olarak yerleştirilen kollagen (osteovit).



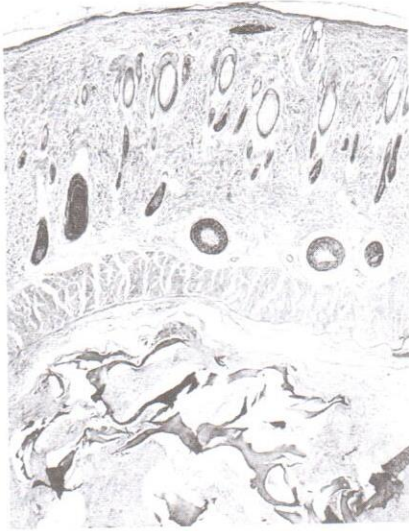
Resim2: Deney gurubu 3. Gün HEX32



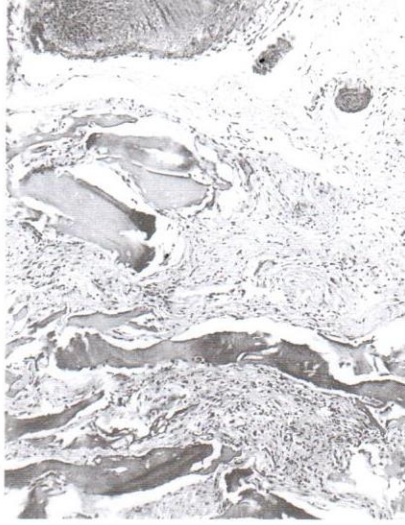
Resim3: Deney gurubu 7. Gün HEX125



Resim4: Kontrol gurubu 7. Gün HEX32



Resim5: Deney gurubu 14. Gün HEX125



KAYNAKLAR

1. 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
2. Petersen JIL, Krogsgaard J, Nielsen KM, Norgard EB. A comparison between 2 absorbable hemostatic agent: gelatin sponge(spongostan) and oxidized regenerated cellulose(surgicel). *Int J Oral Surg* 1984;13:406-410
3. Vormolen JHC, Ringers J, Bots GIAM, VanDer HA, Hermans J. Hemostatic agents: Brain tissue reaction and effectiveness. A comparative animal study using collagen and oxidized cellulose. *Neuro Surgery* , 1987;20:702-709
4. Coln D, Horton J, Ogden ME, Baja LM. Evaluation of hemostatic agents in experimental splenic laceration. *The American Journal of Surgery* 1983;145:256-259
5. Alpaslan C, Alpaslan GH, Oygut T. Tissue reaction to three subcutaneously implanted local hemostatic agents. *Brithis Journals of Oral and Maxillofacial Surgery.* 1997;35:129-132
6. Palmeri B. Heterologous collagen in wound healing ; A clinical study. *Int J Tiss Reac XIV(Suppl)* 1992:21-25
7. Mian M, Beghe F, Mian E. Collagen as a pharmacological approach in wound healing. *Int J Tiss Reac XIV(Suppl)* 1992;1-9
8. Micheletti G, Onorata I, Micheletti L Heterologous, Lyophilised non-denatured Typ-I collagen in Dentistry . *Int J Tiss Reac XIV(Suppl)* 1992;39-42
9. Dunn MG, Doillon CJ, Berg AR, Olson RM, Silver FH. Wound healing using a collagen matrix: Effect of electrical stimulation. *J Biomed Mater Res* 1998;22:191-209
10. Shaw N, Textured collagen a hemostatic agent. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72:642-645
11. Mannai C, Leake D, Pizzoferrato 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

12. Mian M, Aloisi R, Benetti D, Rossini S, Fantozzi R. Potential role of heterologous collagen in promotion cutaneous wound repair in rats. *Int J Tiss Reac. XIV(Suppl) 1992;43-52*
13. Mian E, Martin P, Beconcini D, Mian M. Healing of open skin surface with collagen foils. *Int J Tiss Reac XIV(Suppl) 1992;27-34*
14. Chvapil M, Chvapil TA, Owen JA. Reaction of various skin wounds in the rat to collagen sponge dressing *J Surg Res 1986;41:410*
15. Blair SD, Backhouse CM, Herper R, Mattheus J, Mc Collum CN. Comparison of absorbable materials for surgical haemostasis *Br J Surg 1988;75:969-971*
16. Scher KS, Corlr JA. Effects of oxidized cellulose and micro fibrillar collagen on infection. *Surgery 1982;91:301-304*
17. Gümrü O, Koçak H, Kasapoğlu Ç, Candan A, Gürkan B, Yenilmez E. Sıçanlarda deri altına yerleştirilen kollagenin etkisinin histopatolojik olarak incelenmesi. *Türk Patoloji Dergisi 1996; 12(2):15-17*

Yazışma Adresi : Dr. Mehmet Yaldirik

İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız Diş-Çene Hast. ve Cerrahisi

Anabilim Dalı 34390 Çapa - İSTANBUL