

Laser uygulaması sonucu spongioz greft osteoindüksiyonunda artış.

Deneyisel bir araştırma

R. Erginer⁽¹⁾, T. Centel⁽¹⁾, M. Alatlı⁽²⁾, E. Aslantaş⁽³⁾, N. Savcı⁽⁴⁾

Laser uygulandığında, kırık alanındaki küçük spongioz greft parçacıkları yeni kemik yapımına artan oranda katılmaktadır.

Increase in osteoinduction of cancellous bone graft after application of laser.

Radiating with Laser small pieces of cancellous bone graft in the fracture area participate in forming new bone in increasing manner.

Daha önceki çalışmalarımızda, tavşan ulnalarında yarattığımız segmantal defektlere masif kortikal greft yerleştirerek bu alanlara laser uyguladığımızda geciken osteoklastik aktivite ve kamçılanan subperiosteal osteoblastik proliferasyon ile karşılaşmıştık (2). Diğer taraftan biliyoruz ki, spongioz greftlerde rezorbsiyon hızlıdır ve yerini yeni kemik yapımına bırakır (4). Spongioz greftin hızlı inkorporasyonu ile Laserin osteoklastik aktiviteyi geciktirici etkisinin kombinasyonunun, onarım sürecini ne yönde etkileyeceğini araştırmak, bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Gereç ve Yöntem

İ. Ü. Deneyel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (DETAM) gerçekleştirilen bu çalışma, 15 adet Wistar-Albino cinsi erişkin, erkek sıçan üzerinde yürütülmüştür (ortalama ağırlık 200-15 gr.) Denekler eşit koşullar altında büyütülmüş ve % 21 protein içeren hazırlama yemle beslenmiştir. Her deney hayvanında, fibula üzerine rastlayan 2.5 cm'lik uzunlamasına dorsal bir insizyonla girilerek, fibula 1/3 orta ile distal kısmın birleştiği yerden keskin bir makas yardımıyla osteotomize edilmiştir. Aynı taraf krista iliakası üzerinde yapılan 2.5 cm'lik ikinci bir insizyonla da, pens coupon yardımıyla iliak greft alınmış ve spongioz kısmı bistüri ile ufak parçalara (yaklaşık 2 mm çapında) ayrılarak fibuladaki osteotomi sahasına yerleştirilmiştir. Bu sırada eter anestezisi kullanılmıştır. Herhangi bir tespit materyali kullanılmamıştır. Bu işlem her iki tarafta da gerçekleştirilmiş ve sol taraf kontrol grubunu oluşturmuştur. Ameliyatın ertesi gününden başlamak üzere, tekrar eter anestezisi ile uyutulan deneklerin sağ tarafına Laser uygulanmış ve bu sırada sol taraf kalın bir plaka ile ışınlamadan korunmuştur. Laser cihazı olarak Laser I.R. CEB Mid Laser kullanılmıştır. Laserin dalga boyu 904 nm, impuls frekansı 200 Hz. min., impuls genişliği 200 ns. max., cildde penetrasyon derinliği 20-30 mm, cihazın tepe gücü 5 W min. ve emisyon açısı 9°/15° dir. Laser tüpü kırık sahasının hemen

üstünde yer alan ameliyat yarasına degecek ve 90° dik olacak şekilde kullanılmıştır. Uygulama hayvanların sakrifikasyonuna kadar hergün tek seansda yapılmış ve 9 dakika Laser verilmiştir. Denekler üç eşit gruba ayrılarak 1. grup 1. hafta, 2. grup 2. hafta ve 3. grup 3. haftanın sonunda sakrifiye edilmiştir. Yumuşak dokular uzaklaştırılarak elde edilen kemikler en az 15 gün süreyle % 8'lik formolde fikse edilmişlerdir. Bundan sonra sodyum sitratla tamponlanmış formik asitle dekalsifiye edilen kemikler, standardizasyonu sağlamak için aynı kişi tarafından aynı yerden bölünüp alkol-ksilol takibi sonucu parafin bloklar haline getirilmiştir. Hazırlanan 5-7 mikronluk kesitler hematoksilin-eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Çalışma sırasında derin infeksiyon görülen iki denek ve aşırı eter anestezisi sonucu ölen iki denek değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Bulgular

Deneklerden elde edilen kesitlerin histolojik incelenmesi sonucu şu bulgular saptandı:

Kontrol grubu 1. hafta:

İki kemik ucu arasında görülen greft parçacıkları çevresinde, organize olarak fibröz dokuya dönüşme eğilimi gösteren granülasyon dokusu izlenmektedir. Bu gibi bölgelerde çok sayıda osteoklast görülmektedir. Kırık uçlarında ise kallus oluşumu belirgin olarak noduler biçimde başlamıştır (Resim 1).

Laser grubu 1. hafta:

Osteotomi hattının kırıkardan oluşan kallus dokusuyla dolduğu izlenmektedir. Bu alanda görülen kemik parçacıkları, bütünlüğünü korumaktadır. Hemen hiç bir alanda osteoklasta rastlanmamaktadır (Resim 2).

Kontrol grubu 2. hafta:

Kemik uçlarını birleştiren kırık ve daha az oranda fibröz dokudan oluşan kallus, her denekte eşit olarak izlenmektedir. Arada görülen, greft parçacıklarının osteoklastlarca ortadan kaldırılması sürmektedir (Resim 3).

Laser grubu 2. hafta:

(1) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Ort. ve Travm. A.b.d. Uzmanı

(2) İ.Ü. Diş Hek. Fak. Patoloji A.b.d. Doçenti

(3) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Ort. ve Travm. A.b.d. Araş.Gör.

(4) İ.Ü. Diş Hek. Fak. Patoloji A.b.d. Arş. Grv.



Resim 1: H—E x 80, 1. hafta kontrol deneginden elde edilmiş örnek. Sağı alt köşeden yukarı doğru, çapraz biçimde uzanan kırık kemiğin ucunda greft parçaları ve bunların çevresinde osteoklastlar görülmektedir. Bu greftlerin çevresinde henüz granülasyon dokusu evresindeki onarım dokusunun, fibröz doku ve giderek kıkırdak dokusuna dönüştüğü izlenmektedir. Sol üst köşede bir lakün içinde görülen osteoklastlar, greftin ortamdaki silinme çabasını göstermektedir.

Yoğunlaşmış olan kallus içinde görülen greft parçacıklarının çevrede indüksiyon yaptığı, bunlardan bir bölümünün çevresinde görülen osteoblastların yeni kemik yapımına başladığı saptanmaktadır (Resim 4).

Kontrol grubu 3. hafta:

Doğal süreçteki kallus dokusu izlenmektedir. Deneklerin hiç birinde grefte rastlanmamaktadır.

Laser grubu 3. hafta:

Bir önceki haftada görülen osteoblastik aktivite sürmektedir. Yer yer olgun, yeni kemik yapımına daha sıklıkla rastlanmaktadır (Resim 5).

Tartışma:

Kontrol grubunu oluşturan deneklerde, osteotomi alanını dolduran greftler bilinen klasik bilgilere uygun olarak ortadan kaldırılırken, laserlenen grupta ise bu olayın görülmemesi şaşırtıcıdır. Bazı kaynaklarca belirtilen ve daha önceki hayvan deneylerimizde de rastladığımız, laserin kırık sahasında osteoklastların ortaya çıkışını geciktirici etkisi, sanırım bu olayda etkili olmaktadır (1,2,5). Nitekim kontrol grubunda, greftlerin ortadan kaldırılması olayının en güzel şekilde görüldüğü 2. haftada, osteoklastların rolü belirgindir. Resim 3'de alttaki boşluğun bir bölümü artefakt olarak oluşmuş izlenimini vermekte-



Resim 3: H—E x 80, 2. hafta kontrol denegi. Kemik uçlarını birleştiren kıkırdak ve giderek azalmakta olan fibröz dokudan oluşan kallus izlenmektedir. Orta bölümde görülen kemik parçaları osteoklastlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Üst-soldaki greftin ortasında görülen osteoklastın çevresindeki lakün, orta-üst bölümdeki boşluk ve alt taraftaki büyük boşluk içinde, bağ dokusunda çentik oluşturmuş osteoklast görülmektedir.

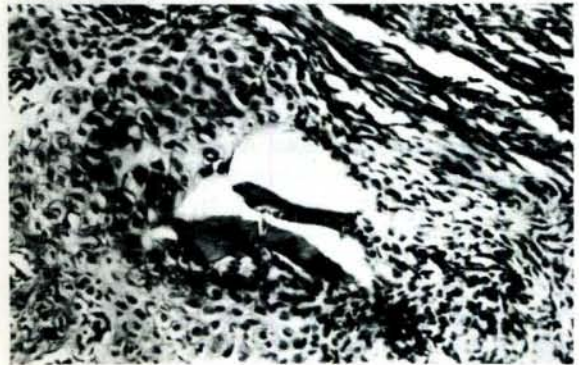


Resim 2: H—E x 80, 1. hafta laserlenmiş denek. Yoğun kallus içinde çevrelerinde osteoklast bulunmayan greft parçaları görülmektedir.

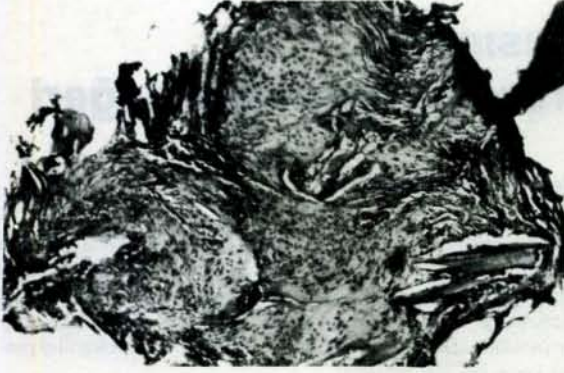
dir, ancak boşluğun sağ tarafının, osteolitik aktivite sonucu ortaya çıktığını ortamdaki osteoklastlar kanıtlamaktadır. Osteoklastların belirgin olarak ortamda minimal sayıda bulunmasına karşın, aynı yolda olduğu ileri sürülen (1) yabancı cisim dev hücrelerinin varlıklarını sürdürmesi de diğer ilginç bir bulgudur (Resim 6).

Öte yandan, laserlenmiş deneklerde, daha önce hiç saptamadığımız bir olay gelişmekte, yeni osteotomi sahasına konan greft parçacıkları çevrede, kontrol grubuna oranla belirgin bir aşırılıkta osteoindüksiyon yapmaktadır. Bunlardan bir kısmının çevresinde görülen osteoblastlar yeni kemik yapımına başlamaktadır (Resim 4). 2. haftada başlayan, greftlerin bu osteoblastik aktivitesi 3. haftada giderek artış göstermektedir (Resim 5). Laser ile ışınlama sonucu greftin kemik üretimine direkt katkısına daha önceki, masif kortikal greft uygulayarak yaptığımız çalışmada rastlayamazken, greft olarak ufak spongiöz kemik parçacıklarını kullandığımız bu deneyde saptamamız, henüz canlılığını koruyan spongiöz greftin laserden etkilenerek artan osteoindüksiyon özelliğine bağlıdır.

Laserin yerleşik osteoblastlardan yalnızca subperiosteal alanlarını belirgin olarak aktive ettiğini biliyoruz. Ortamda küçük spongiöz greft parçacıkları mevcutsa, subperiosteal alanların aktivasyonuna ek olarak greftin



Resim 4: H—E x 200, 2. hafta laser uygulanmış denek. Ortada görülen greft parçalarının çevresinde yoğun osteoblast proliferasyonu seçilmektedir.



Resim 5: H—E x80, 3. hafta laserlenmiş denek. Olgun kallus içinde görülen greft parçalarının osteoblastik aktiviteye devam ettikleri ve olgun tipde yeni kemik trabekülleri oluşturduğu gözlenmektedir. Resim orta-üst sağ yan ile en altta bu olay saptanmaktadır.



Resim 6: H—E x 200, tam ortada yabancı cisim çevresindeki dev hücreleri görülmektedir. Sol-üstte ve alt-sağda yeni kemik yapımı izlenmektedir.

osteoindüksiyonuna bağlı olarak da osteoblastik faaliyette artış görülmektedir. Laserle ışınlama sonucu osteoklastik aktivitenin geçici de olsa minimal düzeyde tutulmasıyla da, spongiöz greft parçacıklarının varlıklarını sürdürmesi, yani yeni kemik yapımını uyandırıcı ikinci bir unsurun artan oranda eyleme katılması sağlanmış olmaktadır. Bu nedenle spongiöz greftlerin öğütülerek uygulandığı bazı durumlarda, laserin greft bölgesinde erken stabiliteyi sağlayarak yararlı olacağı düşünülebilir. Ayrıca spongiöz greft parçacıklarının akibetinin uzun süreli

bir deneyle araştırılmasının da yararlı olacağı kanısındayız.

Sonuç

Spongiöz grefonajda, özellikle küçük spongiöz parçacıkları üzerine laserin, osteoklastik aktiviteyi minimal düzeyde tutarak, osteoblastik faaliyeti artırarak ve greftin osteoindüksiyon özelliğinde artışa yölenerek olumlu etkide bulunduğu kanısına varıldı.

Kaynaklar:

1. Erginer, R., Centel, T., Alatlı, M., Ağcaoğlu, M., Savcı, N.: Farklı süreli laser uygulamasının kırık iyileşmesi üzerine etkisi, Deneysel araştırma, Acta Orthop, et Travm. Turc. Cilt: 22, No: 1, Sayfa: 210-214, 1988.
2. Erginer, R., Centel, T., Alatlı, M., Savcı, N., Ağcaoğlu, M.: Masif kortikal otogreftte laserin etkisi, Deneysel araştırma, Acta Orthop. et Travm. Turc. Cilt: 22, No: 1, Sayfa: 205-210, 1988.
3. Gillman, I., Wright, L.U.: Probable in vivo origin of multi-nucleated giant cells from circulating mononuclears, Nature 209: 263-265, 1966.
4. Heiple K.G., Goldberg, V.M., Powell, A.E., Bos, G.D., Zika, J.N., Biology of cancellous bone grafts, Orthop. clin. North Am., Cilt: 18, Sayı: 2, Nisan 1987.
5. Oral, C.K.: Laserin ağız cerrahisi girişimlerinde iyileşme üzerine etkisinin deneysel araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul, 1987.