

HİDROKSİLAPATİT İMPLANTLARDA KEMİK DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOLOJİK ARAŞTIRILMASI

Canan AKBAY* Hüsnü YAVUZ YILMAZ** Sevda SUCA***
Dilek NALBANT**** Levent NALBANT****

ÖZET

Hidroksilapatitin sert dokuda yaptığı değişiklikleri incelemek amacıyla kobaylarda mandibular anterior bukkal alanda alveol kemiği üzerinde yapılan diseksiyon ile subperiostal olarak hidroksilapatit kristalleri yerleştirildi. Kobaylar 1 hafta, 2 hafta, 4 hafta, 8 haftalık deney ve kontrol gruplarına ayrıldı. Kontrol gruplarına hidroksilapatit implantasyonu yapılmadı, yalnız diseksiyon yapılarak tekrar kapatıldı.

1 haftalık deney grubundan başlamak üzere tüm deney gruplarında giderek artan hücresel aktivite, daha sonra kemikleşmenin işareti olan osteoid doku oluşumu ve ilave kemik trabekülleri gelişmesi gözlemlendi. Hidroksilapatit uygulamaların kemikleşmenin oluşmasını uyardığı kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler : Hidroksilapatit, Osteogenez.

SUMMARY

HISTOLOGIC EVALUATION OF BONE, TISSUE REACTION TO THE HYDROXYLAPATITE CRYSTALS IMPLANT MATERIAL IN OUINEA - PIGS

The aim of the present investigation was to study the histologic

- (*) A.Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji Öğretim Üyesi, Prof. Dr.
(**) G.Ü. Diş Hekimliği Fak. Protetik Diş Ted. A.B.D. Öğr. Gör. Prof. Dr.
(***) G.Ü. Diş Hek. Fak. Protetik Diş Ted. A.B.D. Öğr. Üyesi, Yrd. Doç. Dr.
(****) G.Ü. Diş Hek. Fak. Protetik Diş Ted. A.B.D. Öğr. Gör. Dr.

response of bone to hydroxylapatite crystals. Quinea-pigs had hydroxylapatite in the form of round particles implanted subperiosteally in the antero - buccal regions. The control group was treated in the same manner but didn't receive implants. Tissue specimens were obtained in 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 8 weeks.

In all the specimens histologic observation of the hydroxylapatite implant regions at the 1,2,4,8 weeks intervals showed gradually increasing bone formation. It was stated that application of hydroxylapatite crystals stimulated bone formation.

Key words : Hydroxylapatite, Osteogenesis.

GİRİŞ

Hidroksilapatit seramik implant partikülleri, kalsiyum fosfat $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ yapısında olup 70'li yılların sonundan itibaren diş hekimliğinde kullanılmış ve son 10 sene içinde de rutin pratiğe girmiştir (10).

Gerek bileşim, gerekse kristalin yapısı nedeniyle materyalin kemik dokusuna yakın özellikler taşıdığı iddia edilmektedir. Kemik, periost ve mukoza yönünden materyalin biyolojik uyum içinde olduğunu belirten çeşitli görüşler vardır (10,11). Araştırmacıların çoğunluğu materyalin doku uyumu yönünden reaksiyonel olmadığı görüşündedirler. Bugünkü bilgilerimiz içinde implant-doku ilişkisinde arada bağ dokusu oluşmaksızın kemik ile implant materyalinin bütünleşmesi, bir başka deyimle kontakt osteogenezis ya da osteointegrasyon şekilleri ideal kabul edilmektedir (10, 11,12).

Hasta, hekim ve kullanılan materyal arasında yeterli bir uyum sağlandığında özellikle doğal yapıdaki implantların kemik ile bütünleşme şanslarının fazla olduğu bilinmektedir. Hidroksilapatit seramikler gibi partikül türü implantlarda kontakt osteogenezis sağlanmasının yanısıra partiküllerin mukozadan perfore olmamaları da önemlidir. Hidroksilapatit seramik partiküllerin irrite etmeyecek tarzda yuvarlak yapıda olmaları ve son yıllardaki çalış-

Canan AKBAY, Hüsnü YAVUZ YILMAZ, Sevda SUCA, Dilek NALBANT, Levent NALBANT

malarda fibrin ve benzeri maddelerle kapsüle edilerek uygulama tekniklerinin geliştirilmesi başarılarını arttırmış bulunmaktadır (15,16).

Bu araştırmanın amacı, dişhekimliğinde çoğunlukla rekonstrüksiyon amacıyla kullanılan hidroksilapatit implant partiküllerinin uygulamayı takiben 8 haftalık süre içerisindeki sert doku ilişkisinin histolojik olarak değerlendirilmesidir.

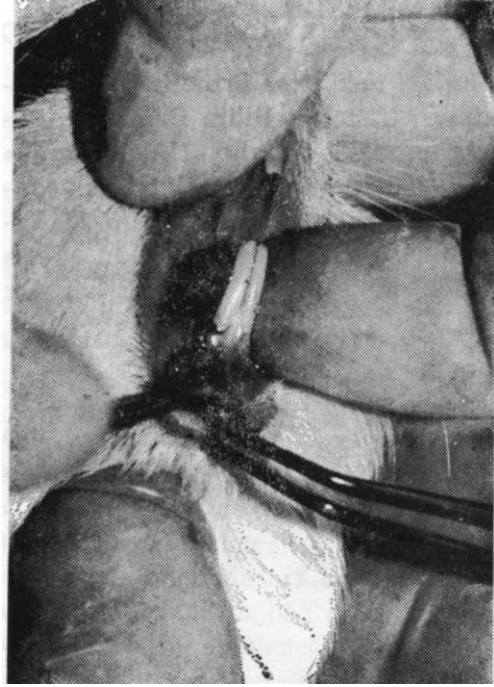
MATERYAL VE METOD

Bu araştırma G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi A.B. Dalı ve A.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji Bilim Dalında yürütüldü. Araştırmada 0.5-1 mm. çapındaki «Frialit -HA-Keramik» ticari isimli implant partikülleri, deney hayvanı olarak 5 aylık 450 - 500 gr. ağırlığında 20 adet erkek kobay kullanıldı (Resim 1). Kobayların 16'sı deney, 4'ü ise kontrol grubu olarak ayrıldı. Ayrıca deney ve kontrol grupları da kendi aralarında 1, 2, 4 ve 8 haftalık dört alt gruba ayrıldı.



Resim 1 : Frialit - HA - Keramik.

Deney hayvanları intraperitoneal olarak (5 cc/kg.) % 25'lik üretan ile anesteziye edildiler. Bunu takiben cerrahi prensipler altında, alt çenelerinde sağ kesici dişin distalinden 8 -10 mm. uzunluğunda vertikal insizyon yapıldı. Periost elavatörü ile mukoperiostal lambo dekole edilerek periost altına steril amalgam taşıyıcı ile serum fizyolojik ile karıştırılmış 0.1 gr.'lık hidroksilapatit partikülleri yerleştirildi (Resim 2). Mukoperiostal lambo yerine getirilerek primer olarak kapatıldı. Kontrol grubunda ise aynı işlem hidroksilapatit partikülleri konulmaksızın uygulandı.

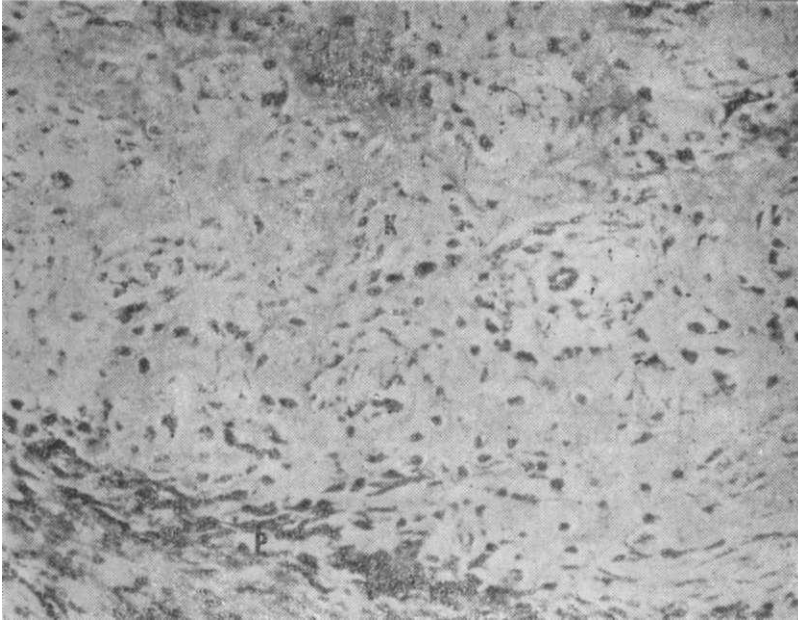


Resim 2 : Cerrahi işlem.

Postoperatif dönemde ayrı kafeslerde, yumuşak gıdalar ile beslenen deney ve kontrol grubu hayvanları belirlenen süreler sonunda yüksek dozda eter verilerek öldürüldü. Uygulama bölgelerinden alınan materyaller 48 saat 10'luk formalinde tespit edildikten sonra Von - Ebner solüsyonunda dekalsifiye edildi. Bu işlemden sonra rutin laboratuvar teknikleri uygulanarak 5 - 7 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen - Eozin ve Mallory - Azan üçlü boyası ile boyandı. Histolojik değerlendirmeler ışık mikroskopunda yapıldı.

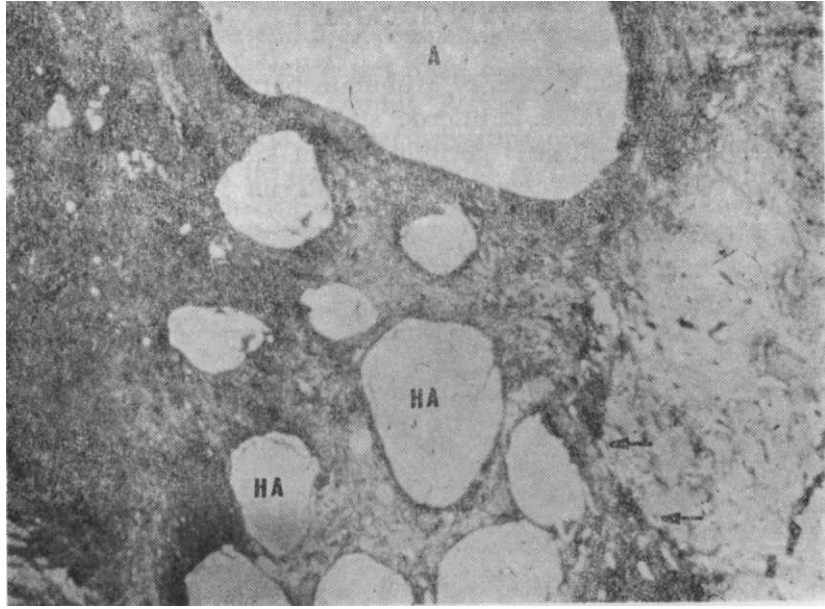
BULGULAR

Araştırmamızda her deney grubunun paralelinde yapılan kontrol gruplarından alınan kesitlerde sürelele uygunluk gösterecek şekilde iyileşme özellikleri görüldü. Bütün kontrol gruplarında infiltrasyon ya da enfeksiyon izlenmedi (Resim 3).

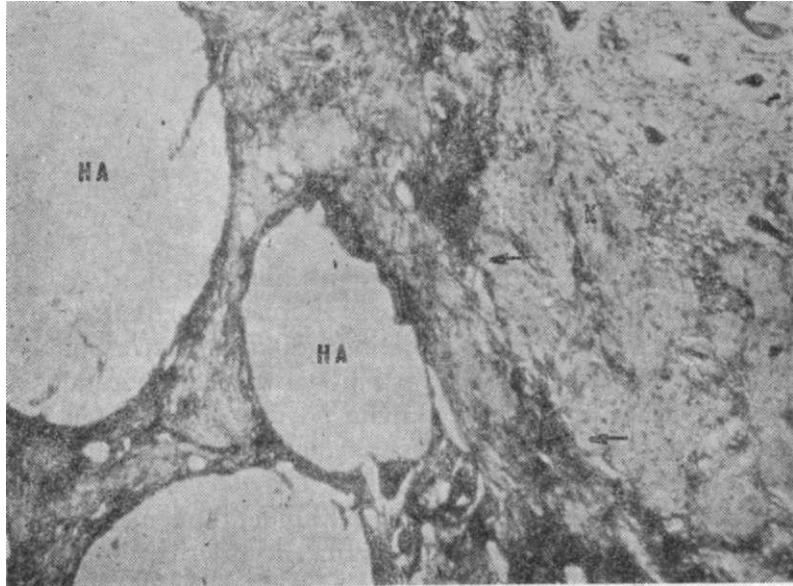


Resim 3 : Kontrol gruba; süreye uygun olarak (2 hafta) dokuda iyileşme özellikleri görülüyor. K: Kemik dokusu, P: Periost (H.E. X 300).

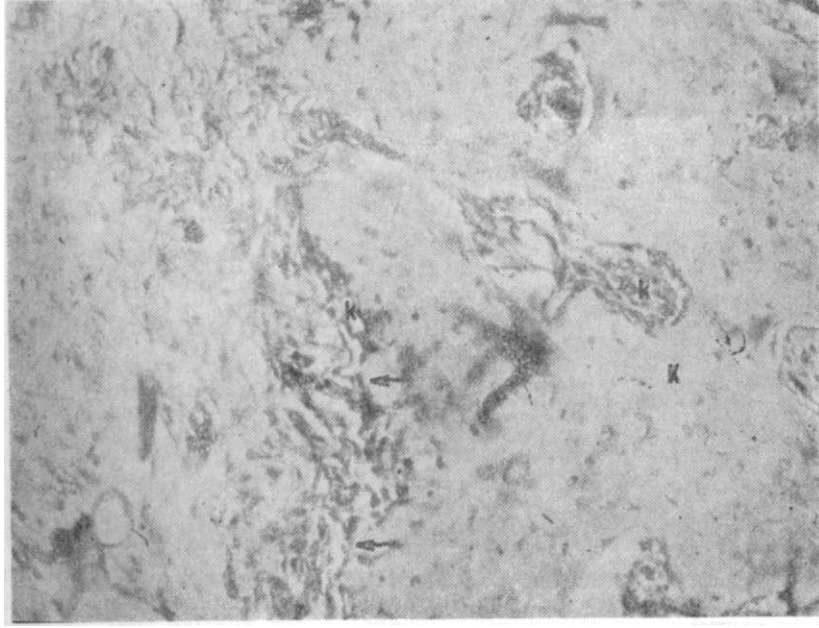
1. hafta sonunda deney grubundan alınan kesitlerde, subperiostal olarak uygulanan hidroksilapatit implant partiküllerinin yuvaları ve komşu subperiost bölgesinde dokuda aktivasyon görüldü (Resim 4). Hidroksilapatit partikül yuvaları ile normal kemik dokusu arasında ise hücresel aktivite gösteren sınır bölge izlendi (Resim 5). Aktif ara bölgedeki kemik matriksinin içinde ve çevresindeki kapillerlerde çoğalma görüldü. Kapiiler endoteli, lümeneye doğru kabartılar yaparak yerleşmişti. Kapiiler lümenlerinin çapları değişti. Kapiiler dışındaki dokuda, hücrelerden özellikle fibroblastların uzantılı sitoplazmaları, oval nükleusları ile geniş alanları kapladıkları gözlemlendi (Resim 6).



Resim 4 : Bir haftalık deney grubu; A : Alveol yuvası, HA : Hidroksilapatit partikül yuvası, Okla; Dokudaki aktivite görülüyor (H.E. X 240).



Resim 5 : Bir haftalık deney grubu; Hidroksilapatit partikül yuvaları (HA) ile normal kemik dokusu (K) arasında hücresel aktivite gösteren sınır bölge (okla) gösteriliyor (H.E. X 280).

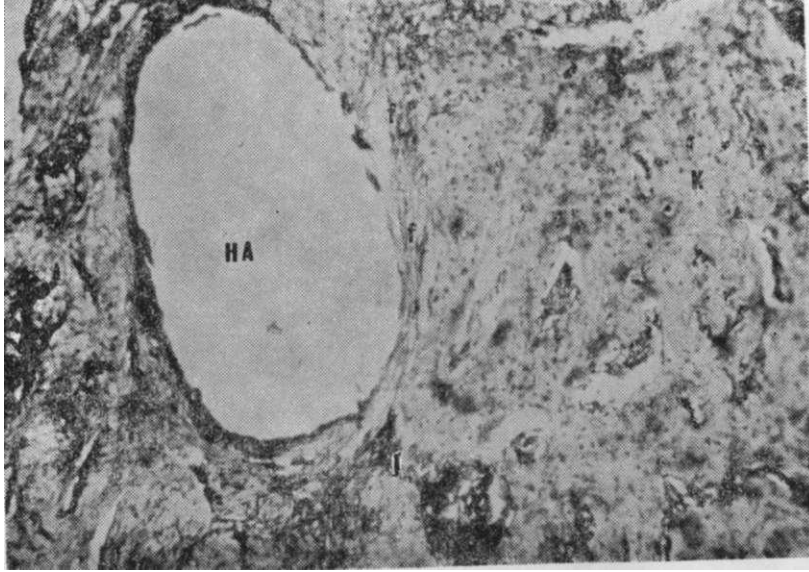


Resim 6 : Bir haftalık deney grubunda; Aktif alana komşu kemik mat-riksi (K) içinde kapillerde (k) çoğalma, kapiller dışındaki do-kuda özellikle fibroblastlar (okla) belirgin görülüyor (HE. X 300).

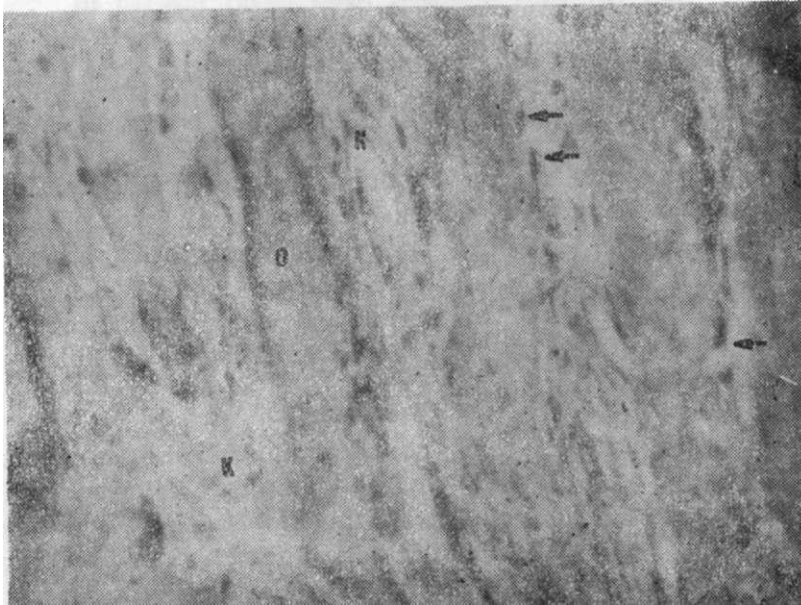
2. hafta sonunda deney grubundan alınan kesitlerde, implant boşluğundan kemik yüzeyine doğru fibroblastik aktif bölge incelendi (Resim 7). Fibroblastlardan farklılaşmış osteoblastlar, kal-sifiye kemik dokusunda da yer yer osteoid doku bölgeleri izlendi. Osteoid doku Mallory - Azan boyamasında mavi renkli trabekülleri ile daha iyi seçildi aynı boyamada erişkin kemik bölümleri pem-beye boyanmıştı (Resim 8).

4. hafta sonunda deney grubundan alınan kesitlerde kemik do-kusuna komşu olan periost ve bağ dokusunda hücresel aktivite-nin devam ettiği gözlemlendi. Bir kısım fibroblastlar daha ince ve uzun sitoplazmalarıyla izlendi. Bu görünüm hücrelerin durağan aşaması olarak tanımlandı. Diğer fibroblastlar grupları ise daha geniş sitoplazmik uzantılı ve iyi boyanarak aktif fibroblast olarak seçildiler (Resim 9). Kemik dokusunda ise sağlıklı bir görünüm

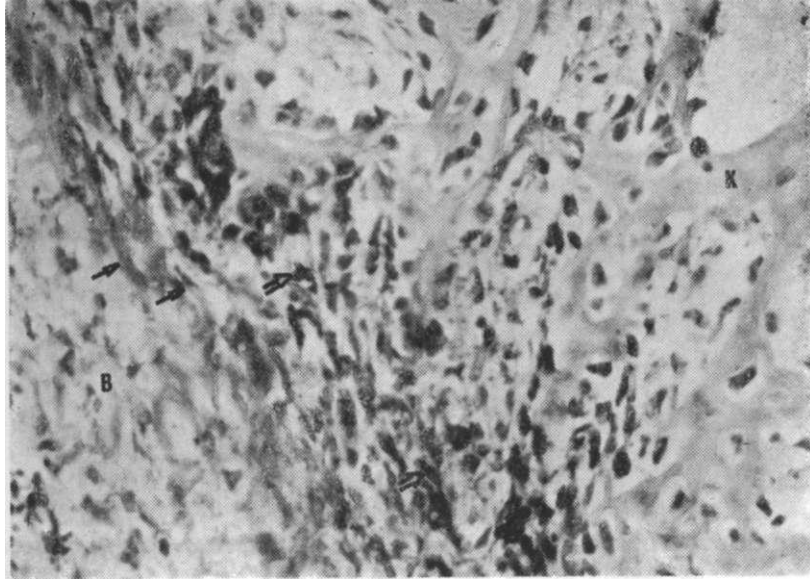
HİDROKSİLAPATİTLERDE, KEMİK DOKU DEĞİŞİKLİKLERİ



Resim 7 : İki haftalık deney grubunda kemik yüzeyine (K) komşu implant boşluğu (HA) görülüyor, (f) : fibroblastik aktif bölge (H.E. X 280).



Resim 8 : İki haftalık deney grubunda yeni farklılaşmış osteoblastlar (okla), osteoid doku (O) ve erişkin kemik dokusu (K) izleniyor (Mallory - Azan X320).

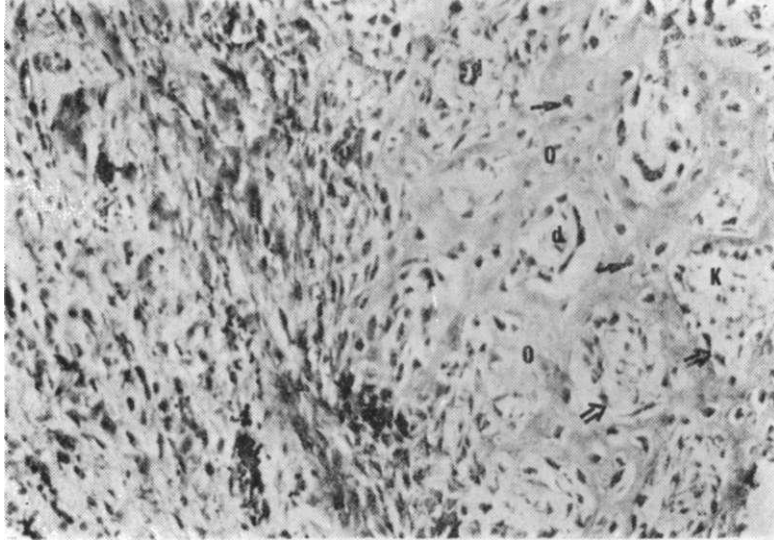


Resim 9 : Dört haftalık deney grubunda kemik dokusunda komşu periost ve bağ dokusunda durağan (->) ve aktif (çift çizgili ok) fibrobâstlar izleniyor (K) : Kemik dokusu, (B) : Bağ dokusu. (Mallory - Azan X 350).

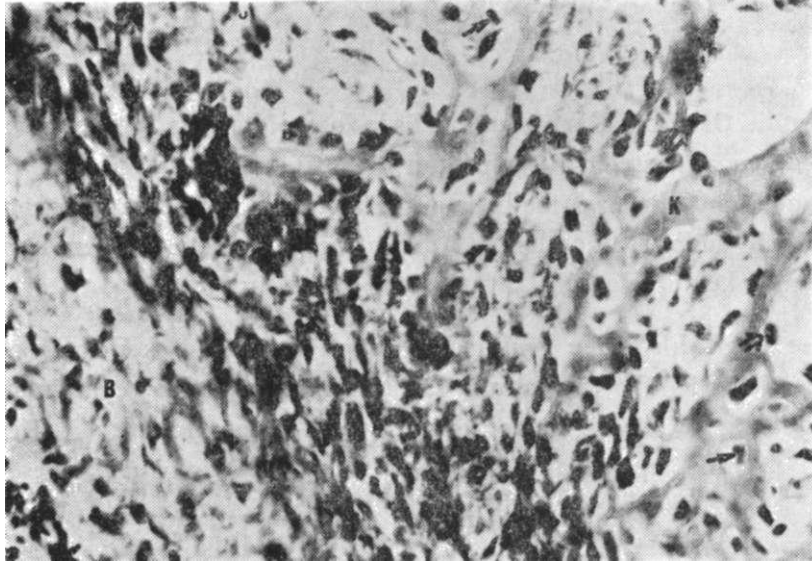
izlendi. Osteoblastların yeni gelişen osteoid doku içinde gömülü kaldıkça aktivitelerini yitirdikleri ve osteositlere dönüştükleri izlendi. Yeni oluşan lamelli kemik arasındaki kanallarda damarlar, düzenli endotel hücreleri ile dikkati çekti. Yeni gelişen lamelli kemik, küçük alanları kaplamaktaydı (Resim 10).

8 haftalık deney grubundan alınan kesitlerde; kemik dokusu, sert doku içinde yuvalanmış osteositler, sert doku çevresinde sıralanmış iri bazofil sitoplazmalı osteoblastlar ile izlendi (Resim 11). Kemik dokusuna komşu olan fibröz bağ dokusu yapısındaki periosta, fibrobâstlar arasında kollajen demetler Mallory Azan boyasından sonra özellikle mavi renkli olarak seçildi. Periosta komşu olan bağ dokusunda ise hücreler, lifler ve kan damarları ile sağlıklı bir bölge izlendi (Resim 12).

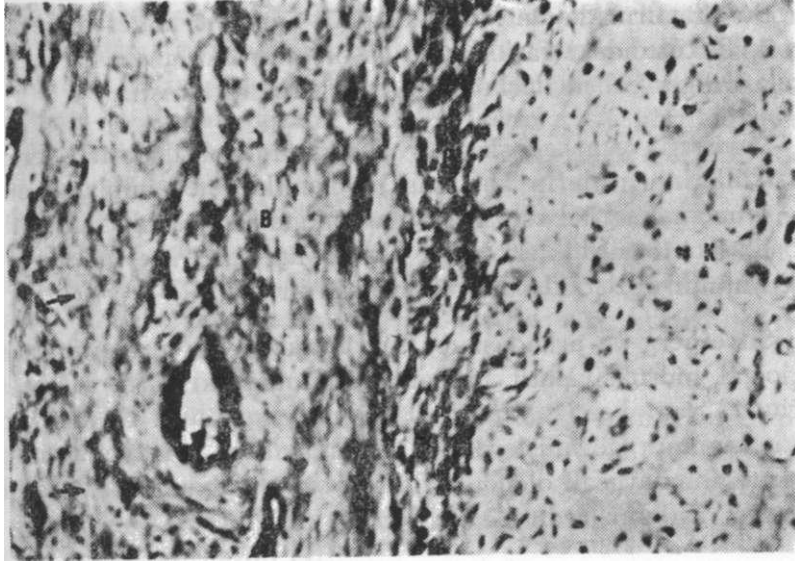
HİDROKSİLAPATİTLERDE. KEMİK DOKU DEĞİŞİKLİKLERİ



Resim 10 : Dört haftalık deney grubunda yeni gelişen osteoid (O) doku ve lamelli kemik (K) yapısı görülüyor. () : Osteositler. (d) : damarlar, (çift çizgili ok) : osteoblastlar (Mallory - Azan X 300).



Resim 11 : Sekiz haftalık deney grubunda kemik dokusu (K), osteosit () ve osteoblastlar (çift çizgili ok) görülüyor. (B) : Bağ dokusu (Mallory - Azan X 380).



Resim 12 : Sekiz haftalık deney grubunda kemik dokusu (K), periost (P), bağ dokusu (B), bağ dokusunda kollajen demetler (okla), yan damarları (d) görülüyor (Mallory - Azan X300).

TARTIŞMA

Hidroksilapatit implantlarla ilgili çalışmalar incelendiğinde çeşitli vaka raporları (1, 5, 7, 18), klinik görüşler (12, 13,14), histolojik ve histopatolojik araştırma sonuçları (3, 4, 6) dikkati çekmektedir.

İmplant - doku ilişkisinde doğal yapıya yakın seramik implantların diğer türlere oranla daha uyumlu olduğu belirtilmektedir (10, 12). Kemik oluşumu konusunda ise, araştırmacılar arasında iki ayrı görüş oluşmuştur. Bir kısım araştırmacılar hidroksilapatit seramiklerinin osteojenik olmadığını, yani ektopik bölgelerde (örn : kas gibi) kemik oluşumuna neden olmadığını, ancak yeni kemik depozisyonu için uygun bir fiziksel matriks oluşturduğunu, böylece osteokunduktif ve osteofilik bir materyal olarak tanımlanabileceğini savunmaktadırlar (3, 4, 10, 11). Buna karşıt bazı araştırmacılar ise, maddenin herhangi bir etkisi olmadığını defekt bölgesinin fizyolojik sınırlar içinde yeni kemik tarafından organize olduğunu iddia etmektedirler (2, 8, 17).

Bu araştırmada da hidroksilapatit implant materyaline karşı kemik dokusundaki farklılaşma ışık mikroskopunda incelenerek yapılan diğer çalışmalarla birlikte değerlendirilmiştir.

Denissen ve arkadaşları (6); yoğun hidroksilapatit seramik partiküllerinin ratların kaslarına ve kemiklerine implante etmişler, sonuçta kas dokusu implantasyonunda ince bir fibröz doku kapsülasyonu gördükleri halde kemik - implant yüzeyinde yeni kemik yapımı gözlediklerini bildirmişlerdir.

Silverberg ve arkadaşları (19) yaptıkları bir araştırmada subperiostal hidroksilapatit implantasyonundan iki hafta sonra, subperiostal yeni kemik yapımını ve buraya komşu dokuda fibröz doku yapımını görmüşlerdir. Bu alanda bazı araştırmacılar gibi, dikkate alınmayacak ölçüde inflamasyon ve yabancı cisim dev hücrelerine rastlamışlardır (4, 19).

Bizim çalışmamızda ise 1 ve 2 haftalık uygulamalar sonucunda subperiostal alanda kapillerlerde çoğalma, fibroblastlarda aktivite izlendi. İnflamasyona benzer bir görüntü yoktu. Kapillerin çoğalması doku savunmasının ve yeni doku yapımının bir kanıtı olarak kabul edildi. 2. hafta sonundaki deney gruplarında osteoid doku, yeni farklılaşmış osteoblastlar ve gelişkin kemik bölümleri görüldü.

Chang ve arkadaşları (4), supperiostal uygulanan hidroksilapatit implant partiküllerinin fibröz bağ dokusunda kuvvetli bir bağlantı ve mekanik stabilizasyon sağladığını göstermişlerdir. Supperiostal uygulamalarda ise kemik dokusunda bir yenilenme gözlenmemiştir. 4. hafta sonunda subperiostal uygulanan implant partikül alanlarından kemik yüzeyine doğru fibroblastların aktif bir şekilde yayıldığını, osteoblastların gelişerek kemik formasyonunun belirlediğini gözlemişlerdir. Harvey ve arkadaşları (9), tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada 4 haftalık uygulamadan sonra uygulama alanında doku reaksiyonu gördüklerini bildirmişlerdir. Winter ve arkadaşları (20), ratların femurlarına hidroksilapatiti implante etmişler ve 4 hafta sonunda bu alanlarda yeni kemik yapımı gözlemişlerdir.

Bu çalışmada da 4 haftalık uygulama süresi sonunda, yukarıdaki araştırmacılar gibi kemik dokusuna bitişik alanda osteoid

dokunun oluştuğu, daha derin kısımlarda lamelli kemik dokusunun korunduğu gözlemlendi. Osteoid dokuyu saran bağ dokusunda ise hücresel aktivite devam etmekteydi. Lamelli kemik arasındaki kanallarda damarlar düzenli endotel hücreleriyle görüldüler. Bu görünüm yeni doku yapımının sürdüğü kanısını vermektedir.

Silverberg ve arkadaşları (19), 6 haftalık uygulamadan sonra lamelli kemik oluşumunun başladığını gözlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kemik oluşumu 4. hafta sonunda görüldü. Bu uygulanan yöntem veya deney hayvanı türüne bağlı küçük bir farklılık olarak düşünülmüştür.

Bir kısım araştırmacılar, 8 haftadan daha uzun süreli yaptıkları araştırmalarda organize kemik formasyonunun başladığını ve osteogenez için aktif postoperatif periodun 3., 4. haftadan itibaren başladığını ve 3. aydan, 6. aya kadar düzenli olarak sürdürüldüğünü vurgulamışlardır (4).

Bu çalışmada da, 8 hafta sonunda lamelli kemiğin gelişmiş olduğunu, kemik içinde yuvalanmış osteositleri, halen gelişmekte olan alanlarda ise bazofil sitoplazmaları ile osteoblastların görünüşü, osteogenezin devam ettiğini göstermektedir. Bu alanlara komşu bağ dokusunda ise hücresel ve lifsel bir aktivite devam ettiği gözlenmiştir.

Bu araştırmada hidroksilapatit implant materyallerinin subperiostal uygulanması sonucunda, erken periodda sert doku yapımına uygun bir ortam oluşturduğu ve dokuda herhangi bir infiltrasyon ya da enfeksiyona neden olmadığı belirlenmiştir. Bu verilerin ışığı altında sonucun klinik uygulamalar yönünden olumlu değerlendirilebileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- 1 — Alling, C.C. : Hydroxylapatite Augmentation of Edentulous Ridges. J. Prosthet. Dent., 52 (6) : 828-831, 1984.
- 2 — Beirne, O.R., Greenspan, J.S. : Histologic Evaluation of Tissue Response to Hydroxylapatite Implanted on Human Mandibles, J. Dent. Res., 64 (9) : 1152-1154, 1985.
- 3 — Block, M.S., Kent, J.N. : Healing of Mandibular Ridge Augmentations Using Hydroxylapatite with and without Autogenous Bone in Dogs, J. Oral Maxillofac. Surg., 43 (1) : 3-7, 1985.
- 4 — Chang, C.S., Matukas, V.J., Lemons, J.E. : Histologic Study of Hydroxylapatite as an Implant Material for Mandibular Augmentation, J. Oral Maxillofac. Surg., 41 (11) : 729-737, 1983.
- 5 — Chao, S.Y., Poon, C.K. : Histologic Study of Tissue Response to Implanted Hydroxylapatite in Two Patients, J. Oral Maxillofac. Surg., 41 (11) : 729-737, 1983.
- 6 — Denissen, H.W., De Groot, K., Makkes, P.Ch., Hooff, A., Klopper, P.J. : Tissue Response to Dense Apatite Implants in Rats, J. Biomed. Mater. Res., 14 (6) : 713-721, 1980.
- 7 — Donath, K., Rohrer, M.D., Mannagetta, J.B. : A Histologic Evaluation of a Mandibular Cross Section One Year After Augmentation with Hydroxylapatite Particles, Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., 63 (6) : 651-655, 1987.
- 8 — Proum, S.J., Kushner, L., Scopp, I.W., Stahl, S.S. : Human Clinical and Histologic Responses to Durapatite in Intraosseous Lesions. Case Reports, J. Periodontol., 53 (12) : 719-725, 1982.
- 9 — Harvey, W.K., Pincock, J.L., Matukas, V.J., Lemons, J.E. : Evaluation of a Subcutaneously Implanted Hydroxylapatite - Avitene Mixture in Rabbits, J. Oral Maxillofac. Surg., 43 (4) : 277-280, 1985.
- 10 — Jarcho, M. : Calcium Phosphate Ceramics as Hard Tissue Prosthetics, Clin. Orthop., 157 : 259-278, 1981.
- 11 — Jarcho, M. : Biomaterial Aspects of Calcium Phosphates, Dent. Clin. North Am., 30 (1) : 25-47, 1986.
- 12 — Kent, J.N. : Reconstruction of the Alveolar Ridge with Hydroxylapatite, Dent. Clin. North Am., 30 (2) : 231-257, 1986.
- 13 — Kent, J.N., Quinn, J.H., Zide, M.F., Finger, I.M., Jarcho, M., Rothstein S.S. : Correction of Alveolar Ridge Deficiencies with Nonresorbable Hydroxylapatite, J.A.D.A., 105 (6) : 993-1001, 1982.

- 14 — Larsen, H.D., Finger, I.M., Guerra, L.R., Kent, J.N. : Prosthodontic Management of the Hydroxylapatite Denture Patient: A Preliminary Report, *J. Prosthet. Dent.*, 49 (4) : 461-470, 1983.
- 15 — Mehlich, D.R., Taylor, T.D., Leibold, D.G., Hiatt, R., Waite, D.E., Laskin, D.M., Smith, S.T., Koretz, M.M. : Evaluation of Collagen/Hydroxylapatite for Augmenting Deficient Alveolar Ridges : A Preliminary Report., *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 45 (5) : 408-413, 1987.
- 16 — Misiek, D.J., Kent, J.N., Carr, R.F. : Soft Tissue Responses to Hydroxylapatite Particles of Different Shapes, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 42 (3) : 150-160, 1984.
- 17 — Moskow, B.S., Lubarr, A. : Histological Assesment of Human Periodontal Defect After Durapatite Ceramic implant. Report of a Case, *J. Periodontol.*, 54 (8) : 455-462, 1983.
- 18 — Page, D.G., Laskin, D.M. : Tissue Response at the Bone-Implant Interface in a Hydroxylapatite Augmented Mandibular Ridge, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 45 (4) : 356-358, 1987.
- 19 — Silverberg, M., Singh, M., Sreekanth, S., Gans, B.J. : Use of Polyglycolic Acid Mesh to Confine Particulate Hydroxylapatite for Augmentation of Bone in the Rat, *J. Oral Maxillofac.*, 44 (11) : 877-886, 1986.
- 20 — Winter, M., Griss, P., DeGroot, K, Tagai, H., Heimke, G., Dijk, H.J.A., Sawai, K. : Comparative Histocompatibility Testing of Seven Calcium Phosphate Ceramics, *Biometaterials*, 2 : 159-161, 1981.