

## DENEYSEL KEMİK DEFEKTLERİNİN ONARIMINDA YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONU (YDR)'NUN VE YDR İLE BİRLİKTE DEĞİŞİK KEMİK GREFTLERİNİN BİRLİKTE UYGULANMASININ HISTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Buket AYBAR\*, Serhat YALÇIN\*, Taha Tekin YAZAR\*, Aydın GÜREL\*\*, Yusuf EMES\*, Funda YILDIRIM\*\*, Tahsin YEŞİLDERE\*\*

### ÖZET

Bu çalışmada amacımız yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR, Tutoplast®-Dura Biodynamics Int Deutschland, GmbH, Erlangen) ve YDR ile birlikte allojenik (Tutoplast®-Spongiosa-Pfrimmer-Viggo, Biodynamics, Inc, Germany) ve ksenojenik (Bio-Oss®, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland) kemik greftlerinin kemik defekti iyileşmesi üzerine olan etkilerini karşılaştırmaktır.

Araştırmayı 40 adet Sprague-Dawley sıçan üzerinde gerçekleştirdik. Üç ve altı haftalık iki ana grup belirledik. Bu iki grubu da kullanılan materyale göre dört alt gruba ayırdık. İlk grubu 3. haftanın sonunda, ikinci grubu oluşturan sıçanları 6. haftanın sonunda sakrifiye ettik.

Membran grubunun tek başına kullanıldığında öteki gruplara oranla daha başarılı olduğunu tespit ettik.

**Anahtar kelimeler:** Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, kemik greftleri

### SUMMARY

*Histopathological examination of the effects of Guided Tissues Regeneration (GTR) and GTR together with various bone graft materials on the repair of experimentally created bone defects. The aim of this study to evaluate and compare the effects of allograft (Tutoplast®-Spongiosa-Pfrimmer-Viggo, Biodynamics, Inc, Germany), xenograft (Bio-Oss®, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland), and guided tissue regeneration (GTR, Tutoplast®-Dura Biodynamics Int Deutschland, GmbH, Erlangen) on bone defects.*

We used 40 males Sprague-Dawley rats. All of the rats were divided into two groups. First group of rats were sacrificed at the end of 3<sup>rd</sup> week the one in the second group were sacrificed at the end of 6<sup>th</sup> week. These two groups were divided into four groups according to the material used.

Membrane is the most effective bone forming material when compared to allograft and xenograft materials.

**Key words:** Guided tissues regeneration, various bone grafts

### GİRİŞ

Günümüzde gelişen teknolojiyle birlikte, maksillofasial bölgede oluşan defektlerin onarımı için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında otojen, allojen, ksenojen kemik greftleri ve membranlar klinikte en çok kullanılanlardır.

Defekt alanında istenmeyen fibröz doku hücrelerini ve ürünlerini yara bölgesinden

uzak tutan fakat besleyici sıvı ve gazların geçişine imkan vererek osteojenik hücrelerin rejenerasyonuna dolayısıyla defektin doğal kemik oluşumuyla iyileşmesine olanak sağlayan Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR) kavramı günümüzde artan oranda değer kazanmaktadır (3,4,6,7,8,11,12,14,15).

Allojen ve ksenojen kemik greftleri uzun süredir klinikte uygulanmakta ve belli oranlarda başarıları bilinmektedir (2,6,7).

Mecmuaya geldiği tarih: 21.06.2000

\* İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul

\*\* İstanbul Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul

Bu çalışma İ.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje no: 1134-010598

Bu çalışmada amacımız, YDR tekniğinin tek başına, allojen ve ksenojen kemik grefti ile birlikte uygulandığı durumlarda kemik defekti iyileşmesi üzerine olan etkilerini karşılaştırmaktır.

## MATERYAL ve METOD

Araştırmamız, İ. Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü ve Uygulama Merkezi'nde, 40 adet 400-450 gr ağırlığında erkek Sprague Dawley deney sıçanı kullanılarak yapılmıştır. Çalışmamızda kullanılan materyaller; allogreft (Tutoplast®-Spongiosa Pfrimmer-Viggo, Biodynamics, Inc, Germany), ksenogreft (Bio-Oss®, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland) ve membran (Tutoplast®-Dura Biodynamics Int Deutschland, GmbH, Erlangen)'dir. Ratların anestezisi, i.m. ketalar enjeksiyonu ile (100 mg/kg) sağlandı. Tibia üzerinde serum fizyolojik irrigasyonu altında ve düşük devirde (014 numara rond frez kullanarak ortalama 6 mm uzunluğunda ve 3 mm derinliğinde ve 2 mm genişliğinde tahadan hazırlanmış şablonlar kullanılarak kemik defektleri açıldı. Gruplardan birine, kemik defekti içine allogreft (Tutoplast®-Dura Biodynamics Int Deutschland, GmbH, Erlangen) yerleştirildi ve üzeri membranla sarıldı. Diğerine kemik defektinin içine ksenogreft (Bio-Oss®, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland) yerleştirilip üzeri membranla sarıldı. Diğer grupta defekt sadece membran (Tutoplast®-Dura Biodynamics Int Deutschland, GmbH, Erlangen) ile sarıldı. 4. grupta kemik kavitesi boş bırakıldı. Bu gruplar 3 ve 6 haftalık deney süreleri sonunda aşırı doz eterle sakrifiye edildi ve histopatolojik ince-

leme yapılmak üzere disseke edilerek İ.Ü. Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

Bulgular Modifiye Heiple Kemik Rejenerasyonu Skorum Sistemi'ne göre değerlendirildi (Tablo 1,2).

**Tablo 1.** Modifiye Heiple Kemik Rejenerasyonu Skorum Sistemi

0	→	Kemik oluşumu yok
1	→	Sınırlı kemik oluşumu, 1/3 oranında defekt dolmuş
2	→	2/3 oranında kemikle dolmuş
3	→	Yüksek oranda kemik oluşumu

## BULGULAR

1. grubu oluşturan allogreft-membran grubunda, 3. haftanın sonunda; bütün kesitlerde allogreft partikülleri çevresinde fibröz bir kapsül ve yer yer primer kemik dokusu görüldü.
2. grubu oluşturan allogreft-membran grubunda, 6. haftanın sonunda; fibröz dokunun ve kırık dokunun, kemik trabeküllerine dönüşmeye başladığı görüldü (Resim 1).
3. grubu oluşturan ksenogreft-membran grubunda, 3. haftanın sonunda; bütün kesitlerde ksenogreft partikülleri çevresinde ince ve sıkı bir fibröz doku gelişimi ve yer yer fibröz dokunun kemiksel dokuya dönüştüğü gözlemlendi.
4. grubu oluşturan ksenogreft-membran grubunda, 6. haftanın sonunda; greftin çevresinde geniş fibröz dokunun yer yer kemik lamellerine dönüştüğü görüldü (Resim 2).

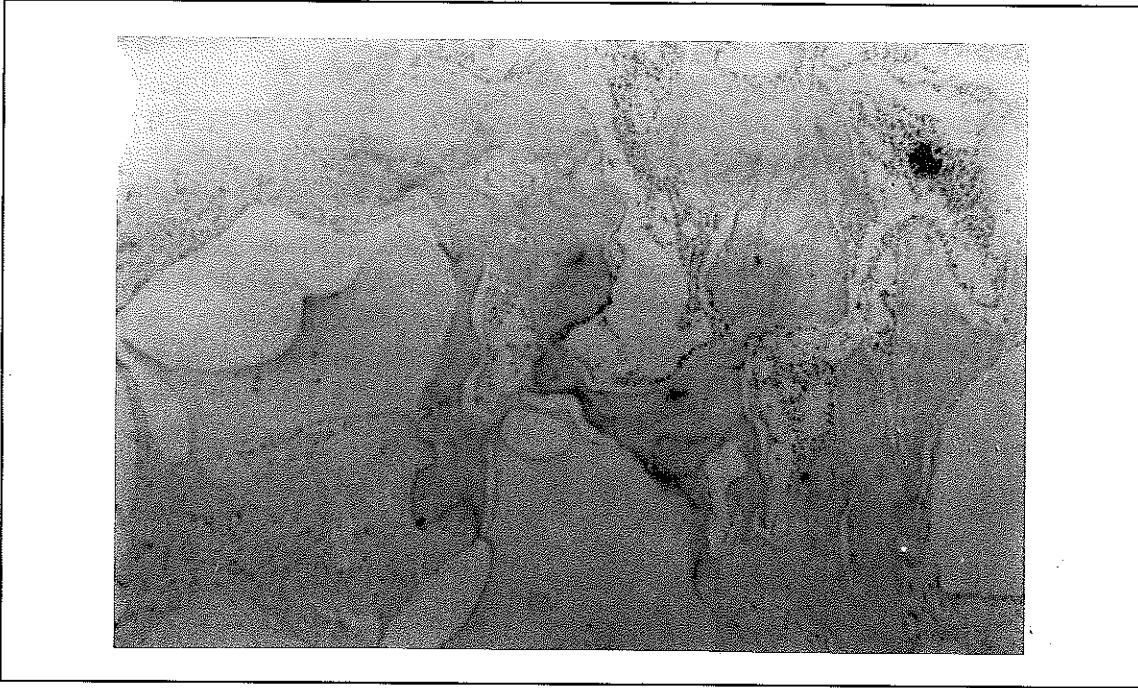
**Tablo 2.** Grupların Modifiye Heiple Kemik Rejenerasyonu Skorum Sistemi'ne göre bulguları

	3. hafta	6. hafta	3. hafta	6. hafta	3. hafta	6. hafta	3. hafta	6. hafta
0	-	-	-	-	-	-	3	1
1	8	6	7	6	1	-	5	6
2	2	4	3	4	6	2	2	3
3	-	-	-	-	3	8	-	-

**Resim 1.** Kemik trabeküllerinin oluşumu gözlenmekte (HE X 10)



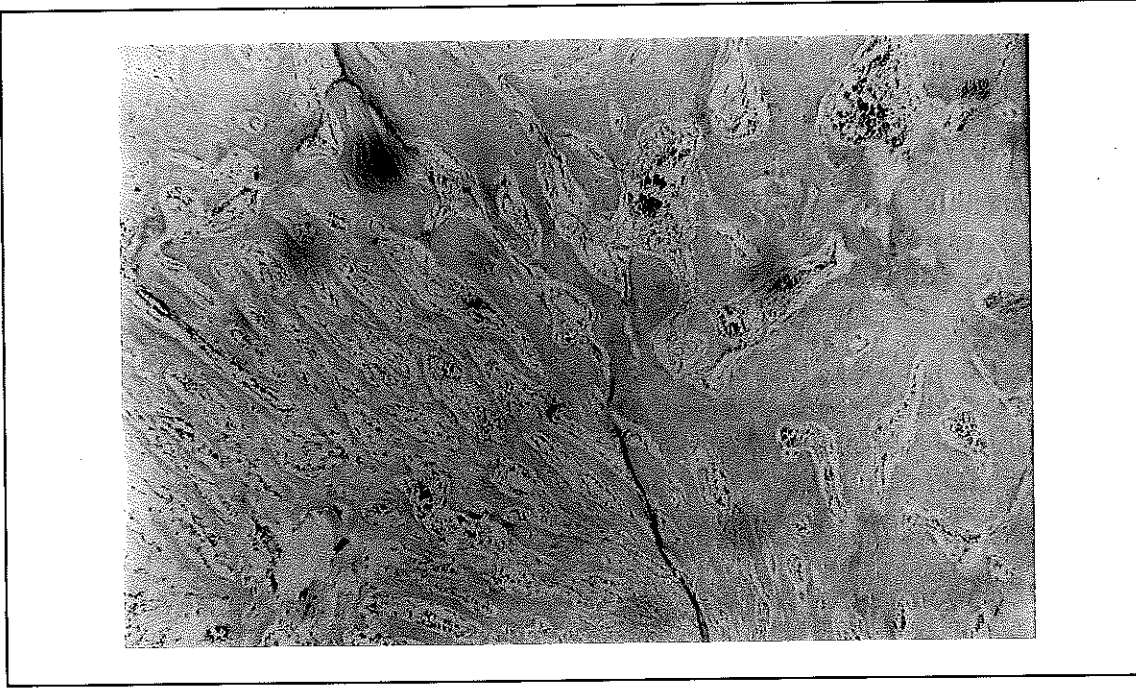
**Resim 2.** Partiküller çevresinde bağ dokusu ve trabekül oluşumu gözlenmekte (HE X 10)



5. grubu oluşturan membran grubunda, 3. haftanın sonunda; ortada gevşek periferde doğru daha sıkılaştıran primer kemik dokusu ve membranın yer yer bütünlüğünün bozulduğu görüldü.

6. grubu oluşturan membran grubunda, 6. haftanın sonunda; defektin yeni oluşan kemik trabekülleriyle dolu olduğu ve ara bölgelerde de sıkı fibröz doku üremelerinin olduğu görüldü (Resim 3).

Resim 3. Kemik trabeküllerinin oluşumu gözlenmekte (HE X 10)



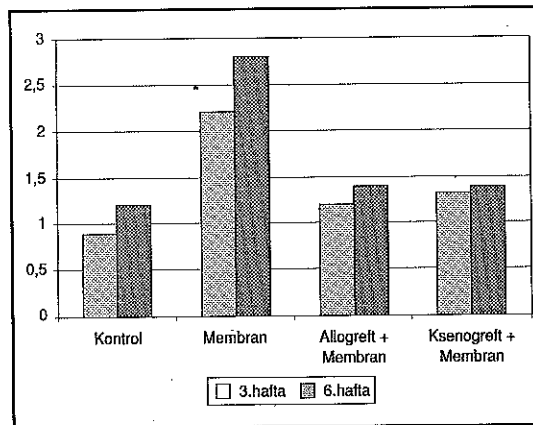
7. grubu oluşturan kontrol grubunda, 3. haftanın sonunda; defektin çevresinde bağ dokusunun yer yer kıkırdak yapıya ve primer kemik dokusuna dönüşmeye başladığı görüldü.

8. grubu oluşturan kontrol grubunda, 6. haftanın sonunda; defektin yer yer kemik trabekülleriyle dolduğu gözlemlendi.

Bu çalışmada istatistiksel testler, GRAPHAD INSTAT V.2.02 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Student-t testi, varyans analizi (ANOVA) ve Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır. Grupları kendi aralarında 3. ve 6. hafta arasında kemik oluşumunu artırma yönünden kıyasladığımızda; membran grubunda 6. haftada 3. haftaya oranla ( $t:2.496$ ,  $p:0.0225$ ) membran yönünde ileri derecede anlamlı bir fark tespit edilmiştir. 3. haftada ise; membran ile kontrol grubu arasında kemik oluşumunu artırma yönünden membran grubu lehine çok ileri derecede anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Membran grubu ile allogreft+membran grubu ve ksenogreft+membran arasında anlamlı

bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ).6. haftada ise; membran grubu ile diğer gruplar arasında (kontrol grubu, allogreft+membran grubu ve ksenogreft+membran grupları) kemik oluşumunu artırma yönünden çok ileri derecede anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Grafik 1).

Grafik 1. Grupların 3. ve 6. hafta ortalama değerleri



## TARTIŞMA

Kullanılmakta olan bütün kemik greft materyallerinin avantajları olmakla birlikte bir takım dezavantajları da vardır. Otojen greft di-

şındaki tüm maddeler organizma için yabancı cisimlerdir ve hepsi belli oranlarda yabancı cisim reaksiyonuna neden olurlar. Otojen kemik greftlerinin elde edilmesi için ikinci bir operasyonun gerekli olması, olası bir kanama ve infeksiyon riski yanında, geniş defektlerde yeterli materyali elde edilmesindeki zorluk gibi nedenler bu metodun zararları olarak sayılabilir (9,16).

Sandberg ve ark. (13), Sprague Dawley deney sıçanlarının mandibulasında oluşturdukları 5 mm genişliğindeki defektleri e-PTFE ve rezorbe olabilen polilaktik/poliglitolik asit kopolimer yapıdaki membranlarla kapatmışlar ve defektlerin her iki membran grubunda da büyük oranda yeni kemikle dolduğunu bildirmişlerdir. İnflamatuar yanıtın yüksekliğini membranların rezorbe olma özelliğine, kırkıdaksal iyileşmeyi ise PLA/PGA yapıdaki membranların iyileşme döneminde membran dışından oksijen geçişine izin vermemelerine dolayısıyla membran içindeki defekt alanında oluşan düşük oksijen basıncına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Yine rezorbe olan membranların çevre yumuşak dokunun basıncına karşı geniş defektlerde yeterince direnç gösteremediği sonucuna varmışlardır. Biz ise yaptığımız deneysel çalışmada kullandığımız membranın bütünlüğünü koruduğunu, yine PLA/PGA'daki gibi kırkıdaksal iyileşme alanlarının olduğunu gözledik. Dolayısıyla Duramaterin PLA/PGA'dan daha az oranda inflammatuar yanıtı neden olduğunu tespit ettik.

Dahlin ve ark. (7), diğer bir deneysel çalışmalarında, mandibularında 5mm genişliğinde transosseöz defektler oluşturulmuş deney hayvanlarına e-PTFE membran uygulamış ve 6 hafta sonra yaptıkları histolojik analiz neticesinde tüm deney hayvanlarında defektin tamamen iyileştiğini, e-PTFE membranların iyi tolere edildiğini, defekt kenarlarındaki kemikte rezorpsiyon alanları oluşmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da membran uygulanan grupta yüksek oran-

da yeni kemik dokusunun oluşumunu belirledik. Membrana karşı inflammatuar yanıtın yüksek olmaması bize, belirgin bir yabancı cisim reaksiyonu olmadığını açıklamaktadır.

Hurzeler ve ark. (10), 5 erişkin maymunun implant çevresindeki kemik kavitesine; bir gruba rezorbe olabilen membran, diğer gruba ise rezorbe olabilen membran+ksenogreft (Bio-Oss®, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland), diğer bir grubu da ePTFE+ksenogreft (Bio-Oss®, Geitslich Sons Ltd Wolhusen, Switzerland), son gruba da kontrol grubu olarak 6 ay sonra kemik oluşumunu incelemişler. Dört grup arasında yeni kemik oluşumunun başlangıça oranla oldukça arttığını ancak grup 2 ve 3 arasında belirgin farklılık olmadığını ifade etmişlerdir. Biz de rezorbe olabilen bir membran olan Dura ile yüksek düzeyde kemik oluşumu elde ederken membran+ksenograft grubunda aynı oranda başarılı kemik onarımının olmadığını tespit ettik.

Caplanis ve ark. (5) dondurulmuş-kurutulmuş kemiğin (DDK) YDR ile birlikte uygulandığında kemik oluşumunu artırıcı etkisini incelemek üzere 6 adet köpek üzerinde çalışmışlardır. 1. gruba demineralize DDK tesaüfi olarak seçilen hayvan üzerindeki kemik defektine uygulamışlardır. Diğer gruba da DDK+PTFE uygulamışlar ve 4 haftalık aradan sonra histolojik inceleme yapmışlardır. Histolojik gözlemler sonrasında DDK'in YDR üzerine kemik oluşumunu artırma yönünden istatistiksel anlamlı bir etkisi olmadığını ifade etmişler. Biz de çalışmamızda YDR'nin tek başına kullanıldığı deney gruplarında, greftlerle birlikte uygulanan YDR uygulamalarına göre daha başarılı olduğu ve oluşan yeni kemik dokusunun daha yoğun olduğunu tespit ettik.

Akal ve ark. (1) kist enükleasyonu ve apikal kök rezeksiyonu operasyonlarından sonra kemik defektlerine allogreft (Tutoplast® uygulamışlar ve 1. hafta, ilk 3 ay, 6 ay ve 1. yılda klinik ve radyolojik muayeneler yap-

mışlardır. Yaptıkları inceleme sonucunda herhangi bir trabeküler anomali ve yabancı doku reaksiyonu saptamamışlardır. Aynı şekilde biz de 6. haftada 3. haftaya oranla daha fazla trabeküler kemik oluşumu saptayarak yabancı doku reaksiyonu gözlemedik.

Sonuç olarak, YDR materyali olarak duramater kullandığımız deneysel çalışmamızda, kemik defektlerinin onarımında YDR'nin tek başına kullanılmasının greftlerle birlikte uygulanmasından daha başarılı olduğunu düşünmekteyiz.

### KAYNAKLAR

1. Akal KÜ, Cambazoğlu M: Kistektomi, Kronik Enfeksiyon Bölgelerinin Küretajı ve Apikal Rezeksiyon Operasyonları Sonucunda Oluşan Kemik Defektlerinde Solventlerle Dehidrate Edilmiş Kemik Çipslerinin Kullanılması. AÜ Diş Hek Fak Derg 22: 103 (1995).
2. Arıncı A : Clinical Experience of Allograft material (Tutoplast) at Mandibular Reconsruction after tumor resection. Med.Bull. of İstanbul Med. Fac. 32:2 (1999).
3. Bluhm AE, Laskin DM: The effect of polyterafluoroethylene cylinders osteogenesis in rat fibular defects: A preliminary study. J Oral Maxillofacial Surg 53:163 (1995).
4. Buser D, Dahlin C, Schenk RK: Guided Tissues Regeneration in Implant Dentistry. Quintessence, Chicago, 1.Baskı (1994), sayfa :31.
5. Caplanis N, Sigurdsson TJ, Rohrer MD, Wikesjo UM: Effect of allogenic, freeze-dried, demineralised bone matrix on guided bone regeneration in supra-alveolar peri-implant defects in dogs. Int Oral Maxillofacial Implants 12:634 (1997).
6. Caffesse RG, Nasjleti CE: Response to an absorbable membrane for guided tissues regeneration in dogs. J Dent Res 71:297 (1992).
7. Dahlin C, Sandberg E, Alberius P, Linde A: Restoration of Mandibular Nonunion Bone Defects: An experimental Study in Rats Using an Osteopromotive Membrane Method. Int J Oral Maxillofac Surg 23: 237 (1994).
8. Fugazzotto PA, Hempton TJ: Guided tissues-regeneration in oral reconstruction: Surgical and restorative application. JADA 124:82 (1993).
9. Fonseca RJ, Davis WH: Reconstructive Preprosthetic Oral and Maxillofacial Surgery, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, (1995), sayfa: 41.
10. Hurzeler MB, Kohal RJ, Naghsbandi J, Mota LF, Conrart J, Hucmacher D, Caffess RG: Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. Int J Oral Maxillofac Surg 27: 315 (1998).
11. Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D: Guided Jaw-Bone Regeneration Using an Experimental Rabbit Model. Int J Oral Maxillofac Surg 27:135 (1998).
12. Polson AM: Periodontal regeneration. Current Status and Directions. Quintessence, Chicago, 1. Baskı(1995),137.
13. Sandberg E, Dahlin C, Linde A: Bone Regeneration by the Ostcopromotion Technique Using Bioabsorbable Membranes: An experimental study in rats. J Oral Maxillofac Surg 51:1106 (1993).
14. Scantlebury TV: 1982-1992: A Decade of Technology Development for Guided Tissue Regeneration. J Periodontol 64:1129 (1993).
15. Wikesjo U, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: Effect of wound stabilisation on healing. J Periodontol 61:719 (1990).
16. Yazar TT. Sürekli Kemik Defektlerinde Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonunun Osteogenesis Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul, (1998), sayfa: 16.