

Farklı İki Tip Kollagen Membranın Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histomorfometrik Olarak Değerlendirmesi

Histomorphometric Evaluation of Two Different Type Collagen Membranes on Healing of Bone Defects

Bahar Sezer¹ Turgay Seçkin¹ Aziz Can Yüçetürk² Taha Ünal³ Tunç İlgeli⁴

Ege Üniversitesi, ¹Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi AD, ²Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, ³Dişhekimliği Fakültesi, Patoloji BD, ⁴Dişhekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, İzmir

Özet

Amaç: Bu çalışmada, iki farklı kollagen membranın (Tutoplast-Dura ve Collatamp) kemik rejenerasyonu üzerine etkisinin histomorfometrik ve histolojik olarak karşılaştırılması amaçlandı.

Yöntem: Onbeş adet Yeni Zelanda tavşanının her bir tibiasında 5 mm çaplı sağlı sollu 2 defekt (Toplam sayı = 60) oluşturuldu. Hayvanların sağ femurunda oluşturulan defektlerden sağdaki defektler (tip I sıgır kollajeni) Collatamp membranla kapatıldı, soldaki defektler ise kontrol amacı ile kapatılmadı. Sol femurda oluşturulan defektlerde ise, sağdakiler Tutoplast-Dura (tip I insan kollajeni) ile kapatıldı, soldaki defektler kontrol amacı ile boş bırakıldı. Operasyon sonrası 4, 8 ve 12 haftalarda beşer hayvan histolojik inceleme ve histomorfometrik analiz için kurban edildi. Veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

Bulgular: Bariyer membranla kapatılmayan defekt alanlarında fibroblast invazyonuna bağlı olarak fibröz bir iyileşme görülürken, membranlarla kapatılan defekt alanlarında tam bir kemik iyileşmesi gözlemlendi. Tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirilen histomorfometrik çalışma sonuçları, membran kullanılan her iki grupta da defekt alanlarında oluşan yeni kemik miktarının aynı olduğunu ortaya çıkardı ($p>0,05$). Collatamp membranda rezorpsiyon oranı her dönemde Tutoplast-Dura'dan belirgin olarak fazlaydı ($p<0,05$).

Sonuç: Bu deneysel çalışmanın sonuçları, YKR'de (Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu) kollagen membranların kullanımı ile kemik rejenerasyonun belirgin bir şekilde artırılabilirliğini ve kemik defektlerinin iyileşmesine etkileri açısından bu iki kollagen membran arasında belirgin bir farklılığın olmadığını ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu, bariyer membranlar, kollagen membranlar, dura mater.

Abstract

Objective: This study was aimed to compare two collagen membranes (Collatamp and Tutoplast-Dura) histologically and histomorphometrically for the enhancing bone regeneration in the fifteen New Zealand white rabbits.

Methods: Two bone defects with 5 mm diameter were created in the tibiae of 15 adult rabbits ($n= 60$). The right defects were covered with Collatamp (bovine collagen type I) and lefts were uncovered in the fifteen right femurs. In the fifteen left femurs in the same animals, the right defects were then covered with Tutoplast-Dura (human collagen type I) and also lefts were uncovered. Five animals were sacrificed 4, 8 and 12 weeks postoperatively for histologic examination and histomorphometric analysis of defect sites. Data were analyzed statistically.

Results: The defect sites without a barrier membrane showed invasion by fibroblasts resulting in fibrous healing, while the other defect sites with the barrier membrane demonstrated complete bony healing. Histomorphometric evaluation with one-way ANOVA test revealed that amount of new bone formed in defects was similar for both types of membrane ($p>0,05$). Resorption of Collatamp membrane was significantly more than Tutoplast-Dura ($p<0,05$).

Conclusion: These experimental results suggest that GBR (Guided Bone Regeneration) treatment with collagen membranes may significantly enhance bone regeneration and there were no significant differences between the effects of these both collagen membranes on healing of bone defects.

Keywords: Guided tissue regeneration, guided bone regeneration, barrier membranes, collagen membranes, dura mater.

Giriş

Çeneler ve yüz bölgesinde konjenital bozukluklar, travmalar, enfeksiyonlar veya tümöral oluşumların tedavilerine bağlı olarak meydana gelen kemik defektlerin rekonstrüksiyonu önemli problemler yaratılmaktadır.¹ İyileşme sürecinde bağ dokusu ve kemik dokusunun farklı rejenerasyon döngüsü ile, çevre dokulardan gelen fibröz doku daha hızlı rejenerasyon olarak kavite içine yerleşebilir, osteogenezisi bozarak kemik formasyonunu engelleyebilir.²⁻⁶ Fibröz iyileşme sonucu kemiğin devamlılığı ve fonksiyonu sağlanamaz ve sonuç olarak yeni bir rekonstrüktif cerrahi gereksinimi ortaya çıkabilir.⁶

Kemik defektlerinin iyileşmesine yardımcı olmak üzere geliştirilmiş çeşitli greft materyallerine rağmen, iskeletsel bir defektin rekonstrüksiyonunda asıl amaçlanan kavitenin doğal kemik dokusu ile rejenerasyonudur. Bu doğrultuda yapılan çalışmalar sonucunda, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) prensiplerine dayandırılan bir yöntem geliştirilmiştir.⁷⁻¹² Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) diye adlandırılan bu yöntem de, kemik defektinin içine yumuşak bağ dokusu hücrelerinin geçişini engelleyerek, sadece osteojenik kapasiteli hücrelerin geçişine izin veren fiziksel bir bariyer yerleştirilmesi ile periosttan gelen genç osteojenik hücrelerin ortamda çoğalmasının sağlanabileceği bildirilmektedir. Böylece ortamdaki osteoblastların kemiği restore etmesi ile orijinal fonksiyonel bütünlüğün de oluşturulabileceği vurgulanmaktadır.²⁻⁶

YKR'de istenilen sonuçların elde edilmesi için beş faktörün olması gerektiği ileri sürülmektedir. Bunlar sırası ile: uygun membran kullanımı, primer yumuşak doku iyileşmesinin sağlanması, membranın korumasında olan boşluğun oluşturulması ve devam ettirilmesi, membranın çevre kemiğe adaptasyonu ile stabilizasyonu ve uzun bir iyileşme periyodudur.¹³ YKR'nin başarısında etkili olan bu faktörlerin sağlanabilmesi için yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda çok sayıda membran materyali kullanılmıştır (Tablo 1).¹⁴

İdeal bir membranın, çevre dokudan gelen bağ dokusu hücrelerinin geçişini ve çoğalmasını engelleyecek biyolojik uyumluluk, doku entegrasyonunu sağlayabilmek, bariyer ve kemik dokusu arasında boşluk oluşturabilmek, kolay klinik uygulanabilirlik

gibi özellikleri taşıması gerektiği belirtilmektedir.^{13,16} İlk başarılı YKR'lerinin yapıldığı rezorbe olmayan membranların tüm bu istenilen özellikleri karşılayabileceği bildirilmektedir.¹³ Fakat uzun süre vücutta bırakılabilecek özellikte olan rezorbe olmayan membranların ekspoz olma oranlarının daha fazla olması ve çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi işlem gerektirmeleri, operasyon sonrasında oluşabilecek enfeksiyon ve kemik rejenerasyonunun bozulması gibi olasılıkları da bannırdığı belirtilmektedir.⁴ Bu olumsuzluklar göz önünde bulundurulduğunda polilaktik asit, poliglukolik asit ve kollagen yapıda rezorbe olabilen birçok membranın tercih edilebileceği ileri sürülmektedir.^{15,16}

Tablo 1. YKR'de kullanılan membranlar.

REZORBE OLMAYAN BARIYER MEMBRANLAR

Poltetrafloretilen (PTFE)

Genişletilmiş politetrafloretilen (e-PTFE)

Titanyum ile güçlendirilmiş (Gore-Tex)

Nikrotitanyum mes

Titanyum folyo

REZORBE OLABİLEN BARIYER MEMBRANLAR

Poliglukolik asit

Pollitoester

Pollüretan

Polihidroksibüirat

Nalsiyum sulfat

Kollagen

Dondurulmuş-kurutulmuş fascia lata

Dondurulmuş-kurutulmuş dura mater

Rezorbe olabilen diğer membranlarla ikinci bir operasyon gerektirmemeleri açısından ortak özellikler taşıyan kollagen membranların, temel bağ dokusu komponenti olan kollagen yapıdan dolayı benzersiz özellikler kazandığı ifade edilmektedir.^{14,17} Hemostatik bir ajan olan kollagen trombosit atışmanını ve fibrin bağlantısını stimüle etmektedir. Oluşan pıhtının stabilizasyonu ve matürasyonunu artırarak iyileşme ve rejenerasyonu hızlandırmaktadır. Fibroblastlara karşı kemotaktik özelliklere sahiptir ve hücre migrasyonunu artırmaktadır.¹⁷

Böylece yaralanan çabuk iyileşmesini ve greftin açığa çıkmasını engellediği belirtilmektedir. Ayrıca yarı geçirgen olan, doğal enzimatik degradasyon gösteren ve düşük antijeniteye sahip olan kollagen membranlar kolaylıkla manüple edilebilmektedirler.¹⁸⁻²¹

Bu çalışmada, tavşan tibiasında oluşturulan defektlerde iki farklı kollagen membranın (Collatamp ve Tutoplast-Dura) YKR üzerine etkilerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda E.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Araştırma Laboratuvarından sağlanan ve ağırlıkları 3-3,6 kg arasında değişen 15 adet Yeni Zelanda cinsi tavşan kullanıldı. Sağlıklı olan deney hayvanlarının saptanabilmesi için deneylere alınmadan önce bir hafta süreyle gözlenen tavşanlar her kafese iki hayvan düşecek şekilde yerleştirilip musluk suyu ve özel yemle (Pellet Yem:Yemta, Tarış Yem Sanayi, İzmir) beslendi.

Bariyer membran olarak kullanılan Collatamp® (Innocoll, Almanya) büyük baş hayvanların aşil tendonundan elde edilen uzun fibrillerden meydana gelen kollagen yapıda bir materyaldi. Beyaz yumuşak görünümlü, esnek, kırılğan olmayan, dokunmuş kumaşa benzeyen, süngerimsi bu maddeden, 1x1 cm boyutlarında kullanıldı.

Araştırmamızda kullanılan diğer bariyer membran Tutoplast-Dura® (Pfrimmer Viggo, Biodynamics, Almanya) kadavra orijinli dura materdi. Amerikan Doku Bankası ve Amerikan Halk Sağlığı servisinin belirlediği kriterlere göre herhangi bir hastalığı ya da virüs taşıyıcılığı olmayan bireylerden elde edilen çeşitli solventlerle muamele ve ilave güçlü alkali-lerle dehidrate edilerek muhtemel virüslerden de arındırılmış kaygan, sert bu maddeden de 1x1 cm boyutlarında kullanıldı.

Cerrahi Girişim

Tüm hayvanlarda 20-30 dakika süren anestezi 25 mg/kg Nembutal Sodyum (Rompun, Abfar İlaç Sanayi ve Ticaret, İstanbul) ve 20 mg/kg Ketamin HCl'nin (Ketalar flakon, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret, İstanbul) kulak veni yoluyla intravenöz uygulanması sonucu sağlandı. Genel anestezi sağlanan hayvanlar ameliyat masasına sırtüstü yatırılıp ayakları bağlandı ve bacaklarındaki tüyler kesildik-

ten sonra derisi polividin iyot (Batticon, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler Sanayi ve Ticaret, İstanbul) solüsyonu ile dezenfekte edildi. Lidocaine HCl 40 mg/ml ve epinefrin 0,025 mg/ml (Jetokain ampul, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler Sanayi ve Ticaret, İstanbul) ile bölgenin anestezisi sağlandıktan sonra, sağ bacakta *corpus tibiae*'nin fasyasının mediyalindeki yumuşak doku üzerine 4 cm uzunluğunda bir ensizyon yapıldı. Ensizyon yerindeki deri, kas ve periost ince bir raspatoryum ile kaldırılarak kemiğe ulaşıldı ve söz konusu alanda sürekli serum fizyolojik ile irrigasyon yapılarak ront frez yardımı ile yaklaşık 5 mm çapında ve birbirinden 1 cm uzaklıkta iki kavite açıldı.

Kavite ler serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra üst bacığa yakın kavitenin üzeri Collatamp ile periosta sabitlendi, bileğe yakın kavite ise kontrol amacı ile kapatılmadı.



Resim 1. Kemik üzerinde oluşturulan, kontrol ve çalışma kavite ler.

- Collatamp ile örtülenmiş çalışma kavitesi ve boş bırakılan kontrol kavitesi.
- Tutoplast-Dura ile örtülenmiş çalışma kavitesi ve boş bırakılan kontrol kavitesi.

Kemikteki işlemler tamamlandıktan sonra sırasıyla periost ve cilt altı dokular 4/0 krome katgüt, cilt ise 3/0 ipek sütürler ile kapatıldı (Resim 1a,1b). Sağ bacaktaki girişim tamamlandıktan sonra sol bacakta da aynı standart cerrahi girişim tekrarlandı. Bu bacakta membran materyali olarak Tutoplast-Dura kullanıldı ve ikinci kavite yine kontrol amacı ile kapatılmadı. Tüm hayvanlara operasyon sırasında ve sonrasında intramusküler 5ml/kg prokain penisilin G (Procilin flakon, Fako İlaçları, İstanbul) uygulandı.

Histolojik İncelemeler

Tavşanlar 4., 8., ve 12. haftalarda beşli gruplar halinde dekapitasyon yolu ile sakrifiye edildi. Hayvanların libiası çıkartılarak 48 saat süre ile %10'luk formalinde fikse edildi. Alınan parçalar E. Ü. Dışhekimliği Fakültesi Patoloji laboratuvarında %8'lik HCl asit, %10'luk formik asit, %82'lik distile su çözeltisinde üç gün süre ile dekalsifiye edildi. Uygun şekilde kesilen kemik parçaları parafine gömülüp bloklar hazırlandıktan sonra elde edilen 5-7 mikron kalınlığındaki kesitler hematoksilin eosin (H.E.) ile boyanarak Olympus (CH-2, Tokyo, Japonya) firmasının ışık mikroskobunda incelendi.

Histomorfometrik Çalışmalar

Kantitatif mikroskopi x40 ve x10 büyütmede binoküler Olympus firmasının mikroskobunda yapıldı. Membranla kapatılmış ve kapatılmamış osteotomi bölgelerindeki iyileşme dokusu alanları binoküler ışık mikroskobunda ve x115 büyütme üzerinden resimlendi. Resim üzerindeki membran ve kemik formasyon alanları E.Ü. Mühendislik Fakültesi Bilgisayar Mühendisliği Bölümünde IBM bilgisayara transfer edildi ve görüntü analiz programından yararlanılarak hassas bir biçimde belirlendi.

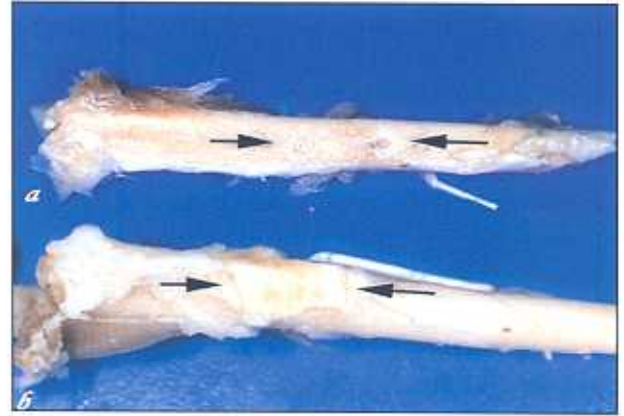
Gruplar arasında istatistiksel farklılık olup olmadığını belirlemek için Student t-testi ve tek yönlü ANOVA testinden yararlanıldı. İstatistik için anlamlı değer $p < 0,05$ olarak kullanıldı ve veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu.

Bulgular

Birinci hafta sonunda dikişler alınırken, tüm hayvanlarda yaraların komplikasyonsuz olarak iyileşmiş

olduğu gözlemlendi. Daha sonraki dönemlerde yara bölgesinde açılma, enfeksiyon veya yabancı cisim reaksiyonuna, membranların açığa çıkmasına veya atılmasına klinik olarak rastlanılmadı.

Dördüncü haftanın sonunda hem sığır kollajeni, hem de dura materin defekt bölgesinin üzerinde devamlılığını koruduğu; ayrıca duranın 8. haftada tüm defektlerde, 12. haftanın sonunda da bazı defektlerde tamamen bütün halinde korunduğu gözlemlendi. Sekizinci ve onikinci haftada gerek Collatamp gerekse Tutoplast-Dura ile örtülenmiş defektlerin kemik dokusu ile dolu olduğu izlendi (Resim 2a,2b).

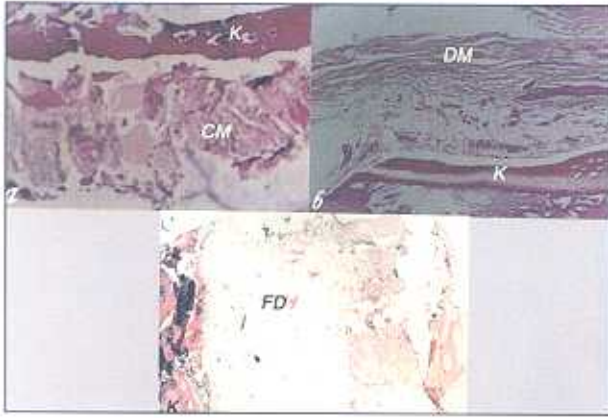


Resim 2 a. Sekizinci hafta sonunda kontrol ve Collatamp membran ile kapatılan kaviteferinin görünümü
b. Onikinci hafta sonunda Tutoplast-Dura membranının makroskobik görünümü

Histolojik Bulgular

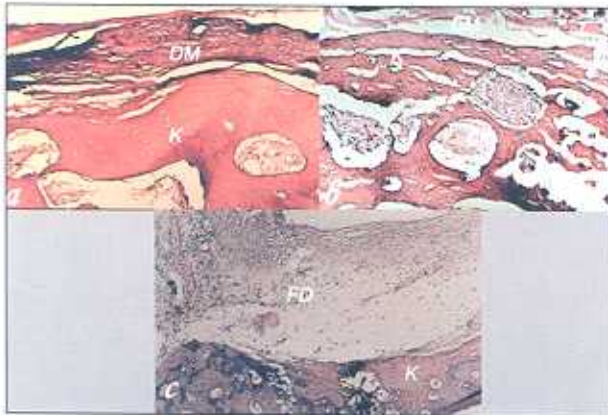
4. Hafta: Collatamp veya Tutoplast-Dura kullanılan her iki deney grubunda da membranların varlığını korumakta olduğu saptandı. Collatampta kollajen yapıda değişiklikler ve inceleme meydana gelirken, Tutoplast-Durada herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Ayrıca, bazı kesitlerde defekt alanı ile membran arasında genç fibroblastlar ve bol kapillerden oluşan bir granülasyon doku çatisi izlendi.

Membranlarla örtülü olan defektlerde defektin kenarlarında ve tabanda, yeni kemik yapımı ve osteoblastik aktivitenin belirgin olduğu bulgularınken, kontrol gruplarındaki kesitlerin hepsinde tüm alanların granülasyon dokusu ile bunun daha ileri bir safhası olan fibröz dokuyla dolu olduğu ve kemik oluşumuna ait hiçbir belirti olmadığı saptandı (Resim 3a-3c).



Resim 3 a. 8. haftalık dönemin sonunda Collatamp ile kapatılan kemik defektlerinde izlenen yeni kemik yapımı (K) ve kollajen membran (CM) (H.E x 115).
b. Tutoplast-Dura ile örtülü defektlerde membran (DM) ve yeni kemik yapımı (K) (H.E x 115).
c. Kontrol grubunda defekt alanında granülasyon dokusunun yerini almış olan fibröz doku (FD) ve bu alan çevresindeki normal kemik trabekülü (K) (H.E x 46).

8. Hafta: Collatamp'ın bazı kesitlerde çok ince kordonlar, bazılarında çok küçük parçalar halinde, hatta kıntılar şeklinde olduğu saptanırken, Tutoplast-Dura'nın ise tüm örneklerde belirgin olarak varlığını koruduğu gözlemlendi. Ayrıca, membranın kemiğe yakın bölgelerinde osteojenik potansiyele sahip iğ şeklinde fibroblast türü hücre kümelerinin varlığı ve buralarda bariz osteogenezis oluşumu izlendi.

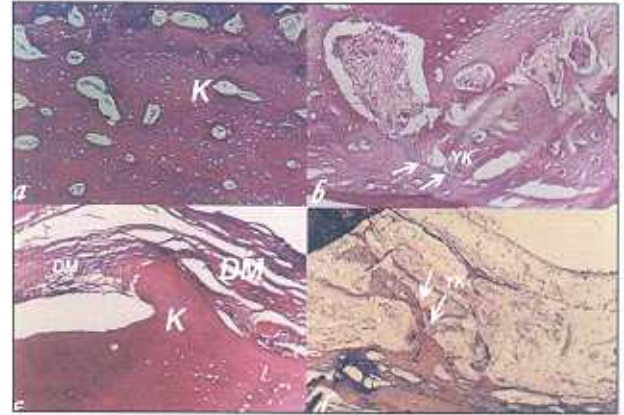


Resim 4 a. Sekiz haftalık dönemin sonunda, Tutoplast-Dura (DM) ve membranın içlerine doğru oluşan yeni kemik alanı (K) (H.E x 115).
b. Aşırı derecede incelen Collatamp ve (CM) yerini almış ince trabeküller gösteren yeni kemik dokusu (K) (H.E x 115).
c. Kontrol grubundaki kavitede fibröz bağ dokusunun (FD) yoğunlaştığı bölgeler. Burada fibroblastlar metaplazi sonucu osteoblastlara dönüşüp kemik oluşturacaktır (H.E x 115).

Gerek kollajen gerekse dura mater ile örtülenmiş defektlerin kemik dokusu ile dolu olduğu izlenirken, kontrol defektlerinin fibröz bağ dokusu ile dolu olduğu ve çok az bir bölümünde, az da olsa kemik oluşum alanlarının varlığı gözlemlendi (Resim 4a-4c).

12. Hafta: Membran ile örtülenmiş defektlerden, Collatamp kullanılan grupta kollajene ait hemen hemen hiçbir iz bulunmazken, Tutoplast-Dura kullanılan grupta membranın birkaç örnekte ileri derecede incelendiği fakat genel olarak devamlılığını koruduğu görüldü.

Membranla kapatılmış tüm gruplarda kemikleşme tam olarak gözlemlendi (Resim 5a). Dura mater ile örtülenmiş defektlere ait bazı kesitlerde eski lameller kemik yanında, sınırı da belirgin olan yeni kemik alanları saptandı. (Resim 5b,5c).



Resim 5 a. On iki haftalık dönemin sonunda Collatamp ile kapatılan kemik defektlerinde tamamen hakim olan kemik dokusu (K) (H.E x 115).
b. Tutoplast-Dura ile kapatılan kavitede oluşan kemik dokusu. Sol taraftaki lameller kemik yanında sınırında görülebilen yeni oluşmuş kemik dokusu alanı (YK) (H.E x 115).
c. Tutoplast-Dura ile kapatılan kavitede halen varlığını koruyan membrana (DM) doğru oluşmuş kemik alanı (K) (H.E x 115).
d. Kontrol grubunda fibröz bağ dokusu içinde henüz oluşmakta olan metaplazik kemik dokusunun (YK) ince trabeküler yapısı izlenmektedir (H.E x 115).

Kontrol grubunda ise, birkaç örnekte henüz kemikleşmemiş defekt alanları ve belirgin fibröz bağ dokusu saptanırken diğer bazı örneklerde, defekt alanı kenarındaki eski kemik bölgelerinden fibröz doku içine doğru ilerleyen yeni kemikleşme alanları gözlemlendi (Resim 5d).

Tablo 2. 4., 8. ve 12. haftalarda kollajen membranların ve kemik iyileşmesindeki etkilerinin histomorfometrik olarak karşılaştırılması (ortalama±standart sapma).

	Collatamp (n=15)	P- değeri*	Kontrol (n=15)	P- değeri*	Tutoplast-Dura (n=15)
Defekt (mm)					
4. hafta (n=5)	5,20±0,10	>0,05	5,11±0,11	>0,05	5,24±0,10
8. hafta (n=5)	5,17±0,12		5,11±0,12		5,13±0,12
12. hafta (n=5)	5,15±0,15		5,12±0,11		5,17±0,15
Kemik Alanı (mm²)					
4. hafta (n=5)	1,17±0,11	>0,05	0,0±0,00	<0,05	1,51±0,11
8. hafta (n=5)	2,98±0,13		0,50±0,12		3,92±0,13
12. hafta (n=5)	4,20±0,14		1,58±0,15		4,80±0,15
Membran (mm)					
4. hafta (n=5)	5,69±0,13	>0,05		>0,05	4,36±0,14
8. hafta (n=5)	1,25±0,15				3,32±0,12
12. hafta (n=5)	0,34±0,14				2,01±0,15

Histomorfometrik Bulgular

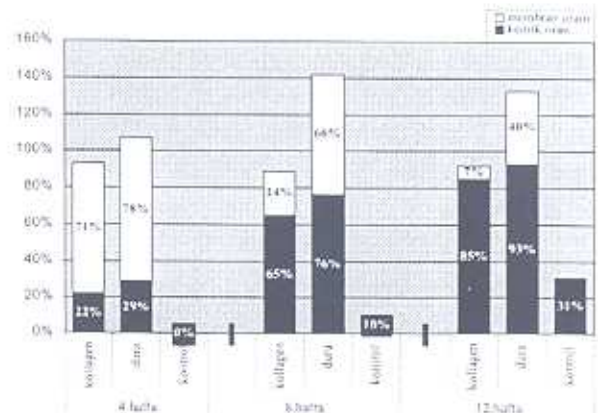
Alan ölçümlerinin piksel olarak değerini ifade eden x115 büyütme üzerinden resimlenen alanlara ait görüntülerden elde edilen rakamsal bilgiler Tablo 2'de gösterilmektedir.

4. Hafta: Kemik oranının membran kullanılan kavite-lerde membran kullanılmayan kavitelere oranla belirgin olarak fazla olduğu saptanırken ($p<0,05$), membran ile kullanılan iki grup arasında (Collatamp, Tutoplast-Dura) anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$). Ayrıca, membranların bütünlüğünü koruması açısından da yine iki grup arasında belirgin bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

8. Hafta: Kemik oranının membran ile kapatılan kavite-lerde membran kullanılmayan kavitelere oranla belirgin oranda fazla olduğu ve Tutoplast-Dura ile kapatılmış kemik kavite-lerinde yeni oluşan kemik dokusunun, Collatamp ile kapatılmış kemik kavitesindeki kemik oluşum alanlarından daha fazla olduğu saptandı, fakat bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Bununla beraber, Collatamp'in rezorpsiyon oranının, Tutoplast-Dura'ya oranla yaklaşık iki kat daha fazla olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).

12. Hafta: Kemik oluşum alanlarının tüm gruplarda arttığı saptandı ($p<0,05$). Tutoplast-Dura ile kapatılan kavite-lerdeki kemik oluşum alanı Collatamp'a oranla biraz fazla olmasına rağmen bu oranın anlamlı olmadığı saptandı ($p>0,05$). Collatamp membran neredeyse yok denecek kadar az bulunurken, Tutoplast-Dura'nın ise çok az bir rezorpsiyon oranı ile varlığını sürdürdüğü saptandı ($p<0,05$).

Elde edilen verilerin zaman-alan değerlendirmesi Grafik 1'de gözlenmektedir.

**Grafik 1.**

Tartışma

YKR'de membran kullanımının amacı, defekt bölgesindeki osteojenik olmayan bağ dokusu hücrelerinin migrasyonu ve formasyonunu engelleyerek, osteojenik potansiyele sahip hücrelerin proliferasyonunun sağlanmasıdır.¹²

Tavşan tibialarında oluşturduğumuz 5 mm çaplı defektlerde, membran kullandığımız tüm guruplarda histolojik ve histomorfometrik olarak tam bir kemik rejenerasyonu ve formasyonu saptandı. Membran kullandığımız gurupta ise, yeterli ve tam kemik rejenerasyonu olmadı. Bu grupta yeni oluşan dokunun fibröz ve gevşek bağ dokusundan oluştuğu, bunun da yetersiz bir fibröz doku iyileşmesine neden olduğu gözlemlendi.

Bu çalışmanın sonuçları, başta Dahlin ve ark.^{8,9}, Linde ve ark.¹¹, Nyman¹⁰ ve Becker ve ark.⁷, olmak üzere YDK tekniğine uygun membran kullanımı ile kemik kavitesinin çok daha hızlı iyileştiği ve oluşan kemik kalite ve kantitesinin membran kullanılmayan gruba oranla çok daha üstün olduğunu çeşitli deneysel çalışmalarla gösteren araştırmacıların sonuçları ile uyumludur.^{2,6,16,21,22}

Membran tarafından yeterli boşluğun oluşturulması, boşluğun kan ile dolması, enfeksiyonun olmaması gibi şartların sağlanması ile osteoblastlar bölgeye göç ederler ve bu hücrelere özel matris mineralize olur. Böylece kemik rejenerasyonu ve rekonstrüksiyonu için ilk basamak oluşur.^{12,13} Bu ilk basamakta membran yapısının özelliği de önem kazanmaktadır. Hücre migrasyonu için kemotaktik özelliklere sahip ve osteoblastların defekt bölgesine atışmasını sağlayan kollajen membranların bu ilk basamakta mineralizasyonda öncü rol oynadıkları belirtilmektedir.^{13,14} Bunların yanında membranın selektif repopülasyonuna izin verecek ölçüde degradasyona dirençli olması ve defektin tamiri ile membranın yıkım süresinin uyumlu olması gerektiği ve bunun da kemik rejenerasyonunu ve kalitesini etkilediği bildirilmektedir.^{4,6,12,15}

Kemik rejenerasyonunun tam olarak sağlanması için gerekli bu süre konusunda bir çok farklı görüş bulunmaktadır. Iqbal ve ark.²⁰, cerrahiden sonra 2-7 günlük sürede hücre migrasyonunun arttığını ve artan mitotik aktivite ile üçüncü haftanın sonuna

kadar bu olayın devam ettiğini ileri sürmektedirler. Araştırmacılara göre, rejenerasyon için gerekli hücreler 3-4 haftada defekt bölgesine implante olurlar ve kullanılan membranın bu dönem içerisinde selektif hücre popülasyonuna izin verecek şekilde bütünlüğünü koruması gerekmektedir.

Lim ve arkadaşlarına göre,⁶ kemik rejenerasyonunda 5 haftalık periyot oldukça önem taşımaktadır ve bu süre içerisinde membran varlığını sürdürmelidir. Eğer membran daha erken rezorpsiyona başlarsa, artan rezorpsiyon ile genişleyen retikülasyondan geçen bağ dokusunun kemik formasyonunu engelleyeceğini ve kemik kalitesinde değişikliklerin olabileceğini belirtmişlerdir. Bununla beraber, Kişnişçi ve ark.²³ ise, apikal rezeksiyon sonrası oluşan 5-10 mm'lik kemik defektlerin tamirinde YDR prensiplerine uygun olarak teflon bariyer membran kullanıp, 1 ay sonra teflon membranı çıkararak 3 ay boyunca kavitelere kemik gelişimini radyolojik olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, kemik iyileşmesi için dört haftalık sürenin yeterli olduğunu göstermişlerdir. Linde ve ark.¹¹ da membran altındaki alanları değerlendirdikleri çalışmalarında, operasyonda sonraki ilk 10 gün içinde kemik mineralizasyonu için gerekli ortamın oluştuğu ve 2. haftada bu uyumun maksimal düzeyde olduğunu, ilk 2 haftadan sonra membranın rezorpsiyonuna bağlı olarak, mineralizasyon için gerekli ortamın azalmasına rağmen operasyondan sonraki ilk haftalardaki maksimum aktivitenin düzenli bir şekilde artmaya devam ettiğini 5 haftalık deneylerinde göstermişlerdir. Araştırmacılar, kemik rejenerasyonunun düzenlenmesi için gerekli osteogenezisin başlamasının yaklaşık iki hafta sürdüğünü ve bunun tamamen kemik ile yapılandırılmayı sağladığını belirtmişlerdir.

Mundel ve ark.²¹ tavşanların zigomatik arklarında oluşturdukları 5 mm çaplı kollajen membranla kapatılmış defektlerdeki yeni kemik oluşumunun 2. haftadan itibaren görülmeye başladığını ve 4. haftada kemik iyileşmesinin tamamlandığını, kavite içinde herhangi bir fibröz doku varlığına rastlanmadığını, kontrol defektlerinde ise, fibröz doku iyileşmesi olduğunu bildirmişlerdir.

Rezorbe olabilen iki kollajen membrandan Collatamp ile Tutoplast-Dura'yı karşılaştırdığımız çalışmamızda, her iki tip membran da dokular tarafından iyi tolere

edildi ve greftin açığa çıkması, enfeksiyon veya aşırı duyarlılık gibi komplikasyonlara rastlanılmadı. Collatamp'ın 4. haftadan itibaren rezorbe olmaya başladığı ve 8. haftada neredeyse tamamen rezorbe olduğu, Tutoplast-Dura'nın ise rezorpsiyona ait belirtileri 8. haftadan itibaren göstermeye başladığı, 12. haftanın sonunda bile devamlılığını koruduğu gözlemlendi. Buna karşın, her iki tip membran arasında kemik rejenerasyonu açısından anlamlı bir farklılık bulunamadı. Ayrıca, her iki kollagen membranın da çevre dokudan gelen fibröz doku elemanlarının osteotomi alanı içine girmesinin ve kontak inhibisyonu engellediği ve kemik rejenerasyonunu sağlayarak, yeni kemik oluşumunda etkili olduğu saptandı. Biz bunu Linde ve ark.¹¹ ileri sürdüğü kemik rejenerasyonunu başlatacak 2 haftalık osteoindüksiyon süresinin her iki membran tarafından sağlanmasına bağlıyoruz.

Bunun yanında, 4 ve 8. haftalar arasında Tutoplast-Dura ile örtülenmiş osteotomi alanlarında Collatamp ile örtülenmiş osteotomi alanlarına nazaran daha hızlı kemik rejenerasyonu gözlemlenmiştir. Bu durum, Collatamp'ın hızlı rezorpsiyonu sonucunda oluşan enflamatuvar sürecin olumsuz etkisine bağlanmaktadır.

Shulman,²⁴ membran rezorpsiyonunun kemik oluşumunu engelleyeceğini veya kemik rezorpsiyonunu başlatabileceğini ileri sürmektedir. Ayrıca, Lim ve ark.⁶ membranın rezorbe olmaya başlaması ile ortaya çıkan enflamatuvar reaksiyonun kemik rejenerasyonunu baskılayabileceğini gösteren çalışmaları da bu olayı açıklar niteliktedir. Bazı araştırmacılar, büyük kemik kavitelelerinin iyileşmesinde ve implant çevresinde yeni kemik oluşumu planlanan alanlarda en az 3 ay membranın stabilitesini koruması gerektiği ve yavaş degradasyonun bu tür kemik kavitelelerinin iyileşmesinde çok önemli olduğunu ifade etmektedirler.^{6,7,12,15,25} Çalışmamızda, her iki tip kollagen membranın rezorpsiyon süresinin 30 günden fazla olduğu gözlemlendi. Bu sürenin kemik rejenerasyonu oluşturmak için yeterli olduğu kabul edilmektedir. Bunun yanında, uzun süre biyolojik stabilitesini koruyarak yavaş yavaş degrade olduğu (8. haftada rezorpsiyon belirtileri başlamış ve 12. haftada hala bütünlüğünü korumuştur) ve sınırlı hücreyel enflamatuvar reaksiyon gösterdiği saptanan Tutoplast-Dura'nın büyük cerrahi defektlerin rejenerasyonunda ve implant gibi hedefli doku büyümelerine ihtiyaç duyulan alanlarda tek başına tüm ihtiyaçlara cevap verecek bir membran olduğu düşünülmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, her iki tip kollagen membran da, kemik rejenerasyonu ve kemik devamlılığının sağlanmasında etkilidir. Fakat daha uzun süre varlığını koruması ve daha yavaş rezorpsiyon göstermesi, YKR prensiplerine bağlı olarak gerçekleştirilen cerrahi işlemlerde Tutoplast-Dura'yı Collatamp'dan daha avantajlı duruma getirmektedir.

Kaynaklar

1. Boyne PJ. Restoration of osseous defects in maxillofacial casualties. *J Am Dent Assoc* 1969; 78: 767-776.
2. Lundgren D, Nyman S, Mathisen T, Isakson S, Klinge B. Guided bone regeneration of cranial defects using bioabsorbable barriers. An experimental pilot study in the rabbit model. *J Craniomaxillofac Surg* 1992; 20: 257-260.
3. Aaboe M, Schou S, Hjorting-Hansen E, Helbo M, Vikjaer D. Osseointegration of subperiosteal implants using bovine bone substitute and various membranes. *Clin Oral Implants Res* 2000; 11: 51-58.
4. Stetzer K, Gassner K, Mundell R. Effects of fixation type and guided tissue regeneration on maxillary osteotomy healing in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 427-436.
5. Ito K, Nanba K, Murai S. Effects of bioabsorbable and non-resorbable barrier membranes on bone augmentation in rabbit calvaria. *J Periodontol* 1998; 69: 1229-1237.
6. Lim SC, Lee MJ, Yeo HH. Effect of various implant materials on regeneration of calvarial defects in rats. *Pathol Int* 2000; 50: 594-602.
7. Becker W, Becker BE. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant deficiencies: Surgical techniques and case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1990; 10: 376-391.
8. Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique: an experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1990; 24: 13-19.
9. Dahlin C, Alberius P, Linde A. Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique. *J Neurosurg* 1991; 74: 487-491.

10. Nyman S. Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 494-498.
11. Linde A, Alberius P, Dahlin C, Bjurström K, Sundin Y. Osteopromotion: A soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. *J Periodontol* 1993; 64: 1116-1128.
12. Gottfredsen K, Nimb L, Buser D, Hjørtting-Hansen E. Evaluation of guided bone regeneration around implants placed into fresh extraction sockets. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 53: 879-884.
13. Hermann JS, Buser D. Guided bone regeneration for dental implants. *Curr Opin Periodontol* 1996; 5: 168-177.
14. Hammerle CHF, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol 2000* 2003; 33: 36-53.
15. Oh TJ, Meraw SJ, Lee EJ, Giannobile WV, Wang HL. Comparative analysis of collagen membranes for the treatment of implant dehiscence defects. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14: 80-90.
16. Imbrunilo AV, Todescan JH, Carvalho CV, Arana-Chavez VE. Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects: A histologic pilot study in dogs. *Biomaterials* 2002; 23: 4079-4086.
17. Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: A review. *J Periodontol* 2001; 72: 215-229.
18. İgenli T, Baylas H. Açılı kemik defektlerinde tip I kolajen ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tekniğinin kombine kullanımı. *EU Dişhek Fak Derg* 1999; 20: 62-66.
19. Günbay T, Gömel M, Ünal T. Köpeklerde dokunmuş kolajen (colatamp) ve polilaktik asidin (drilac) çekim yaralanımın iyileşmesine etkisinin histopatolojik olarak incelenmesi. *EU Dişhek Fak Derg* 1996; 17: 29-35.
20. Iglhaut J, Aukhil I, Simpson DM, Johnston MC, Kock G. Progenitor cell kinetics during guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodontol* 1988; 64: 925-933.
21. Mundell RB, Mooney MP, Siegel MI, Losken A. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 1004-1012.
22. Sayan NB, Duran S, Akal Ü, Günhan Ö. Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda rezorbe ve nonrezorbe membran kullanımını kıyaslamalı araştırması. *AÜ Dişhek Fak Derg* 1995; 22: 125-129.
23. Kışınçlı R, Tuğcu F, Duran S. Klinik olarak yönlendirilmiş doku rejenerasyonunun apikal rezeksiyon vakalarında kullanımı. *DÜ Dişhek Fak Derg* 1992; 3: 126-131.
24. Shulman LB. Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane: Discussion. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 1012.
25. Fontana E, Trisi P, Piattelli A. Freeze-dried dura matter for guided tissue regeneration in post-extraction dental implants: A clinical and histologic study. *J Periodontol* 1994; 65: 658-665.

Yazışma Adresi:

Dr. Bahar SEZER

Ege Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi,
Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi AD,
35100 – Bornova / İZMİR

Tel : (232) 388 11 087

Faks : (232) 388 03 25

E-posta : baharsezer@yahoo.com