

Germe Tip Kuvvetlerin Kemik Dokusunun Gelişimi Sürecine Etkisi

Effect of Strengthening Forces on Ossification Process

Refik SOYLU¹, Murat TOSUN², Serpil KALKAN¹, Mustafa TUNALI³, İsmet DURAN⁴

¹ Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji AD, Konya

² Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji AD, Afyonkarahisar

³ Konya Askeri Hastanesi Diş Hekimliği Ünitesi, Konya

⁴ Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD, Konya

ÖZET: Amaç: Çalışmamızın amacı germe tipi kuvvetlerin kemik dokusu gelişim sürecine etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Diş Hekimliği Fakültesine mandibular şekil bozukluğu şikayetiyle başvuran hastalara diş-kemik destekli intraoral bir distraktör kullanılmak suretiyle uygulanan germe tipte kuvvetlerle yapılan tedavi sonucu elde edilen biopsi materyalleri %10 nötral formalinde fikse edildikten sonra %10'luk nitrik asitle dekalsifiye edildi, rutin doku takibi yapıp parafine gömüldü ve Hematoksilin – Eosin ve Mallory-Anilin Blue kollajen boyaları ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Histolojik değerlendirmede germe tipi kuvvet uygulanan kemik dokusunda normal kemik dokusuna göre lameller yapının tam oluşmamış olduğu, osteoblast ve osteosit sayısının daha fazla olduğu, osteoid yapının daha zayıf olduğu tespit edildi.

Sonuç: Elde edilen histolojik bulgular germe tipi kuvvet uygulanan kemik dokusunda intramembranöz tipte kemikleşme olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Kemik, germe kuvveti, kemikleşme, kollajen.

ABSTRACT: Purpose: The aim of this study is to explore the effect of strengthening forces on ossification process.

Material and Methods: Biopsy materials, which were taken from patients who had mandibular deformation and had been treated with mandibular midline distraction osteogenesis via intraoral dissector distraction device, were fixed in %10 neutral formalin, decalcified with %10 nitric acid, processed, embedded in paraffin and were stained with Hematoxylin Eosin and Mallory Aniline Blue Collagen stains. Sections were evaluated under light microscopy.

Results: When histological features of the normal and the strengthened bone tissues were compared, we observed that lamellar organization was incomplete in the strengthened bone tissues, number of osteoblast and osteocyte were more, osteoid structure was immature than the normal bone tissue.

Conclusion: These histological features show that strengthened forces stimulate intramembraneous ossification in bone tissue.

Key Words: Bone, distraction, ossification, collagen

GİRİŞ

Vücutta bulunan kemik, sementum ve dentin gibi sert dokular özelleşmiş tarzda bağ dokuları olup özellikle Tip 1 kollajen ve inorganik materyal olmak üzere yoğun bir hücrelerarası ara maddeye sahiptirler. Sert dokuların oluşumunu ara maddedeki hücrelerin başta kalsiyum hidroksiapatit olmak üzere bazı mineralleri alıp organik ara maddeyi oluşturması, alkalin fosfataz enziminin etkisi ve yoğun kan akımı varlığı olarak özetleyebiliriz. Bu arada sert dokuların oluşumu ile yıkımı arasında bir düzen ve ritim olduğu da bilinmektedir (1). Sert dokular içinde yer alan

kemik dokusunun oluşumu incelendiğinde; normal gelişim süreci dışında bir takım fiziksel etkiler kullanılmak suretiyle kemik gelişiminin istenilen yön, şekil ve biçimde uyarılabildiği ortaya konmuştur. Bu fiziksel etkilerden tıp alanında en çok kullanılan distraksiyon adı verilen germe tipindeki kuvvetlerdir. Bu etki kısa veya şekli bozuk bir kemiğe uygun araçlarla uygulandığında kemik şeklinde istenen şekilde ve yönde değişimler oluşturulabilmektedir (2-3). Yapılan bir araştırmada yeni kemik oluşumu sürecinde germe tipindeki etkilerin kemik bölümleri arasına fibröz dokuların girmesine neden olduğu için sürecin fizyolojik olmadığı öne sürülmektedir (4). Bilindiği üzere 2 tip yeni kemik oluşumu süreci mevcuttur. Bunlar intramembranöz veya spongios tipte kemikleşme ve kompakt kemikleşmedir (5). Yeni kemik oluşumu sürecinde de farklı etkilerin kemikte ne tür kemikleşmeye neden olduğu da sık incelenen konulardan biridir.

Çalışmamızın amacı germe tipinde kuvvet uygulanan kemik dokusunda yapısal değişimin belirlenmesi ve başta çene bölgesi olmak üzere birçok kemik yapıda mevcut olabilen farklı tipte kemik deformitelerinin tedavisinde yerinin belirlenebilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada çene darlığı ve diş çapraşıklığı şikâyetleriyle diş hekimliği fakültesine başvuran ve yaşları 16-25 arasında değişen 10 hastadan alınan biyopsi örnekleri kullanıldı. Bu hastaların mandibula bölgesinden diş-kemik destekli intraoral bir distraktör kullanılmak suretiyle uygulanan germe tipte kuvvetlerle yapılan tedavi öncesi ve sonrasında 0,5 x 0,5 x 0,3 cm ebatlarındaki biyopsi örnekleri alındı. Yapılan mandibular osteotomi sonrası yedi günlük latent dönem takiben, distraktör sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa ve toplam olarak 1 mm açılacak şekilde aktive edilmiştir. Aktivasyon döneminden sonra aygıt yeni oluşan kemiğin olgunlaşması için yaklaşık olarak 90 gün ağızda tutulmuştur. Alt mandibula kemiğinden alınan biyopsi örneklerindeki kemik dokusunun yapısında meydana gelen değişikliklerin incelendiği bu çalışmada, alınan kemik biyopsi örnekleri %10'luk nötral formalin'de tespit edildikten sonra %10'luk nitrik asit solüsyonunda dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon süresince nitrik asit solüsyonu 12 saatte bir değiştirilmek suretiyle dekalsifikasyonun hızlı ve düzenli olması sağlandı. Dekalsifiye olan dokular klasik parafin takip metoduyla takip edildikten sonra parafine gömme yapıldı. Parafin bloklardan klasik mikrotom yardımıyla 5 µ kalınlığında kesitler alındı ve kesitler Hematoksilin (Cole)-Eosin ve Mallory'nin Anilin Blue Kollajen boyaları ile boyanıp Olympus CH2 ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

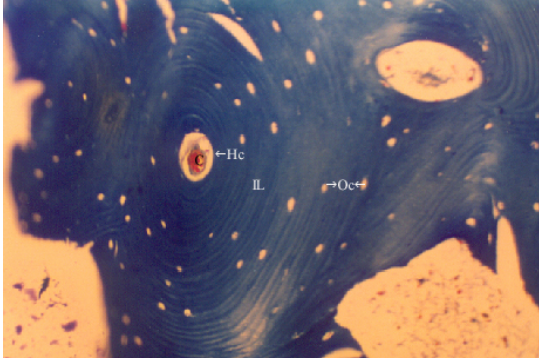
BULGULAR

Hazırlanan preparatların değerlendirilmesi sırasında normal kemik dokusu bulunan bölgeden alınan örneğe ait preparatla germe tipi kuvvet uygulanmış alandan alınan kemik dokusuna ait preparat bir arada değerlendirildi. Yapılan incelemede; normal kemik dokusundan alınan materyallerde (Resim 1 ve Resim 2) düzenli lameller yapının mevcut olduğu, ara lamellerin ve Havers kanallarının iyi gelişmiş olduğu ve yer yer düzenli osteon yapılarının mevcut olduğu gözlemlendi. Matrix'in hemen tamamının Hematoksilin-Eosin ile boyanma sonucu ossifiye yapıda olduğu ve matriks içinde osteositlerin ve nispeten az sayıda

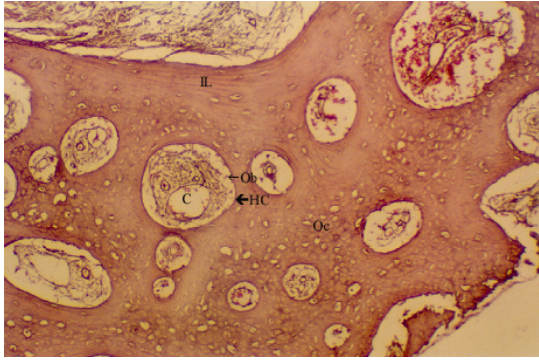
osteoblastların mevcut olduğu görüldü. Havers kanallarının içinde osteoklastlara veya gelişmekte olan osteoblastlara rastlanmadı. Doku içinde oldukça az sayıda orta büyüklükte damarların mevcut olduğu görüldü. Tüm bu hücrelerin diziliminin germe kuvveti uygulama alanından hazırlanmış preparatlara göre oldukça düzenli dizilim gösterdiği ve bu hücrelerin sayısının germe kuvveti uygulama alanından hazırlanan materyallerdeki hücre sayısından nispeten daha az olduğu görüldü. Germe kuvveti uygulanan alandan hazırlanan materyallerde (Resim 3 ve Resim 4) ise osteon yapısının tam oluşmamış olduğu ama materyal içinde bol miktarda düzensiz lamellerin ve Havers kanallarının mevcut olduğu görüldü. Düzensiz lameller yapı içinde çok sayıda düzensiz şekilde dizilmiş osteositlerin ve osteoblastların mevcut olduğu tespit edildi. Havers kanallarının içinde gelişmekte olan osteoblastların mevcut olduğu görüldü ama herhangi bir osteoklasta rastlanmadı. Havers kanallarının içinde kapiller yapıların mevcut olduğu görüldü. Ayrıca bu materyallerin büyük bölümünde çok sayıda irili ufaklı damarların mevcut olduğu tespit edildi. Yapılan Mallory- Anilin Blue kollajen boyasında bu dokuların genel görünüm olarak düzensiz bağ doku fibrilleri içerdiği ve bu bölgelerde yoğun kollajen birikimi olduğu ve kollajen fibrilleri arasında osteositlerin mevcut olduğu görüldü. Hematoksilin-Eosin ile yapılan boyamada bazı bölgeler dışında genel anlamda materyalin tamamının osteoid yapıda olduğu görüldü. Osteoid yapının bilhassa Haversian kanallar civarında belirgin olduğu ancak bu bölgedeki osteoid yapının henüz immatür olduğu tespit edildi.



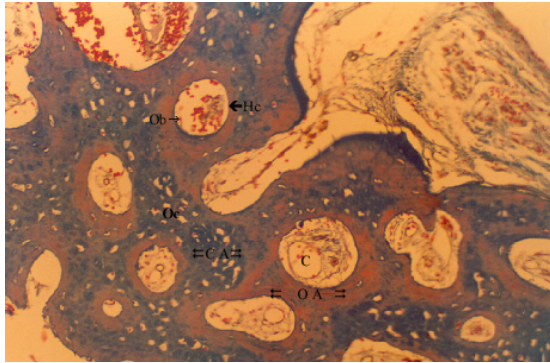
Resim 1. Normal mandibula. Hematoksilin (Cole)-Eosin. x100. Hc: Haversian kanal, Oc: Osteosit, IL: Interstitial lameller, C: Kapiller



Resim 2. Normal mandibula. Mallory Aniline Blue Kollajen boyası. x100.
Hc: Haversian kanal, Oc: Osteosit, IL: Interstitial lameller, C: Kapiller



Resim 3. Germe kuvveti uygulanmış mandibula. Hematoksilin (Cole)-Eosin. x100
Hc: Haversian kanal, Oc: Osteosit, IL: Interstitial lameller, Ob: Osteoblast, C: Kapiller



Resim 4. Germe kuvveti uygulanmış mandibula. Mallory Aniline Blue Kollajen boyası. x100.
Hc: Haversian kanal, Oc: Osteosit, Ob: Osteoblast, CA: Kalsifiye olmuş alan, OA: Kemikleşme süreci devam eden alan C: Kapiller

TARTIŞMA

Mekanik ve elektromanyetik sinyaller gibi biyokimyasal kuvvetler yeni kemik oluşumunda önem arz eden etkenlerdir (6). Bu etkenlerin şiddeti tarzı ve süresiyle yeni kemik oluşumu hızlandırılıp yavaşlatılabilir (7). Bu sayede farklı hastalıkların tedavisi başarıyla yapılabilmektedir. Bu metotla örneğin çocuklarda humerus'un boyu ortalama 5 cm'ye uzatılmıştır (8). Yine başka bir çalışmada ekstremitelerin uzatılmasında ve ayak deformitelerinin tedavisinde özel araçlar kullanılmak suretiyle hastaların kemik yapı ve şekil ve bozuklukları önemli oranda azaltılmıştır (9). Yine Türkiye'de yapılan bir çalışmada mandibular hipoplazi önemli ölçüde giderilmiştir (10). Germe kuvveti uygulanan kemiğin yapısında görülen en belirgin değişiklik kollajen fibrillerin uzunlamasına dizilimidir. Bunun yanında küçük damar oluşumları da dikkati çeken diğer bir özelliktir (11). Kollajen fibrillerinin sentezinde değişik etkenlerde rol oynamaktadır. Hücre dışı ortamdaki kalsiyum hem Tip 1 kollajen sentezinde hemde Bone Morphogenetic Factor üretiminde etkin rol oynamaktadır (12). Ayrıca TGF- β (Transforming Growth Factor Beta) ve PDGF-BB (Platelet Derived Growth Factor) gibi büyüme faktörleri güçlü osteoblast kemotaksisi oluşturmaktadır (13). Bunların yanında Oncostatin-M osteoblast aktivasyonu yaparken bir yandan da kemik resorpsiyonunu engellemektedir (14). Çalışmamızda da görüldüğü üzere germe tipi kuvvet uygulanan alanda osteositlerin ve osteoblastların artması yanında belirgin vaskularizasyon artışı bu alanda yeni kemik oluşumunun bir göstergesidir. Bununla birlikte, lameller yapının azlığı, osteon yapısının tam oluşmaması, kollajen fibrillerin homojen dağılmaması ve osteoid yapının Haversian kanallar çevresinde immatür yapıda olması buradaki kemik yapımının intramembranöz tipte olduğu yönde bulgulardır.

Bu bulgular göstermektedir ki; germe tipi kuvvetlere maruz kalan kemik dokusunda kemiğin uzun eksenine paralel olacak şekilde intramembranöz tipte kemik oluşumu uyarılmaktadır. Bu tarzda gelişim bilhassa kemik deformitelerinin giderilmesinde klinisyenin müdahale serbestliğini sağlayacak ve klinisyen hastadaki deformiteyi gidermek için germe işlemini istediği yöne paralel olarak uygulamak suretiyle başarılı bir tedavi uygulayabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Burkitt PR, Young B, Heath JW. Wheeler's Functional Histology. In: Skeletal Tissues. Third Edition. Hong Kong. Churchill Livingstone. 1993. 170-190.
2. Aronson J, Good B, Stewart C, Harrison B, Harp J. Preliminary studie of Mineralization during distraction osteogenesis. Clin Ortho Rel Res, 1990;250:43-49.
3. Bell WH, Harper RP, Gonzales M, Cherkashin AM, Samchukov. Distraction osteogenesis to widen the mandible. Br J Oral Maxillofac Surg, 1997;35:11-19.
4. Delloye C, Delefortrie G, Coultelier L, Vincent A. Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening. Clinical Orthopaedics and Related Research, 1990; 250:34-42.
5. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histology. In: Bone. Third Edition. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins. 1995: 150-187.
6. Meyer U, Kruse-Losler B, Wiesmann HP. Principles of bone formation driven by biophysical forces in craniofacial surgery. Br J Oral Maxillofac Surg, 2005 Sep 12; In press but available online.
7. Tesiorowski M, Kacki W, Jasiewicz B, Rymarczyk A, Sebastianowicz P. Methods of bone regenerateevaluation during distraction osteogenesis. Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol, 2005;70(2): 127-30.
8. Lee FY, Schoeb JS, Yu J, Christiansen BD, Dick HM. Operative lengthening of the humerus: indications, benefits, and complications. J Pediatr Orthop, 2005 Sep-Oct; 25(5): 613-6.
9. Song HR, Myrboh V, Oh CW, Lee ST, Lee SH. Tibial lengthening and concomitant foot deformity correction in 14 patients with permanent deformity after poliomyelitis, Acta Orthop. 2005 Apr;76(2):261-9.
10. Karacay S, Akin E, Okcu KM, Bengi AO, Altug HA. Mandibular distraction with MD-DOS device, Angle Orthod. 2005 Jul; 75(4): 685-93.
11. Ganey TM, Klotch DW, Sasse J, Ogden JA, Garcia T. Basement membrane of blood vessels during distraction osteogenesis. Clin Ortho Rel Res, 1994; 301: 132-138.
12. Nakade O, Takahashi K, Takuma T, Aoki T, Kaku T. Effect of extracellular calcium on the gene expression of bone morphogenetic protein-2 and -4 of normal human bone cells. J Bone Miner Metab, 2001; 19(1): 13-9.
13. Lind M. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies and implants fixation. Acta Orthop Scand Suppl, 1998 Oct; 283:2-37.
14. Jay PR, Centrella M, Lorenzo J, Bruce AG, Horowitz MC. Oncostatin-M: a new bone active cytokine that activates osteoblasts and inhibits bone resorption. Endocrinology, 1996 Apr; 137(4):1149-50.