

Farklı süreli laser uygulamasının kırık iyileşmesi üzerine etkisi

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

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada farklı süreli laser uygulamasının kırık iyileşme sürecindeki etkileri araştırılmıştır.

The effect of different application times of laser on fracture healing

In this investigation applied on rats we studied the effect of laser on fracture healing in relation to different application times.

Kırık iyileşme sürecini hızlandırmak ve sorunlu kırıkların kaynamasını sağlamak, her zaman için ortopedistleri uğraştıran konuların başında gelmiştir. Klasik tedavi yöntemlerinin yanı sıra çeşitli uygulamalar da bu alanda kendine yer edinmeye çalışmaktadır. Son yıllarda tıp alanında çeşitli hekimlik dallarında kullanılmaya başlanan laserin, kırık iyileşme süreci üzerine de olan olumlu etkisi, giderek artan boyutlarda araştırma konusu olmaktadır^(2,8,10,11). Biz bu çalışmamızda bu süreci gözleyerek laser ile kırık tedavisine bazı yaklaşımlarda bulunmak istedik.

Gereç ve Yöntem

İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (DETAM) gerçekleştirilen bu çalışma, 45 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 bir kesi ile girilerek fibula, 1/3 orta ile distal kısmın birleştiği yerden keskin bir makas yardımıyla osteotomize edilmiştir. Bu sırada eter anestezisi kullanılmıştır. Herhangi bir tespit materyali uygulanmamıştır. Bu işlem her iki fibulada 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 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 Wmin. ve emisyon açısı 9°/15°'dir. Laser tüpü kırık sahasının hemen üstünde yer alan ameliyat yarasına değecek ve 90° dik olacak şekilde kullanılmıştır. Uygulama hayvanların eterle sakrifikasyonuna kadar olmak üzere hergün, tek seansda yapılmıştır. 45 denek 3 eşit gruba ayrılarak, laser uygulama süresi 1. grupta 3 dakika, 2. grupta 6 dakika ve 3. grupta ise 9 dakika-olarak belirlenmiştir. Her grup 1., 2. ve 3. haftaların sonunda sakrifiye edilmek üzere üç eşit alt gruba daha ayrılmıştır. Sakrifikasyondan sonra soyulmuş kemiklerin ayrıca toplu röntgeni alınmıştır. Yumuşak dokular uzaklaştırılarak elde edilen kemikler, en az 15 gün süreyle % 8'lik formolde fikse edilmişlerdir. Bundan sonra sodyum sitratla tamponlanmış formik asitle dekal-

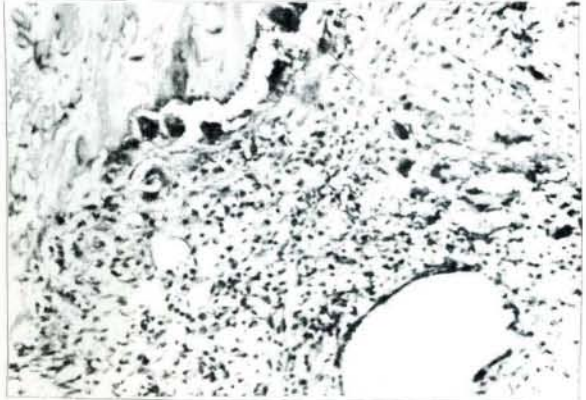
sifiye edilen kemikler, standartizasyonu sağlamak için tek kişi tarafından, aynı yerden bölünüp, alkol-ksilol takibi sonucu parafin bloklar haline getirilmişlerdir. Hazırlanan 5-7 mikronluk kesitler hematoksilin + eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Çalışma sırasında derin infeksiyon görülen üç denek ve aşırı eter anestezisi sonucu ölen dört denek değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Bulgular

1., 2. ve 3. haftaların sonunda sakrifiye edilen deneklerin histolojik incelenmesi sonucu elde edilen bulgular şu şekilde özetlenebilir:

Kontrol grubu 1. hafta:

Kırık uçlarında çok sayıda osteoklast izlenmektedir. Gerek subperiosteal alanlarda, gerekse Havers kanalları içinde minimal osteoblast proliferasyonu görülmektedir. Kırık alanında yer alan granülasyon dokusunun, yerini yer yer kıkırdak dokusuna bıraktığı gözlenmektedir (Resim 1,2).



RESİM 1: H + E(x200) Resmin sol üst yarısında kemiğin ucu izlenmektedir. Burada ve resmin sağ üst bölümünde lakünlör içinde osteoklastlar görülmekte ve granülasyon dokusu yerini yer yer kallusa bırakmaktadır.

Kontrol grubu 2. hafta:

İnfekte olan bir denek dışında tüm hayvanlarda iyileşme sürmektedir. Bu hayvanlarda oluşan osteomyelit, iyileşme sürecini tümüyle durdurmuş, granülasyon dokusu evresinde bırakmıştır. Diğer deneklerde subperiosteal proliferasyon her iki yandan eşit olarak gelişirken, az geliş-

(1) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak.Ort.ve Travm. A.B.D. Uzmanı

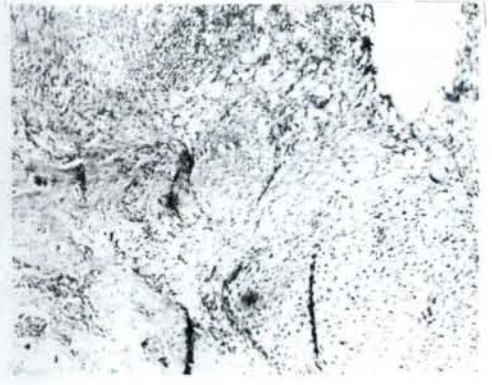
(2) İ.Ü. Diş Hek.Fak.Patoloji A.B.D. Doçenti

(3) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak.Ort.ve Travm. A.B.D.Arş.Grv.

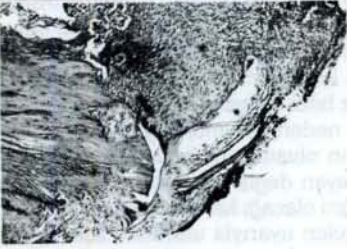
(4) İ.Ü. Diş Hek.Fak.Patoloji A.B.D.Arş.Grv.



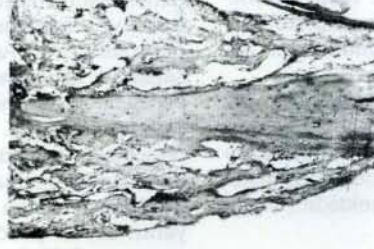
RESİM 2: H + E(x80) üst bölümde Havers kanallarındaki proliferasyon ve sağ üst köşede osteoklastik aktivite görülmektedir.



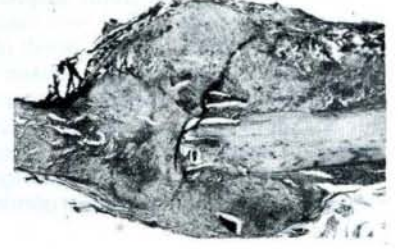
RESİM 3: H + E(x80) Kallusun sağ alt köşesinde osteoid madde ve kemikleşme görülmektedir.



RESİM 4: H + E(x80) Resmin orta bölümünde görülen kılın kallus oluşumu ve fibröz köprüleri engellemediği açıkça görülmektedir.



RESİM 5 a: H + E(x80) her iki yanda eşit kalınlıkta kallus görülmektedir.



RESİM 5 b: H + E(x32) üst bölümde kırık ucunda görülen kallusun kalınlığı iç taraftaki- ne göre iki kat fazla olduğu gözlenmektedir.

miş bir fibröz köprü çevresinde kallus yapımı sürmektedir. Bu yapı içinde görülen boşluklar içinde osteoklast toplulukları vardır.

Kontrol grubu 3. hafta:

Kırık alanında yabancı cisim (kıl) bulunan bir denek dışında iyileşme süreci sürmektedir. Bu denekte ise süreç durmuş, yine osteomyelit görülen hayvandaki gibi granülasyon dokusu evresinde kalmıştır. Diğerlerinde ise fibröz köprü yoğunlaşmış ve kallus içinde yer yer osteoid maddeye rastlanmaktadır. Bu madde birkaç alanda kireçlenmektedir (Resim 3).

Laser grubu:

Laser uygulanmış deneklerden alınan örneklerdeki bulgular arasında ortak olanlar vardır. Bunlar osteomyelit veya yabancı cisim varlığına karşın iyileşmenin haftasına uygun olarak sürmesi; başka bir deyişle aynı süredeki deneklerden farklılık göstermemesi (Resim 4); ilk 2 haftada osteoklastların minimal düzeyde olması ve subperiosteal osteoblast proliferasyonu ile kallus oluşmasının laserin geldiği yönde belirgin bir biçimde kalın bir alan oluşmasıdır (Resim 5-a, 5-b).

Haftalar ve laser uygulama sürelerine göre histolojik bulgular ise şöyleydi:

3 dakika laser uygulanan deneklerde 1. hafta, kırık alanını tümüyle dolduran aktif kallus izlenmektedir. Kırık uçlarında görülmeyen osteoklastlara tek tük olarak kallus içinde rastlanmaktadır. Fibröz köprü oluşmuş, gerek Havers kanallarındaki, gerekse subperiosteal alanlardaki osteoblast proliferasyonu ise belirginleşmiştir (Resim 6).

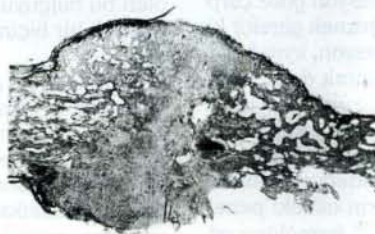
6 dakika laser uygulanan denekler 1. hafta, 3 dakika laser uygulananlara uygunluk göstermektedir. Ancak osteoklast popülasyonunda göreceli bir azalma göze çarpmaktadır.

9 dakika laser uygulanan deneklerin 1. hafta bulguları, osteoklastların belirgin yokluğu ve 3 ile 6 dakika laser uygulanmış deneklere benzerlik göstermesidir (Resim 7). Osteomyelitli deneklerde görünüm aynıdır (Resim 8).

3 ve 6 dakika laser uygulanmış denekler arasında 2. hafta belirgin bir fark yoktur. Hemen her alanda oluşmaya başlayan osteoid madde yer yer kireçlenmeye başlamıştır. Böyle alanlarda osteoklastlara rastlanmaktadır. Fibröz köprüler hemen hemen tümüyle kallusa dönüşmüş-



RESİM 6: H + E(x32) Gerek üst, gerekse alt kısımda fibröz köprüler izlenmekte, kallus içinde, orta bölümde osteoklastlar görülmektedir.



RESİM 7: H + E(x32) Resim 6'ya oranla kallus içinde osteoklastların azlığı göze çarpmaktadır.



RESİM 8: H + E(x32) resmin sağ yarısında görülen osteomyelit bulgusuna karşın resim 6 ve 7'ye yakın kallus oluşumu izlenmektedir.



RESİM 9: H + E(x80) fibröz bantların yerini bıraktığı ve kemikleştiği görülmektedir.

tür.

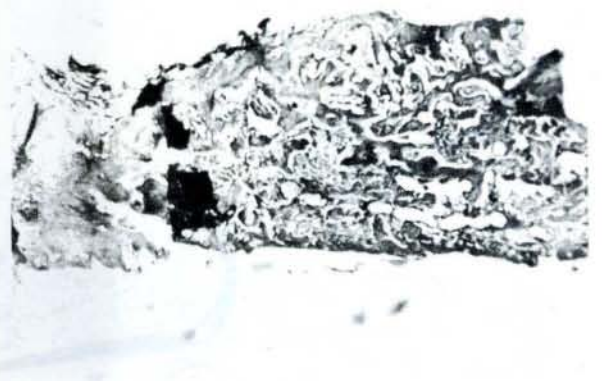
9 dakika laser uygulanmış denekler 2. hafta, osteoklastların yokluğu dışında, 3 ve 6 dakikalık gruplara benzemektedir. Buna ek olarak kemik oluşumu hemen hemen tümüyle olgunlaşmıştır (Resim 9).

Tüm grupların 3. haftasında aralarında belirgin fark yoktur. Yer yer olgun kemik yapımı görülmektedir. Bunlarda lamellar sistem belirginleşmiştir. Osteoklast popülasyonu daha zenginleşmiş ve kallus dış bölgesinde yerleşmiştir. Ancak kırık alanında osteoklast görülmemektedir (Resim 10).

Tartışma

Bugün için kırık iyileşme sürecini hızlandıran birçok yöntem bilinmektedir. Bu çalışmadaki amaç, benzer araştırmalarda belirtildiği gibi, laserin bu olaydaki olumlu yöndeki etkisinin dikkate alınması gerekecek boyutta olup olmadığını incelemektir^(2,7,8,10,11). Haftalara göre sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen bulgular karşılaştırıldığında, laser uygulanan denekler hemen bir hafta sonraki kontrol grubuna uygunluk göstermekteydi. Başka bir deyişle laser kırık iyileşme sürecini sıçanda yaklaşık bir hafta kısaltmaktaydı. Bu hayvanda fibulanın kaynama süreci üç hafta olduğuna göre, laser uygulamakla kazanılan süre oldukça anlamlıdır. İnsanda denendiğinde, erken hareket verilmesi istenen eklemeye yakın kırık veya osteotomilerde, yaşlılarda omuz gibi kaslarda hızla redörün geliştiği bir bölge, e yakın kırıklarda, biran önce normal beslenmeye geçebilmek için mandibula kırığında ve el parmak kırıklarında, laserin bu açıdan yararı olacağı ortaya çıkmaktadır.

Laser uygulaması sırasında özen gösterilen hususlardan biri de maksimum penetrasyonu sağlamak için laser tüpünün kırık sahasına 90°'de, dik bir şekilde tutulmasıydı. Nitekim deneklerde, kırık hattında ışınla ilk karşılaşan bölgede daha yoğun bir proliferasyon göze çarpmaktadır (Resim 5). Ancak şunu da belirtmek gerekir ki, ışınla son karşılaşan bölgedeki proliferasyon, aynı haftaya denk gelen kontrollerden göreceli olarak daha kalındır. Bir standartizasyon oluşturulamaması nedeniyle bir ölçüm yapılamadığı için tamamiyle subjektif kalınlaşma karşın, bu bulgu, kullandığımız tip laserin sıçanda fibula kemiğinin bacağı geçecek güçte olduğunu kanıtlamaktadır. Bu tip I.R. CEB Mid Laser'lerin ciltteki penetrasyon derinliği 20-30 mm'dir. $P = P_0 e^{-\mu x}$ formülüne göre, derinlik ve ışınlanan materyalin yoğunluğu arttıkça, laserin ulaştığı noktada verebileceği enerji miktarı da (P) eksponensiyel olarak hızla azalmaktadır (Po cismin karşılaştığı enerji miktarını, M materyalin zayıflama sabitesini, X ise derinliği göstermektedir)⁽³⁾. 5 adet I.R. CEB



RESİM 10: H + E(x80) 3 dakika laser uygulamasında 3. hafta.

Mid Laser'in birlikte uygulanmasıyla yaklaşık 5 cm'lik bir penetrasyona ulaşılmaktadır ve sağlanan enerjinin insan da mevcut kemiklerden bir kısmını geçecek güçte olduğunu sanıyoruz. Ancak bir kemiğin öbür tarafına da ulaşabilmek için yüzeysel kesimlerinin yüksek güçte bir laser ışınlamasına maruz bırakılmasının ne kadar doğru olacağını bilmiyoruz. Bu nedenle homojen yapıda bir subperiosteal proliferasyon oluşturmak amacıyla kırık hattına, birbirini tamamlayan değişik odaklardan ışınlama yapılmasının daha doğru olacağı kararsındayız. Bunun bir yararı da, bir yönde gelen uyarıyla ulaşacak aşırı kallusun çevredeki duyarlı yapılara yapacağı basının önlenmesi olacaktır.

Laser düz ve ince bir ışın halinde oluşturulur. Laser tüpünden çıkan ışın belli bir dağılım açısıyla genişler ve rastladığı ortam yüzeyinde '1/e² noktaları'nın birleşiminden oluşan daireler oluşturulur. Bu daire içinde kalan kısım laser enerjisinin % 86.5'ine maruz kalırken, bu bölge dışındaki noktalar ise toplam % 13.5'lik enerji ile yetinmek zorundadır⁽³⁾. Laser tüpünün çıkış çapı bu '1/e² noktaları'na göre yapılıdır (bizim kullandığımızda yaklaşık 0.25 mm'dir). Bu husus kırık iyileşme sürecini hızlandırmak için laser uygulaması sırasında önemlidir, çünkü kırık hattı uzun oblik veya spiralse, arada kelebek fragman varsa, laser uygulaması nisbeten güçtür. Kırık hattı ne kadar düz ve transverse yakınsa, kırık uçları arasındaki ezilme veya açıklık ne kadar azsa, laser ışını o kadar yakından uygulanır ve '1/e² noktaları' içinde bütünüyle yer alan kırık hattında mm²'ye düşen enerji miktarı da o kadar artar.

Kırık alanında yabancı cisim (kıl) bulunan veya infeksiyon görülen kontrol grubundaki deneklerde, iyileşme süreci tümüyle durmuş ve granülasyon dokusu evresinde kalmışken, aynı özelliklere sahip, ancak laser uygulanmış diğer deneklerde iyileşmenin haftasına uygun olarak sürmesi ilginçtir. Minimal interpozisyon durumları, infekte pseudoartroz ve açık kırıklar açısından sevindirici olan bu bulguyu rastlantı sonucu saptadığımızdan, daha ayrıntılı bir biçimde incelenmesinin gerektiğine inanıyoruz.

Bilindiği gibi, gerek kırık uçları, osteoklastlarca düzeltilmeden, gerekse parçalı kırıkta arada kalan parçacıklar ortadan kaldırılmadan kallus oluşumu en üst düzeye gelmez. Ancak 3 ve 6 dakika laser uyguladığımız deneklerde osteoklastların kontrol gruplarına oranla daha az oluştuğunu, 9 dakikalık grupta ise 3. haftaya kadar ortaya çıkmadığını saptadık. Bunun nedenini, yerleşik mezenkim hücrelerinin laser uygulaması sonucunda aktivitesini kaybetmelerine bağladık⁽⁹⁾. Osteoklastların önce biraraya gelip, sonradan füzyon sonucu oluştuğu bildirilmektedir⁽¹⁾. Aktivitesini kaybeden genç mezenkim hücrelerinin füzyon, ya da başka kaynaklarca^(4,5,6,12) bildirilen amito-

tik bölünmeyi gerçekleştiremeyeceği açıktır. Laserin etkisinin kandan gelen hücrelerdeki 'turn over' mekanizmasını hızlandırarak oluştuğu daha önce açıklanmıştır^(8,10). Bu tür bir dönüşüm sonucunda çevrede hangi tür mezenkimal hücreye gereksinim varsa, makrofajdan dönüşen hücrenin o tür olun bir hücreye dönüşme eğiliminde olduğu bildirilmiştir. Özellikle 9 dakika laser uygulanan deneklerde kırık alanında hiçbir zaman osteoklast görülmemesi, 3. haftada ortaya çıktığında ise yalnızca periferde yer alması, sanırım artık 'remodeling' süreci başladığı için yedekte kalan periosteal, ya da başka kökenli genç mezenkimal hücrelerinin osteoklastlara dönüşme eğilimi nedeniyledir. Orta bölümde, kanamanın olduğu kırık alanındaki dönüşmüş hücrelerin ise bilemediğimiz bir uyarıyla yalnızca onarım hücreleri olan fibroblast, kondrosit ve osteoblastta karar kıldığını düşünmekteyiz. Böylece laser verilen ortamda doğal olarak aktif görev alması gereken osteoklastların oluşumu, mezenkimal hücrelerinin inaktivasyonu ile engellenmektedir. Laser ile osteoklastların ortaya çıkışının engellenmesi, grefonaj yapı-

lan sorunlu pseudoartroz olgularında greftin tutması açısından önemlidir. Bu olgulara uzun süreli (en az 9 dakika) laser uygulanmasının gerekliliğine inanmaktayız. Sonradan oluşan periferdeki osteoklastların 'remodeling'e yeterli olup olmadığının daha uzun süreli bir deneyle saptanması yerinde olacaktır, ancak deney için daa kalın kemiğe sahip bir hayvanın seçilmesi gerektiği kanısındayız.

Sonuç

Farklı süreli laser uyguladığımız denekler arasında kırık iyileşme süresi açısından bir fark göremedik, ancak uzun süreli laser uygulanan deneklerde osteoklastların ortaya çıkışının geciktiğini saptayarak bu bulgunun grefonaj yapılan olgular açısından önemli olabileceği kanısına vardık. Kırık alanında yabancı cisim veya infeksiyon bulunan deneklerde, laser uygulandığında kırık iyileşme süreci kesintisiz ve gecikmesiz sürmekteydi. Ayrıca homojen bir kallus oluşturmak için laserin birden fazla odaklan verilmesi gerektiği kanısına vardık.

Kaynaklar

1. Alatlı, M.: Santral ve periferik reparatif granülomlar arasında histolojik yönden karşılaştırma. Doktora tezi, İstanbul, 1982
2. Berkman, M., Rodopman, A., Altuğ, T.: Laserin prostoglandinlerle olan ilişkisinin tavşan fibula kırıkları üzerinde incelenmesi. Acta orthop. et Travm.Turc. Cilt 21, No.2, s.40-42, 1987
3. Dalmases, F., Romero, C., Trelles, M.: Scheme of laser therapy units and their technical protocols in dosimetry, ed: Waidelich, W.: Laser, Optoelektronik in der Medizin, 7. International Congress-Laser 85, Springer Verlag, 1986
4. Dreher, R., Keller, H.U., Hess, M.W., Cottier, H.: Enhancement of tolcum-induced macrophage fusion and giant cell proliferation by delta-hydro cortisone acetate, ed: v. Furth, R.: Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology, Blackweel Scientific Publ., Oxford, 1975
5. Gillman, I., Wright, L.U.: Probable in vivo origin of multi-nucleated giant cells from circulating mononuclears, Nature 209:263-165, 1966
6. Hanaoko, H., Friedman, B., Mack, R.P.: Ultrastructure and histogenesis of giant cell tumor of bone, Cancer 25:1408-1425, 1970
7. İkiz, O.M.: Applications of infrared diode laser in medicine, Master tezi, İstanbul, 1986
8. Kokino, M., Temelli, Y., Tözün, R., Alatlı, M., Altuğ, T., Berkman, M.: An investigation of the stimulating effect of laser on callus in the treatment of fractures, International Congress on Laser Medicine and Surgery, Bologna, 1985
9. Nohutçu, R., Eratalay, K., Sakızlı, M.: Laserin hücre kültürlerinde çoğalma üzerine etkileri, Türk Periodontoloji Derneği 17. Bilimsel Kongresi, 1986, İstanbul
10. Oral, C.K.: Laserin ağız cerrahisi girişimlerinde iyileşme üzerine etkilerinin deneysel araştırılması, Doktora tezi, İstanbul, 1987
11. Trelles, M.A., Mayayo, E.: Low intensity laser irradiation promotes more rapid repair of bone fractures, experimental demonstration, International Congress on Laser Medicine and Surgery, Bologna, 1985
12. Schajowicz, F.: Kişisel görüşmeler.