

BÜYÜME PLAĞINDA KIRIK SONRASI DNA SENTEZİNİN OTORADYOGRAFİK İNCELENMESİ

Emin Kaya ALPAR*

Ö Z E T

Büyüme plağında kırık sonrası DNA sentezi trityumlu timidin otoradyografisi ile deneysel incelenmiş ve hücre kinetiği ile çocuk kırıklarında ekstremitelerde uzunluğunun artmasının fizyopatolojik nedenleri saptanmıştır.

Uzun kemiklerde kırık iyileşmesi, periostun kambiyum tabakası ile kırmızı kemik iliği bulunan bölgelerdeki kemik ana hücrelerinin proliferasyonu, osteoblasta ve sonuçta osteositte farklılaşması sayesinde olmaktadır (2). Hücrel ve biokimyasal olayların yanısıra kırık sahasından uzak bölgelerde gerek yaralanma gerekse iyileşme uyarılarından etkilenmektedir. Bu olaylardan biri de çocuklarda alt ekstremitelerde kırıklarından sonra birçok vakada uzama meydana gelmesidir. Birçok yazar linear büyümenin büyüme plağının hiperemisinden ileri geldiğini bildirmiştir (1,4,6,7). Ancak klinik gözlemlere dayanan bu fikirleri açıklayacak deneysel çalışmalar yapılmamıştır.

Bu yazıda amaç, büyüme plağında kırık sonrası meydana gelen hücrel değişiklikleri bildirmektir.

MATERYEL VE YÖNTEM :

Deneysel çalışmamız Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırma Ünitesi laboratuvarlarında 60 adet 3 aylık Swiss Albino türü sıçanlar üzerinde yapıldı. Sıçanların sol tibia ve fibulaları digital kompresyon yöntemi ile kırıldı ve Radiochemical Center, Amersham - İngiltere'den getirttiğimiz (6-³H) Timidin hayvanlara ağırlıklarının beher gramı için 0.5 mikrocurie (0.5 uCi/gr X vücut ağırlığı) olarak periton içi yol ile steril şartlarda hemen kırık yapıldıktan sonra zerkedildi.

Her gün için 20 gün süre üç hayvan nembutal intoksikasyonu ile öldürülüp kırık bölgesinden biyopsi alındı. Biyopsi materyeli nötral

* Hacettepe Üniv. Tıp Fak. Ortopedi ve Travmatoloji Bilim Dalı Üniv. Doçenti.

tamponlu formalinde 24 saat tespit edilip sonra 24 saat süre ile musluk suyu ile yıkandı 4 gün süre ile formik asidde dekalsifiye edilip 5 mikronluk kesitleri hazırlandı. Preparatlar Kodak AR-10 soyma otoradyografi filmine sarılarak 21 gün süre ile 4°C da ışınlamağa bırakıldı. Bu süre sonunda develope edilen preparatlar dilue Erlich hemotoksileni ile boyanıp ışık mikroskobunda incelendi.

BULGULAR :

Birinci günden itibaren yirminci güne kadar günlük hazırlanan otoradyografi filmlerinin incelenmesi sonucu büyüme plağının hipertrofik ve proliferatif bölgesindeki kırıkta hücrelerinde trityumlu timidinin en fazla tutulduğu görüldü. Trityumlu timidin ile meydana gelen bu işaretlenme periostun kambiyum tabakasında bile bu kadar fazla değildi. Buna karşın büyüme plağı kırıkta hücrelerinde çok aşırı bir işaretlenme olduğu halde bu hücrelerde mitotik faaliyet hiç görülmedi (Resim: 1). Kırık iyileşmesinde yapılan takipte günler iler-



Resim: 1 — Dikey kesik çizgiler büyüme plağında trityumlu timidin ile işaretli hücreleri göstermektedir.

O : Metafizde işaretli osteoblastı göstermektedir.

(H.E. x 450)

ledikçe büyüme plağında işaretlenmesinde hiç bir azalma görülmedi. Bu durum özel sayım kafesi ile yapılan hücre kinetiği çalışmaları ile de saptandı. Bütün gün-

lerde yapılan hücre otoradyografik tanecik sayısının 20 olduğu tespit edildi.

Sağlam tarafta proliferatif ve hipertrofik tabakalarının kalınlaştığı, bu kalınlaşma sonucunda kırık tarafın sağlam tarafa göre daha uzun olduğu saptandı.

TARTIŞM

Timidin DNA (desoksiribonükleik asidin) yegâne prekürsürüdür (3). Bu sebeple yalnız mitotik faaliyete başlayan hücrelerde mozom duplikasyondan hemen evvel hücreye giren trityumla işaretli timidin bölünme sonucu eşit sayıda yavru hücrelere geçmekte ve bu sayede hücrenin DNA sentezi ve mitotik indeksi konusunda hiç bir yanılığa meydan vermiyen sonuçlar vermektedir.

Çalışmalarımızda radyoaktif timidin ilk önce büyüme plağının proliferatif ve hipertrofik tabakalarında tutulduğu görüldü. Bunun anlamı, bu hücrelerde aşırı DNA sentezi yapıldığıdır. DNA sentez eden bir hücre ise bölünmeğe hazırlanmaktadır. Ancak bizim çalışmalarımız süresince bu hücrelerde aşırı DNA sentezi görüldüğü halde mitotik faaliyete hiç rastlanılmadı. Aşırı DNA sentezine rağmen bölünmenin görülmemesi, mitotik uyarımın olmamasından ileri gelmektedir.

Pratikte, özellikle çocuklarda femur kırıklarından sonra o taraf bacağın bazı hallerde normal bacadan daha uzun olduğu bilinmektedir. Bu durum fazla distraksiyon veya uzunlamasına büyümenin uyarılmasına bağlıdır (1,4,6,7).

Kemiklerin uzunlamasına büyümesi, büyüme plağının proliferatif tabasındaki hücrelerin çoğalması sonucu olmaktadır (8). Kırıktan sonra büyüme plağında dolaşımın arttığı saptanmıştır (10). Normal beslenmesi değişen büyüme plağında intersellüler matriks yapımı da hızlanmaktadır (5,9).

Radyoaktif timidin büyüme plağı hücrelerinde tutulup DNA sentezinin artması önce kısa süreli iskemi, sonra dolaşım hemodinamiğinin değişmesi sonucu olmaktadır. Bu aşırı metabolik faaliyet sonucu hücrelerde kompensatris hipertrofi meydana gelmektedir. Bu durum da kırık taraf ekstremitenin uzamasına sebep olmaktadır. Kırık sonrası görülen ekstremitenin uzaması kompensatris hipertrofi yerine mitotik faaliyet sonucu uzunlamasına büyümeden ileri gelse idi zamanla iki ekstremitenin eşit uzunluğa sahip olamazdı (2).

SUMMARY

Autoradiographical study of post-fracture DNA synthesis in the growth-plate

In this experimental study the cellular kinetics of epiphyseal, growth plate is investigated by utilizing tritiated thymidine autoradiography.

It is demonstrated that the proliferatif and hypertrophic layers of the epiphyseal synthesizes DNA in abundant quantities. But, despite of this phenomenon no mitotic activity is observed. Therefore, it is concluded that the epiphyseal plate undergoes some intracellular changes due to vascular dynamics.

LİTERATÜR

- 1 — AITKEN, A. P. : Overgrowth of the femoral shaft following fracture in children. J. Bone Joint Surg. 19:147, 1940.
- 2 — ALPAR, E. K. : Kırık iyileşmesinde hücre orijini ve diferansiyasyonunun tritiumlu timidin otoradyografisi ile deneysel olarak incelenmesi. Docentlik Tezi, 1975.
- 3 — BURWELL, R. G. : The rate of bone growth. Recent advances in orthopaedics. Edited by A. G. Apley. S. 115-207. London J-A. Churchill Ltd. 1969.
- 4 — GREVILLE, N. R., IVINS, J. C. : Fractures of the femur in children; an analysis of their effect on the subsequent length of both bones in the lower limb. Amer. J. Surg., 93:376, 1957.
- 5 — KENZORA, J. E., GLIMCHER, M. J. : The cytokinetics of normal epiphyseal plate cartilage division and Cytodefferentiation. The Jour. Bone and Jt. Surg.. 56-A:854, 1974.
- 6 — STAHELI, L. T. : Femoral and tibial growth following femoral shaft fractures in childhood. Clin. Orthop., 55:159, 1967.
- 7 — TACIJDJIAN, O. M. : Pediatric orthopedics Vo. 2. Saunders, Philadelphia - London - Toronto, 1972.
- 8 — TRUETA, J., MORGAN, J. D. : The vascular contribution to osteogenesis. I. Studies by the injection method. The Jour. Bone and Joint Surg., 42-B: 97-108, 1960.
- 9 — TRUETA, J., AMATO, V. P. : The vascular contribution to osteogenesis. III. Changes in the growth cartilage caused by experimentally induced ischemia The Jour. Bone and Jt. Surg., 42-B:571-587, 1960.
- 10 — YABSLEY, R. H., HARRIS, W. R. : The effect of shaft fractures and periosteal stripping on the vascular supply to epiphyseal plates. The Jour. Bone and Jt. Surg., 47-A:551-566, 1965.