

ANABOLİZAN VE C VİTAMİNİNİN PRİMER KALLUS DEVRESİNDEKİ ETKİSİNİN İN VİTRO OLARAK TETKİKİ

Cengiz OKTAY (*)
Ömer KAYA (**)

GİRİŞ :

Günümüzde gittikçe artan trafik kazaları, iş kazaları gibi nedenler ile meydana gelen fasial yaralanmalarda yumuşak doku laserasyonlarının yanı sıra yüz kemiklerinde de kırıklar meydana gelmektedir.

Diş Hekimliği sahasına giren Mandibula ve Maxilla'da görülen kırıkların tesbiti ve iyileşmesi için muhtelif yöntemler kullanılmaktadır. Günümüzde kemik fragmanlarının tesbiti ve kontansiyonu için uygulanan açık ve kapalı intraoral fiksasyon) redüksiyon metodlarının yanı sıra, primer ve sekonder kallus teşekkülünü hızlandırmak için muhtelif preparatlar tatbik olunmaktadır. Bu preparatlar Kalsium, C vitamini ve D₃ vitaminli preparatlardır.

Son zamanlarda, kırık iyileşmesini hızlandırmak gayesi ile Ortopedi ve Çene Cerrahisi kliniklerinde Androgen steroidlerinden olan Anabolizantlarda kemik organik matriksini etkileyen preparatların yanı sıra kullanılmaya başlanmıştır. Primer kallus devresinde teşekkül eden kallus üzerinde bu preparatlardan Anabolizan ve C vitamininin ne şekilde etkili olduklarını tesbit etmek amacıyla bu araştırmaya girilmiş ve tatbik olunan preparat ve preparat kombinasyonlarının dereceleri ve yeni teşekkül eden doku üzerinde hangi açıdan etkin olduklarının tesbitine çalışılmıştır.

ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER :

Kırığın iyileşmesi, konsolidasyonu (consolidation) bugün bile tam aydınlanamamıştır. Kemik kırılınca endosteum, periost ve çevredeki yumuşak dokuların parçalanması sonucu buralardaki kan ve lenf damarları

(*) Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyesi,

(**) Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Asistanı.

da parçalanarak dokular arasında; kan, lenf ve eksuda birikmesi olur. Ayrıca adale, tendon, ligament, sinir ve diğer yumuşak dokular da parçalanır. Bazan parçalanan bu dokular kırık parçaları arasına girebilir (inter position). Parçalanan damarlar, kemiğin havers kanal sistemine ait kanallar ile kırık hattında bulunan periost ve kemik iliğine ait damarlardır. Kırık parçaları arasında, sahadaki damarların zedelenmesine bağlı olarak «kırık hematomu» oluşur. Bu hematom, kan, lenf, parçalanmış doku hücrelerinden meydana gelmiştir. Hematom 8 - 24 saatte büyüyerek şişme, ağrı ve dolanım bozukluğuna sebep olur. Şişme fazla süratle geliyorsa, intensif ağrı meydana gelir. Sirkülasyon kırığın en uzak proksimal kenarında olduğu kadar, kırığın hasara uğramamış kısmındaki damarların anastomos sahalarında da inkitaya uğrar veya durur (1).

Kemiğin havers kanal sistemi periosttan gelen kollateral damarların dışında tek bir damar taşır; bu nedenle bu tek damarla beslenen havers sistemindeki kemik hücreleri beslenememekten nekroza uğrarlar. Ölü kemik fraktür sahasından anastomos sirkülasyon sahasına kadar uzanır. Bu sahada birkaç mm. çapında veya daha büyük olabilir. Kemikteki kan beslenmesi muhtelif yollardan olduğu için genellikle yaşıyan veya ölü kemik arasında kat'i demarkasyon hattı çizilemez. Kan ile beslenememesinde fraktür hattına yakın sahadaki kemik iliğinde de nekroz meydana gelir. Ayrıca periosttaki kan damarlarının yırtılması da lokal olarak kemiğin ölümüne sebep olur. Zira periostal damarların kollateralleri havers kanal sisteminin yanı sıra kemiği beslerler.

Kırık sahasında meydana gelen kan pıhtısının granülasyon dokusu ile daha sonra bu dokunun kemik dokusu ile yer değiştirdiği eskiden kırık iyileşmesinde kabul edilmekte idi (2).

Bugün için kırık iyileşmesinde, kan pıhtısının iyileşme olayında pasif bir rolü olduğu ve yeni teşekkül eden primer kallasun granülasyon dokusunun dışında oluştuğu kabul edilmektedir. Hakikat halde, pıhtının varlığı osteojenik hücrelerin o sahayı işgal etmeleri için lüzumlu değildir (3). Ancak pıhtının cüz'i de olsa nekrozu, iyileşme olayının gecikmesine sebep olabilir.

Yukarıdaki bu görüşün aksine bazı müellifler (4 - 5) 48 ilâ 72 saat sonra kırık uçları arasında ve çevresindeki kırık hematomunda fibroblast infiltrasyonu ile genç, vaskülarize granülasyon dokusu oluştuğunu kabul ederler. Fibröz doku veya fibröz kal (kallus) devresi 7 gün kadar devam eder. Kırılan uçlardan enzimlerin serbestleştirdiği kalsium bu damarlıgranülasyon dokusuna yerleşerek osteoid bir kitle yapar ki, buna

kallus (kal) denir. Kallus kemik fragmanlarını birbirine bağlayan bir strüktürdür.

Kompozisyon itibarıyla kallus değişik miktarda fibröz doku, kıkırdak ve kemik dokusu ihtiva eder. External kallus iki kemik fragmanının dışında, etrafında teşekkül eder. Internal kallus ise kemik iliği kavitesinden menşe alan yeni bir dokudur (6).

Periost, kallus teşekkülünde önemli bir strüktür olup, fraktür iyileşmesinde büyük rol oynar. Bu sebeple muhafazası esastır. Kemik kırığının bulunduğu sahadaki periost hücreleri kırığı takiben ölürler. Ancak bu sahaya komşu sahadan aşırı bir hücreyel aktivite, yaralanmayı takiben birkaç saat içinde oluşmağa başlar. Periostun fibröz tabakası nisbeten inert'tir. Bu fibröz tabaka kemik yüzeyinden periostun iç tabakalarındaki hücre proliferasyonu neticesi ayrılır. Bu hücreler osteojenik bir karakter kazanırlar. Yani osteoblastlar adönüşürler. Bu dönüşme fraktür meydana gelmesinden birkaç gün sonra teşekkül etmeye başlar. Bu şekilde kırık sahasından uzak bir sahada cüz'i miktarda da olsa yeni kemik teşekkülü oluşur. Bu osteojenik hücrelerin devamlı proliferasyonu fraktür yüzünün etrafında veya üzerinde bir kallus yakası meydana getirir. External kallusda teşekkül eden yeni kemik genellikle irregüler bir trabekülasyon gösterir. Trabeküllerin dizilimi kemik yüzüne dik gelecek şekilde bir orientasyon gösterir. Hücrelerin osteoblastlara dönüşümü ve bunu takiben görülen kemik teşekkülü, kallus yakasının en derin kısmında meydana gelir. Fraktür hattından uzak, hızlı bir şekilde büyüyen kallus yakası sahasında osteoblastlar yerine kondroblastik dönüşüm görülür. Bu kıkırdak, kemik ile kaynaşır. Ancak kemik ile bu kıkırdak dokusu arasında keskin bir demarkasyon hattı bulunmaz (6). Osteojenik tabakanın osteoblastlar yerine kondroblastlara dönüşmesi bir gerçeğin ifadesidir. Bu gerçek de, periostun bir zamanlar perikondriumdan menşe aldığı şeklindedir. Kallusda, teşekkül eden kartilaj miktarı vak'adan vak'a ya bir değişme gösterebilir. Bu değişmede muhtelif faktörler rol oynayabilir. Önemli olan bir faktör o sahanın damarlanmasıdır. İyi vaskülarize olmuş bir sahada daha ziyade kemik teşekkülüne temayül vardır. Vaskülarizasyonun az olduğu vak'alarda kıkırdak meydana gelir. aKallusda, kemik kan damarlarına komşu sahalarda teşekkül eder. Kartilaj teşekkülünde rolü olan hücreler aşırı bir şekilde proliferasyon gösterirler. Netice olarak damarlar bu proliferasyon hızını takip edemezler ve bu hücreler kan beslenememesinden yoksun kalırlar. İyileşme hızı bu nedenle kartilaj teşekkülünde rolü olan önemli bir faktördür. Yani aşırı hücreyel proliferasyon gösteren vak'alarda kartilaj teşekkülü vardır. Yavaş meydana gelen iyileşmelerde kartilaj az olur. Ayrıca fragmanların hareketi de aşırı miktarda kartilaj az olur. Ayrıca fragmanların hareketi

de aşırı miktarda kartilaj teşekkülünde rol oynar. Tamamen immobilize edilmiş fraktürlerde osteoblastik aktivitenin daha fazla olmasının ifadesidir. Kallus formasyonu ilerledikçe kartilaj hücreleri olgunlaşmağa başlarlar. Teşekkül eden kırıkta normal endokondral kemik teşekkülünde olduğu şekilde bir kalsifikasyon gösterir. Bu kalsifikasyon kan damarlarının bulunduğu sahaya komşu sahada en fazla olarak görülür. Kalsifiye olan kırıkta tedricen rezorbe edilir ve bunun yerine kemik kaim olur (7).

İnternal kallus, havers kanal sisteminin endoestomundan meydana gelir veya diferansiye olmamış kemik iliği hücrelerinden de meydana gelebilir. Kırık teşekkülünü hemen takiben endoestum prolifer olmaya başlar. Bir veya iki hafta içerisinde yeni kemik ve kırıkta teşekkül görülür. Her fragmanın ucunda teşekkül eden yeni kemik tedricen birleşir ve bu şekilde kemiğin temadisi gerçekleştirilir (6).

İki kemik fragmanını birleştiren external ve internal kalluslar organizmacaya yeniden module olunmalıdır. Zira kallus teşekkülünde, daima aşırı miktarda kemik teşekkülü, iyileşen sahanın kuvvetlendirilmesi için lüzumludur. Buna ilâve olarak yeni teşekkül eden kemik sıklıkla ölü kemik fragmanları ile birleşmiştir. Ölü kemik fragmanları yavaşça rezorbe olunurlar ve bunların yerlerine normal olgunlaşmış bir kemik geçer. Bu matur kemik, normal stres, dağılımlarını kompanse edecek bir orientasyon gösterir (2).

İyileşmesi tamamlanmış bir kırık vak'asında klinik ve röntgen bulguları o sahada sanki hiç kırık olmamış gibi bir izlenim verir.

Kemik teşekkülünde ve kemiğin tamiri olayında C vitamininin önemli bir rolü vardır. Ascorbik asit eksikliğinde mezankimal hücreler normal kollagen yapımına geçemezler. Bu durumda kalsifikasyon olayının bozulmasına yol açar. Ascorbik asitin günlük ihtiyaç miktarının altında alınması ve normal günlük kalori alınmaması iskelet gelişimini etkiler (8).

Kemikleşmeyi etkileyen faktörler hücresele seviyede osteoblastların devamlı olarak glikoliz yaptıkları ve laktik asit meydana getirdiklerini biliyoruz. Konumuz olan ascorbik asitin muhtelif biyolojik oksidasyon reaksiyonlarında ve bilhassa kollagen sentezinde rolü bulunan prolin ve lysin hidroksilasyonu için Fe ++ ile müşterek fonksiyon gördüğünü bilmekteyiz (9). İnsanda normal ascorbik asit seviyesi % 0,7 ile % 1,2 mg.'dir. Bu seviye % 0,5 mg. altına düştüğünde C vitamini eksikliğine ait semptomlar görülür. Ascorbik asit plazma, doku ve lökositlerde bulunur (10).

Lökositlerdeki ascorbik asit konsantrasyonu plazmadaki ascorbik asit konsantrasyonu ile ilgili olmayıp, lökositlerdeki ascorbik asit konsantrasyonu ile ilgilidir (11). Bu durumda, kollagen sentezinde plazmadan dokuya mal edilen ascorbik asit miktarının kallus teşekkülünde rolü olacağı düşünülebilir.

Anabolizanlarda kemik ve adale dokusu üzerinde tesir gösterirler. Anabolizanların bu aktivitesi bilhassa nitrojen, potasyum, fosfor ve kalsium retansiyonu şeklindedir. Köpeklerde yapılan deneylerde anabolizanların protein sentezinde bir artma, amino asit katabolizmasında bir azalma meydana getirdiği tesbit edilmiştir (12). Hücresele seviyede anabolizan olarak kullanılan testesteron derivelerinin m. R. N. A. aracılığı ile ribosomlarda sayıca bir çoğalma ve buna bağlı olarak protein sentez kapasitesinde bir artma meydana getirdiği tesbit olunmuştur (9). Oestrojen hormonu anabolizan olarak verilen androjenler ile biyolojik antagönizm içerisinde bulunur.

Androjenler elektrolit ve su dengesini de etkiler. Örneğin; Sodyum klorür ve potasyum retansiyonu androjen tatbik edilen vak'alarda kendisini gösterir. Androjenlerin tesiri ile aynı zamanda protein anabolizmasına bağlı olarak kalsium ve sülfatlarda da bir retansiyon görülür. Androjenlerin elektrolit dengesini etkileme özellikleri androjenlerin aşırı dozlarda verilmesi halinde görülür (12). Androjen aktivitesi 25 yaşına kadar maksimuma ulaşır. Bu yaştan sonra androjen aktivitesinde bir azalma görülür (13). Bu neden ile görülen kırık vak'alarında yaşa göre artan miktarda androjen tatbiki kırık iyileşmesini çabuklaştırması bakımından önem kazanır. Androjenler 17-keto steroidler şeklinde itrah edilirler.

MATERYAL ve METOD :

1 — Materyal :

Bu çalışma vücut ağırlığı 25 ilâ 30 gr. arasında değişen erkek ve ve dişi sıhhatli 20 fındık faresi üzerinde yapıldı. Hayvanlar 5'er adet halinde 4 grupta toplandı. Grupların tatbik olunan preparatlara göre dağılımı tablo 1'de görülmektedir.

Hayvanların karışmasını önlemek için her gruptaki hayvan aynı yerden ve aynı renkten boyandı ve ayrılmış özel kafeslerinde araştırma süresince muhafaza edildi.

2 — Metod :

Hayvanlar 1 mg/kg. sodyum pentobarbital (Nembutal)i.v. tatbikini müteakıp 5-10 saniye sonra anesteziye girdi.

İris makası ile sağ fibula kemikleri orta yerinden kırıldı. Daha sonra hayvanlar 21 günlük tedaviye tabi tutuldu. Bu zaman zarfında Anabolizan (Primobolan depot) asitsiz yağda eritildi ve farelerin vücut ağırlıklarının her bir gramı için 67 ng/g intra peritonéal olarak verildi.

C vitamini 1 gr. için 8.3 mcg/g serum fizyolojikte çözüldürülerek intra venöz olarak verildi.

Gruplandırılmış farelerde fibula kemiği kırıldıktan hemen sonra, kırığın 7. günü, 14. günü ve 21. günü Anabolizan ve C vitamini ayrı olarak ve kombinasyon şeklinde tatbik olundu.

Bu şekilde gruplandırılmış hayvanlara değişik kombinasyonlardaki ilâçlar 21 günlük zaman zarfında 7 gün ara ile tatbik edilmiş oldu.

Hayvanlar 21 gün sonra eterle öldürüldüler. Sağ arka fibula-tibia kemikleri disseke edilerek alındı. Makroskopik kontrolden geçirildikten sonra kemik materyaller, alkolde tesbit edildi. Kemikler dekalsifiye edildikten sonra Periodik asit Schiff, Hematoxylen - Eosin, Van-Gieson boyama metodlarına (13) uygun olarak boyandı ve makroskopik olarak değerlendirilmeleri yapıldı.

BULGULAR :

Araştırmamıza konu teşkil eden 20 fındık faresinde çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmış ve elde edilen bulgular makroskopik ve histolojik olarak gösterilmiştir.

1 — Makroskopik Bulgular :

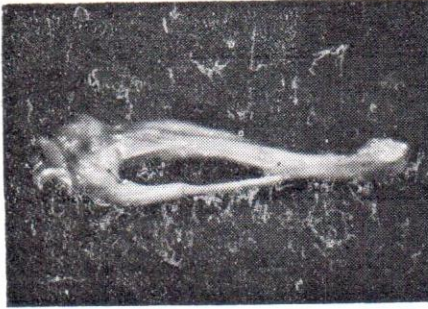
Bu farede kemik fragmanları başbaşa ve mekik şeklinde kallus teşekkül görülmektedir (Resim : 1).

Bu farede fragmanlar bir araya gelmiş ve ayrıca muntazam bir kallus teşekkülü görülmektedir (Resim : 2).

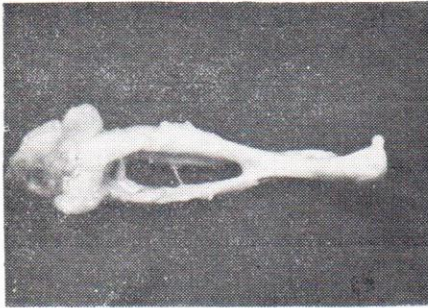
Normal büyüklükte kallus yakası ve fragmanların iyi bir şekilde birleştiği görülmektedir (Resim : 3).

Kemik fragmanları uç uca gelmiş, kallus yakası çok dar olarak görülmektedir (Resim : 4).

Rontgenolojik değerlendirme, primer kallus teşekkülü devresinde bir anlam taşımadığı için yapılmamıştır.



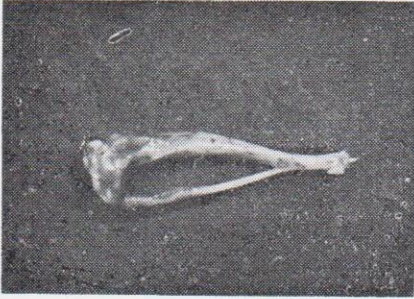
Resm : 1 — Anabolizan ve C vitamini verdiğimiz farelerden birinin fibula kemiğinin makroskopisi. Bu farede kemik fragmanları başbaşa ve mekik şeklinde kallus teşekkülü görülmektedir.



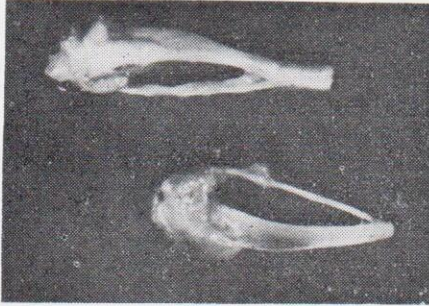
Resim : 2 Yalnız anabolizan verilen farelerden birinin fibula kemiğinin makroskopisi. Bu farede fragmanlar bir araya gelmiş ve ayrıca muntazam bir kallus teşekkülü görülmektedir.

HİSTOLOJİK BULGULAR :

Hematoxylen - Eosin boyama metoduna göre hazırlanan preparatlar kallus sahasındaki hücrelerin değerlendirilmesi için, Van-Gieson boyama metoduna göre hazırlanan preparatlar kollagen sentezini değerlendirmek için ve PAS boyama metoduna göre hazırlanan preparatlar ise yeni teşekkül etmekte olan kemik dokusunun değerlendirilmesi için hazırlanmıştır. PAS metodunda ara maddeyi teşkil eden glukoproteinlerin varlığı bilhassa yeni teşekkül eden dokularda mütebarizdir.



Resim : 3 C vitamini verilen farelerden birinin makroskopisi. Normal büyüklükte Kallus yakası ve fragmanların iyi bir şekilde birleştiği görülmektedir.



Resim : 4 — Kontrol grubu farelerin fibula kemiğinin makroskopisi. Kemik fragmanları uç uca gelmiş kallus yakası çok dar olarak görülmektedir. Rontgenolojik değerlendirme primer kallus devresinde bir anlam taşımadığı için yapılmamıştır.

Hematoxylen - Eosin ile hazırlanan, kallustaki hücresel değerlendirmenin yapıldığı preparat.

Bu preparatda kondrositlerden fevkalâde zengin, ayrıca fibröz bağ dokusunun da fibroblastlardan daha az ve fibrositten zengin oluşu dikkati çekmektedir (Resim : 5).

Hücre sayısı açısından en iyi gelişmiş preparattır. Kondrositler adeta sırt sırta vermiş görünümde, aralarında çok az hücreler arası maddesi seçilmekte, sağlam kemik tarafında bulunan kondrositler hacimce daha büyük, kallus merkezine doğru kondrositlerin hacmi azalmaktadır. İltihabi hücre infiltrasyonu hiç görülmemektedir (Resim : 6).

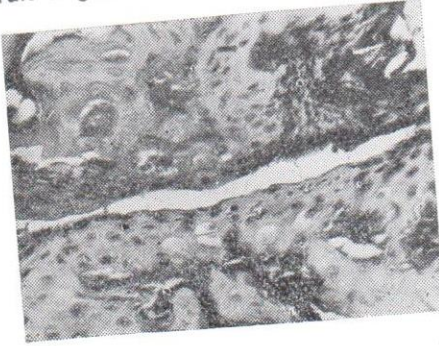
Kallus hücreden (kondroblast, kondrosit ve az miktarda osteosit) zengin, iltihabi hücre infiltrasyonu görülmektedir (Resim : 7).

Kallusu oluşturan hücrelerin çoğu kondrosit özellikle olup, kırık-
dak hücrelerin çoğunun büyük oluşu dikkati çekmektedir (Resim : 8).

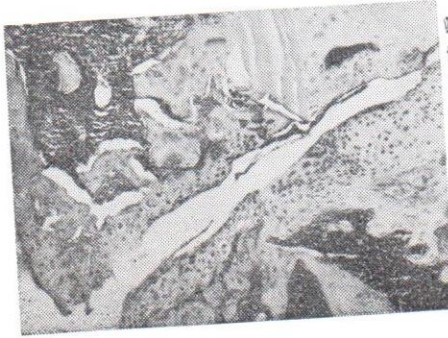
PAS METODU İLE HAZIRLANAN PREPARATLAR :

Kırık sahasının enine ve uzunlamasına kesitleri görülmektedir. Çok
bol sayıda proliferasyon kırıkdağı tarzında tanzim gösteren kondrosit-
lerde kapsül çevresi (+) kırmızı, aralar daha da açık renkte seçilmekte-
dir (Resim : 9).

Fücreden fevkalâde zengin, hücreler arası madde PAS boyası ile
hücrelerin hemen çevresinde koyu olarak seçilen bölgelerde geniş sa-
ha kaplamakta, ton bakımından koyu kırmızı boyandığından +++ ola-
rak değerlendirilmiştir (Resim : 10).



Resim : 5 — Anabolizan ve C vitamini preparatı. (H+E.) Bu preparatta kondrositlerden fevkalâde zengin, ayrıca fibröz bağ dokusunda fibroblastlardan daha az ve fbrositten zengin oluşu dikkati çekmektedir.



Resim : 6 — Sadece anabolizan verilen farelerden hazırlanan preparat (H+E.) Hücre sayısı açısından en iyi gelişmiş preparattır. Kondrositler adeta sırt sırta vermiş görünümde, aralarında çok az hücreler arası maddesi seçilmektedir. Sağlam kemik tarafında bulunan kondrositler haccimce daha büyük, kallus merkezine doğru ise kondrositlerin hacmi azalmaktadır. İltihabi hücre infiltrasyonu hiç görülmemektedir.

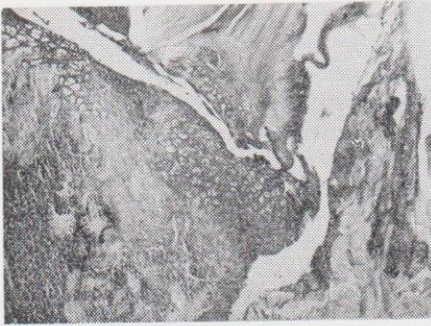
PAS boyası ile hücreler arası maddesi, değişik tonlarda kırmızı renge boyanmaktadır. Sahada bol miktarda görülen kondrositlerin, daha az sayıdaki osteosit ve kondroblastların hemen çevreleri daha koyu renkte boya almakta, hücreler uzaklaştıkça boyanın rengi daha açık olarak görülmektedir (Resim : 11).



Resim : 7 — C vitamini preparatı (H+E.) Kallus hücreden (Kondroblast, Kondrosit ve az miktarda osteosit) zengin iltihabi hücre infiltrasyonu görülmektedir.



Resim : 8 — Kontrol grubu preparatı (H+E.) Kallusu oluşturan hücrelerin çoğu kondrosit özellikle olup, kırıkta hücrelerin çoğunun büyük oluşu dikkati çekmektedir.



Resim : 9 — Sadece anabolizan verilen hayvanın kallus sahası. (H+I.) Kırık bölgesinin enine ve uzunlamasına kesitleri görülmektedir. Çok bol sayıda proliferasyon kırıktağı tarzında tanzim gösteren kondrositlerde kapsül çevresi (+ kırmızı, aralar daha açık renkte seçilmektedir.

Çeşitli preparatlar PAS boyası ile incelenirken ara maddenin PAS ile boyanışının şiddeti az (+), normal (++) , fazla (+++) tarzında değerlendirilmeye çalışılmış ve kontrol grubu (++) olarak belirtilmiştir.

Kollagen fibrilleri bakımından az bir kollagenleşme görülmektedir. Kontrol grubu ile aşağı yukarı aynı oranda bir kollagenleşme olmuştur (Resim : 12).

Kollagen fibrilleri varlığı bakımından en iyi preparattır. Kontrol ve diğer gruplara oranla en fazla kollagenleşme bu preparatta mevcuttur (Resim : 13).



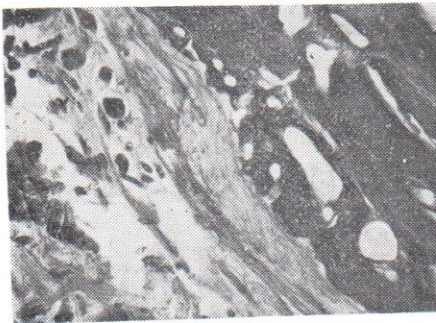
Resim : 10 — C vitamini verilen hayvanın kalusundan hazırlanan preparat (H+E). Hücreden fevkalade zengin, hücrelerarası madde PAS boyası ile hücrelerin hemen çevresinde koyu olarak seçilen bölgelerde geniş saha kaplamakta, ton bakımından koyu kırmızı boyandığından +++ olarak değerlendirilmektedir.



Resim : 11 — Kontrol grubu preparatı (H+E.) PAS boyası ile hücreler arası maddesi değişik tonlarda kırmızı renge boyanmaktadır. Sahada bol miktarda görülen konositlerin daha az sayıdaki osteosit ve kondroblastların hemen çevreleri daha koyu renkte boya almakta, hücreler uzaklaştıkça boyanın rengi daha açık olarak görülmektedir.



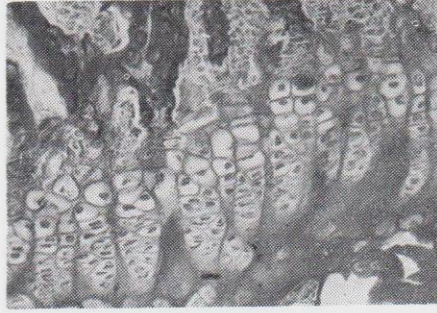
Resim : 12 — Anabolizan preparatı (Van - gieson) kollagen fibrilleri bakımından az bir kollagenleşme görülmektedir. Kontrol grubu ile aşağı yukarı aynı oranda bir kollagenleşme olmuştur.



Resim : 13 — Anabolizan ve C vitamini preparatı. (Van - gieson) Kollagen fibrilleri, varlığı bakımından en iyi preparattır. Kontrol ve diğer gruplara oranla en fazla kollagenleşme bu preparatta mevcuttur.



Resim : 14 — C vitamini preparati (Van-gieson). Kollagen fibrilleri bakımından normal, kontrol grubuna nazaran daha fazla bir kollagenleşme mevcuttur.



Resim : 15 — Kontrol grubu preparatı (Van - gieson) Kollagen fibrillerin varlığı bakımında diğer gruplara nazaran az bir kollagenleşme mevcuttur.

Kollagen fibrilleri bakımından normal, kontrol grubuna nazaran daha fazla bir kollagenleşme mevcuttur (Resim : 14).

Kollagen fibrillerin varlığı bakımından diğer gruplara nazaran az bir kollagenleşme mevcuttur (Resim : 15).

Van-Gieson boyama metodunda homojen kırmızı renkte boyanan ara madde üzerinde dalgalı seyirli daha koyu kırmızı boyanmış şekilde seçilebilen kollagen fibrillerin varlığı preparatların aralarında kıyaslanmaları ile + (Az), ++ (Normal), +++ (Fazla) şekilde değerlendirilmiştir (Tablo II).

Van Gieson boyama metodu ile kallusda kollagenleşmenin değerlendirilmesi.

TABLO II

Kollajel Fib. varlığı	Az (+)	Normal (++)	Fazla (+++)
Anabolizan + C vit.		+	
Anabolizan	+		
Anab + C vit.			+
C vit.		+	
Kontrol	+		

TARTIŞMA :

Anabolizan ve C vitamini verilen farelerde, kontrol grubuna nazaran, Hematoxylen - Eosin ile yapılan boyamalarda kondrosit sayısı bakımından aşırı bir zenginlik, ayrıca fibroblastların azlığı yanında fibrositlerden fazlaca zengin bir görünüm bulunmaktadır. Bu durum muhtemelen tatbik etmiş olduğumuz Anabolizanın gerek kondroblastik, gerekse fibrositik aktiviteyi arttırdığı şeklinde düşünülebilir. Kollagenleşmeyi görebilmek için aynı ilâçların verildiği ve Van - Gieson boyama metodu ile hazırlanan preparatlarda kollagenleşme kontrol grubuna nazaran daha fazla görülmektedir. Sadece Anabolizan verilen farelerden hazırlanan preparatlarda kondrosit sayısının kontrol grubuna nazaran aşırı bir artış göstermesi bu steroidin V vitamini ile beraber verildiği vak'alar da aynı aşırı kondrositleşmeyi göstermesi, anabolizanların kollagen sentezinden ziyade kondrositik aktivite üzerinde rolü olduğunu düşündürmektedir. Williams (12) Anabolizan olarak kullanılan testosteron derivelerinin m. R. N. A. aracılığı ile ribosomlarda sayıca bir artma ve netice itibarıyla protein sentez kapasitesinde bir çoğalma meydana getirdiğini tesbit etmişlerdir. Bu durum pek muhtemelen kondroblast mitozunun fazlaşması şeklinde tezahür etmektedir. Zira yalnız Anabolizan verilen farelerde kollagenleşme, kontrol gruplarında olduğu kadardır. Bu durumda Androjenlerin, ekstra sellüler kollagen sentezinden ziyade, intrasellüler protein yapımını arttırdığını ve netice olarak aşırı mitotik aktivitenin (Kondroblastik aktivite) oluştuğunu ifade edecek niteliktedir

Kontrol grubundaki fareler verilen yemleri ile optimal seviyede C vitamini almaktadırlar. Ancak deney gruplarındaki farelere vermiş olduğumuz C vitamininin kollagen sentezi açısından olumlu bir etki taşıdığına inanmaktayız.

C vitamininin esası olan ascorbik asit hayvan dokularında serbest veya kombine olmuş bir şekilde görülür. C vitamini eksikliklerinde serbest ascorbik asit seviyesinde bir azalma müşahade olunur. Bu asit mezankimal hücrelerin kollagen sentezi için lüzumlu olan prolin yapımında rol oynamış olabilir. Yukarıda da belirttiğimiz gibi, yalnız C vitamini verilen farelerde normal seviyede bir kollagenleşme görmemiz, buna karşılık anabolizan ve C vitamini verilen farelerde kollagenleşmenin aşırı bir şekilde oluşması yukarıdaki düşüncemizi kuvvetlendirir niteliktedir.

Ascorbik asit, ayrıca lökositlerde de bulunur (10). Lökositlerdeki ascorbik asit konsantrasyonu plazmadaki ascorbik asit konsantrasyonu ile ilgili değildir. Bu konsantrasyon doku ascorbik asit miktarı ile iyi bir korrelasyon gösterir. Bu durumun da kallusun hematom organizasyon safhasında göstermiş olduğu iltihabi olaylarda önemli bir rolü olduğu kanısındayız. Zira, travma neticesi meydana gelen iltihabi reaksiyonun bir fibrin blokajı ile önlenmesi iltihap patolojisinde klasik olarak bilinen bir husustur. Lökositlerdeki ascorbik asit, böyle bir fibrin blokajı ile önlenmesi iltihap patolojisinde klâsik olarak bilinen bir husustur. Lökositlerdeki ascorbik asit, böyle bir fibrin blokajında muhtemelen önemli bir rol oynar. Bu nedenle tatbik etmiş olduğumuz C vitamininin yalnız kollagen sentezinde değil, aynı zamanda iltihabın da lokalize edilmesinde rolü olduğu kanısındayız.

Kontrol grubumuzda hücresel yapı olarak kondrositleri görmemiz, normal sayılabilecek bir ara madde bulunması ve kollagen bakımından fakir bir yapıyı görmemiz, karakteristiktir.

SONUÇ :

Yukarıda tartıştığımız hususları netice olarak özetlersek;

1 — Sadece Anabolizan verilen farelerde kondrosit sayısının büyük ölçüde arttığını ve kondrosit proliferasyonunun bazı yerlerde ise gayri muntazam hücre yığınları şeklinde değiştiği, buna karşılık kırık parçalarının birbirlerine bağlanması açısından gerek makroskopik, gerek rontgenolojik olarak kırık parçalarının muntazam biçimde birleştiği tesbit olunmuştur. Firtöz band, yalnız Anabolizan verilen farelerde zayıf bir şekilde teşekkül etmiştir.

2 — Kontrol grubunda, Anabolizan verilen farelere nazaran daha az kondroblastik aktivite bulunduğu, bunun yanı sıra oldukça iyi bir fibröz band teşekkülü görülmüştür.

3 — Sadece C vitamini verilen farelerde karakteristik olarak fibröz band teşekkülü görülmüştür.

Özet olarak ifade olunursa; kallustaki hücresel artım, Anabolizanlara, kollagenleşmedeki artışın Anabolizan ve C vitamininin sinerjik etkisine bağlanabilir.

Teşekkül eden kallus strain - gauge ve kallus teşekkülü sahasındaki adalelerin elektriksel olarak uyarılması ile fonksiyonel açıdan da değerlendirilebilir idi. Bu husus, kanaatimizce ayrı bir araştırma konusudur. Muhtlif preparatlar muvacehesinde, teşekkül eden kallusun fiziki özellikleri böyle bir araştırma ile ortaya çıkarılabilir.

O Z E T

Bu araştırmada; fare fibulasında meydana getirilen kırığın primer kallus teşekkülü devresinde, tatbik edilen muhtelif preparatların kallusa olan etkileri incelenmiştir.

Bu preparatardan, Anabolizanların kallustaki hücresel aktiviteyi arttırdığı, Anabolizan ve C vitamini kombinasyonunun, kallustaki kollagenleşmeyi önemsenecek derecede yükselttiği tesbit olunmuştur.

S U M M A R Y

In this study, the effect of Androgen steroid and vitamin C on the primer callus formation of rat fibula has been tested alone or in combinations.

It is convincingly obvious that anabolic effect of primobolan depo t(An androgen steroid) seems to increase condroblastic activity. On the other hand, collagen formation seems to reach utmost when vitamin C and androgen steroid is administered together, vitamin C when administered alone show an average collagen production.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — HARVEY, S. C. : The Healing of the wound as a biologic phenomenon, Surgery, 25 : 655, 1949.
- 2 — SCHRAM, W. R. : A Histologic study of repair in the maxillary bone following surgery. J.A.D.A. 16 : 1987, 1927.
- 3 — KEY, J. A. and ODELL, R. I. : Failure of excess minerals in the diet to accelerate the healing of experimental fractures. J. Bone and Joint Surgery, 37 : 37, 1955.
- 4 — EGE, R. : Hareket Sistemi Travmatolojisi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, No : 250, Sayfa : 1-5, 1971.
- 5 — MİLES, S. J. : Basic principles of fractures therapy, The Surg. Clin. of North America, 4 : 1453, 1951.
- 6 — SHAFER, W. G., HINE, M. K., LEVY, B. M. : A Textbook of Oral Pathology. W. B. Saunders Company London. pp 501 - 503, 1967.
- 7 — HAM. A. W. : Some Histophysiological problems peculiar to calcified tissues. J. Bone and Joint Surgery, 34. A : 701, 1952.
- 8 — BOURNE G. H. : The Biochemistry and physiology of Bone, New York, Academic press, 1965.
- 9 — WHITE, A., HANDLER, P., SMITH, E. L. : Principles of Biochemistry, fourth Edition, New York Mc Graw - Hill Book Company, 44 : 937 - 953, 1968.
- 10 — BOURNE, G. H. : The Biochemistry and Physiology of Bone, New York, Academic Press Inc : 1956.
- 11 — MEIKLE JOHN, A. P. : Physiology and Biochemistry of Ascorbic acid, Vitamins and Hormones, 11 : 62 - 96, 1953.
- 12 — WILLIAMS, R. H. : Textbook Endocrinology W. B. Saunders Company, London, 849 - 903, 1962.
- 13 — HAMBURGER, C. : Normal urinary excretion of neutral 17-Ketosteroids with special reference to age and sex variations, Acta endocrinol. 1 : 19, 1948.