

Kalsitoninin Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisi: Histopatolojik ve Radyografik Deneysel Çalışma

Effect of Calcitonin on Fracture Healing: A Histopathologic and Radiographic Experimental Study

Meltem ESENYEL*, Murat BÜLBÜL**, Cem Zeki ESENYEL**, Ayhan Nedim KARA**, Bilge BİLGİÇ***
SSK Vakıf Gureba Eğitim Hastanesi, *Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, **Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği
***İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Bu çalışmanın amacı salmone kalsitoninin kırık tamirinin histopatolojisi ve radyografik görünümü üzerine etkisini incelemektir.

48 Wistar cinsi sıçanın sağ tibialarında cerrahi olarak mid-diáfizeal kırık oluşturulduktan sonra intramedüller Kirshner teli ile tespit yapıldı. Sıçanlar, her biri 12 sıçan içeren 4 gruptan birine rastgele dahil edildi. Grup I ve II kontrol gruplarıydı ve herhangi bir tedavi almadı. Grup III'teki sıçanlara postoperatif olarak 6 hafta süre ile, Grup IV'tekilere ise 10 hafta süre ile 20 mg/kg/gün IM formda salmone kalsitonin verildi.

Radyografik değerlendirmeler Lane-Shandu skorlama sistemi kullanılarak, histopatoloji değerlendirmeleri ise HUO skorlama sistemi kullanılarak yapıldı.

Bütün sıçanlarda kırık bölgesinde hem radyografik hem de histopatolojik olarak iyileşme gözlemlendi. Radyografik incelemelerde kalsitonin alanlar ile almayanlar arasında 6. ve 10. haftalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Histopatolojik değerlendirme sonuçları ise kalsitonin grubunda erken dönem incelemelerde (6. hafta) istatistiksel olarak anlamlı iyileşme ($p<0,05$) gösterdi, ancak 10. haftadaki değerlendirmelerde anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Kırık iyileşmesinin erken döneminde histopatolojik sonuçların daha iyi olması bu dönemde kalsitonin kullanımının faydalı etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, internal fiksasyon uygulanmış vakalarda daha erken dönemde ambulasyon ve yük bindirmeye izin verilebileceği yönündedir. *Türk Fizik Tıp Rehab Derg 2005; 51 (1): 6-8*

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, kalsitonin, histopatoloji, radyografi

Summary

The aim of this study was to examine the effect of salmon calcitonin on histopathology and radiography of the fracture repair.

Transverse mid-diaphyseal fracture of the right tibia of the 48 Wistar rats were surgically induced and stabilized by intramedullary Kirschner wires. The rats were arbitrarily assigned to four groups of 12 animals each. Group I and II were the control groups and did not receive any medication; the other two groups of rats received 20 mg/kg/day salmon calcitonin intramuscularly for 6 weeks (Group III) and for 10 weeks (Group IV) postoperatively. Formation and healing of bone were determined by radiography and by histopathological examination.

Results of the radiographic examinations were evaluated by using Lane-Shandu scoring system and the results of the histopathologic examinations were evaluated by using HUO scoring system.

Radiography and histopathology demonstrated normal bone healing at the fracture site in all rats. On radiographic examination, there were no statistically significant differences between two groups at 6th week and 10th week evaluations. Results of the histopathologic examinations were statistically significant in calcitonin group at the early stage (6th week) of the fracture healing ($p<0,05$), but there were no statistically significant differences between two groups at the 10th week evaluations.

Better histopathologic results at the early stage of the fracture healing might imply that calcitonin has beneficial effects on fracture healing at the earlier stages of the healing process. These findings encourage earlier ambulation and weight bearing in such cases with previous surgical history of internal fixation. *Turk J Phys Med Rehab, 2005; 51 (1): 6-8*

Key Words: Fracture healing, calcitonin, histopathology, radiography

Giriş

Kırık iyileşmesi, bireysel olduğu kadar sosyoekonomik sonuçları bakımından da önemli bir süreçtir (1). Kırık iyileşme sürecinde hasarlanan dokuların rekonstrüksiyonu diğer bazı do-

kuların iyileşme süreci gibi değildir. Kırık iyileşmesiyle ilgili değişiklikler bazı fazların üst üste binmesiyle fakat sırası bozulmadan meydana gelir. Bu fazlar inflamasyonun tetiklenmesiyle başlar. Kırık iyileşmesinin fazları erken hasar, savunma ve yıkım, iyileşme ve rejenerasyon ile remodeling (yeniden şekillen-

me) olarak 1967 yılında tanımlanmıştır (2-7).

Kırık fizyolojisi ve osteoporoz, hem Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Uzmanlarını hem de Ortopedistleri yakından ilgilendirmektedir. Bu iki konunun birbirleriyle olan ilişkileri daha çok osteoporozla bağlı kırık gelişen hastalarda oluşan mortalite ve morbiditenin yüksek oranda olmasındandır (8). Bu nedenle osteoporozla bağlı kırık gelişme riski yüksek olan kişilerde kırık riskini azaltmak için birtakım ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan klinik ve laboratuvar çalışmaları da bu ilaçların kırık riskini azalttığını göstermiştir. Bu ilaçlardan biri salmon kalsitonindir (9-11).

Bu çalışmanın amacı, bahsedilen bilgiler doğrultusunda olayın tersi gerçekleştirildiği takdirde, yani kırık mevcudiyeti halinde osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaçlardan biri olan salmon kalsitoninin kullanılması durumunda kırık iyileşmesinin ne yönde etkileneceğini incelemektir.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Modeli: Çalışmada ağırlıkları ortalama 235 gr (200-340 gr) olan 48 adet erkek Wistar cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların ortalama yaşları 5 ay (4-6 ay) idi. Çalışmaya alınan sıçanlar standart kemirgen yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Çalışma boyunca tekli kafeslerde tutulan sıçanların aktiviteleri hiçbir şekilde kısıtlanmadı. Çalışmamıza başlamadan önce İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Eğitim Merkezi Etik Kurulundan onay alındı.

Deney Modeli: Her biri 12 adet sıçan içeren dördü grup oluşturuldu. İlk 2 grup iki farklı dönemde karşılaştırma yapabilmek için gerekli olan kontrol gruplarını oluşturdu ve deney boyunca kalsitonin uygulanmadı. Diğer 2 gruba ise farklı sürelerle 20 mg/kg/gün salmon kalsitonin uygulandı. İlacın yan etkisi ve mortalite monitorizasyonu amacıyla hayvanlar her gün gözlemlendi ve vücut ağırlıkları ölçüldü.

Cerrahi Teknik: Anestezi yaklaşık olarak 20 mg intraperitoneal ketamin ve intramusküler 2 mg diazepam uygulanarak sağlandı. Her bir sıçanın sağ tibiaları 5 ila 7 mm kadar rezeke edildi ve bir adet 0,8 mm çapında Kirschner teli ile tespit edildi.

Tüm sıçanlar cerrahi sonrası bir komplikasyon gelişmeden uyandılar. Ameliyat sonrası ve deney süresince her hangi bir komplikasyon gelişmedi.

Grup 1 ve 3 teki sıçanlar 6. haftada, 2 ve 4 deki sıçanlar 10. haftada aşırı doz sodyum pentobarbital verilerek sakrifiye edildi. Her bir gruptaki kırık kallusu radyolojik ve histopatolojik olarak incelendi, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Histopatolojik Değerlendirme:

Kemikler çevre yumuşak dokulardan temizlendikten sonra oluşan kallus dokusuna zarar vermeden ayrıldı. Örnekler daha sonra % 10 tamponlu formalin içinde iki gün fikse edildikten sonra % 5 formik asit ile demineralize edilip yıkandı ve dereceli etanol ile dehidrate edildi. Xylene ile durulandıktan sonra parafin içine gömüldü. Kırık hattı merkezli olarak 6 mikron kalınlığında longitudinal kesitler alındı. Kesitler cam slaytlara yapıştırıldı ve Hematoksilen Eosin boyası ile boyandı. Tüm kallus dokularına Huo ve ark.'nın (12) önerdiği sisteme göre bir numerik puan verildi. Bu sisteme göre yüksek bir puan daha matür kallus dokusunu işaret etmektedir.

Tüm histopatolojik değerlendirmeler HUO kriterlerine göre yapıldı.

1: Fibröz doku; 2: Fibröz doku ve az kırık; 3: Kırık; 4: Kırık ve fibröz doku eşit; 5: Kırık ve az fibröz doku; 6: Kırık ve az immatür kemik; 7: Kırık ve immatür kemik eşit; 8: Esas olarak immatür kemik ve az kırık; 9: İm-

tür kemik ve kırık iyileşmesi; 10: Matür kemik iyileşmesi olarak değerlendirildi.

Radyolojik Değerlendirme

Konvansiyonel radyografi cihazında direkt grafiler çekildi. Çekim için 12 adet sıçan bacağı bağı olduğu grup dahilinde çekim yapılacak zemin üzerine lateral şekilde yerleştirilmek suretiyle her grup için tek büyük kasete çekim yapıldı.

Tüm değerlendirmeler Lane ve Sandhu'nun (13) bildirdiği kriterlere göre yapıldı.

0: İyileşme yok; 1: Kallus formasyonu; 2: Osseöz kaynama başlangıcı; 3: Osteotomi alanının kaybolması; 4: Tam osseöz kaynama

İstatistik Değerlendirme

Tüm veriler Prisma V3 paket programı ile değerlendirildi.

Denek sayısı ve dağılımlar göz önüne alındığında non parametrik testlerle çalışmanın uygun olduğu kanısına varıldı. İkili grup kıyaslamalarında Mann Whitney U testi, grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon testi kullanıldı. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Histopatolojik Bulgular: Altıncı ve onuncu hafta sonunda hem kontrol hem de kalsitonin gruplarındaki sıçanlarda iyileşme lehine olan puan farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,01$), (Tablo 1).

İki grup kıyaslandığında 6. hafta sonunda kalsitonin grubundaki sıçanlarda kırık iyileşmesi yönündeki puan farkı istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p < 0,05$). Onuncu hafta sonunda ise iki grup arasında kırık iyileşmesi yönünde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$), (Tablo 1).

Radyolojik Bulgular: Kalsitonin grubu ve kontrol grubunda yer alan sıçanlarda 6. ve 10. haftalarda kırık iyileşmesi yönündeki değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). İki grup birbiri ile kıyaslandığında ise hem 6. hafta hem de 10. hafta değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilemedi ($p > 0,05$), (Tablo 2).

Tartışma

Kalsitonin osteoporoz tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (9-11). Kemik rezorpsiyonunu inhibe etmek suretiyle etki gösterdiğinden kırık tamiri ve kallusun kalitesi üzerine etkisini öğrenmek önem taşıyabilir.

Peter ve ark. (14) tarafından köpekler üzerinde plasebo

Tablo 1: Tüm sıçanların histopatolojik değerlendirme sonuçları.

	KONTROL GR X±SS	KALSİTONİN GR X±SS	p
6 HAFTA	5,4±1,39	6,42±2,28	<0,05
10 HAFTA	7,5±1,49	8,6±0,62	>0,05
p	<0,01	<0,01	

Tablo 2: Tüm sıçanların radyolojik değerlendirme sonuçları.

	KONTROL GR X±SS	KALSİTONİN GR X±SS	p
6 HAFTA	2,6±1,11	2,21±1,29	>0,05
10 HAFTA	3,5±0,71	3,5±0,79	>0,05
p	<0,05	<0,05	

kontrollü olarak yapılan bir çalışmada osteoporoz tedavisinde kullanılan başka bir grup ilaç olan alendronatın kırık iyileşmesi üzerine etkisi incelenmiştir. Plasebo grubu ile kıyaslandığında radyografik incelemelerde kallus formasyonunun 2-3 kez büyük olduğu bildirilmiş ve bunun kallus dokusunda yeniden şekillenmenin daha yavaş olduğunu gösterdiği sonucuna varılmıştır. Histomorfometrik sonuçlar ise kemik formasyonu ve mineralizasyonunun inhibe olmadığını göstermiştir.

Çalışmamızda hem kontrol hem de kalsitonin gruplarının 6. ve 10. haftada yapılan değerlendirilmelerinde $p < 0,05$ güvenilirlik aralığında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir, bu da kırık iyileşmesini göstermektedir.

Radyolojik değerlendirmeler sonunda kırık iyileşme sürecinde meydana gelecek olan radyolojik düzelmeler her iki grubun kendi içinde anlamlı bir artışa neden olmakla birlikte her iki grubun birbirleriyle karşılaştırılması sonucunda arada biyostatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Erken dönemde daha iyi histopatolojik görünüm kalsitoninin kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermektedir. Literatürde kalsitoninin kırık iyileşmesi üzerine etkisini inceleyen biyomekanik çalışmalara rastlanmasına karşın, histopatoloji çalışmasına rastlanmamıştır. Erken dönemdeki bu iyileşmeyi açıklayan bir mekanizma yoktur, olası bir mekanizma öne sürmek için ise denek sayısı yeterli değildir. Kırık iyileşmesinin daha geç dönemi olarak aldığımız 10. haftadaki değerlendirmelerde hem radyolojik hem de histopatolojik açıdan hiçbir anlamlı fark bulunamamıştır.

Elde edilen bulgular kalsitonin alanlarda internal fiksasyon yapıldıktan sonra erken mobilizasyon ve yük vermeye olanak sağlanabileceğini düşündürmektedir. Erken dönem ambulasyon sağlanması, immobilizasyonun genel olumsuz etkilerinin önlenmesine olanak sağlayabileceği için değer taşıyabilir. Bu çalışma, mevcut olanakların kısıtlı olması nedeniyle bir pilot çalışma olarak yürütülebilmektedir. Daha sağlıklı sonuçlar alınabilmesi için çalışma daha geniş gruplar üzerinde sürdürülmelidir.

Kaynaklar

1. Baker SP. Injuries: the neglected epidemic. J Trauma 1987; 27: 343-8.
2. White AA, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. J Bone Joint Surg Am 1977; 59: 188-92.
3. Simmonds DJ. Fracture healing perspectives. Clin Orthop 1985; 200: 100-13.
4. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. J Bone Joint Surg Br 1978; 60: 150-62.
5. Lane JM. and Wertz JR. The Biology of Fracture Healing. In : Lane JM. ed. Fracture Healing Perspectives. New York: Churchill Livingstone, 1987; 49-60.
6. Hulth A. Current concepts of fracture healing. Clin Orthop 1989; 249: 265-84.
7. Buckwalter JA, Einhorn TA, Bolander ME. Healing of the Musculoskeletal Tissues. In Rockwood CA, Green DP. (eds). Fractures in Adults Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996: 268-92.
8. Menkin AM. Bone Remodelling: Relationship to Amount and Structure of Bone and the Pathogenesis and Prevention of Fractures. In Riggs BL and Melton LJ. ed(s). Osteoporosis, Aetiology, Diagnosis and Management. New York: Raven Press, 1988: 76-87.
9. Overgaard K, Hansen MA, Jensen SB, Christiansen C. Effects of salcatonin given intranasally on bone mass and fracture rates in established osteoporosis: a dose-response study. BMJ 1992; 305: 556-61.
10. Gonnelli S, Cepollaro C, Pandrelli C. Ultrasound parameters in osteoporosis. Osteoporosis Int 1996; 6: 303-7.
11. Civitelli R, Gonnelli S, Zacchei F. Bone turnover in postmenopausal osteoporosis: Effect of calcitonin treatment. J Clin Invest 1988; 82: 1268-74.
12. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, et al. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. J Orthop Res 1991; 9: 383-90.
13. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. Orthop Clin North Am 1987; 18: 213-25.
14. Peter CP, Cook WO, Nunamaker DM, Provost MT, et al: Effect of alendronate on fracture healing and bone remodeling in dogs. J Orthop Res 1996; 14: 74-9.