

# **Porcine Thyrocalcitoninin Calcium ve D Vitamini ile Yapılan Kombinasyonlarının Callus Üzerindeki Etkilerinin Fotodansitometrik Yöntem ile Saptanması**

## **Experimental Bir Çalışma**

Docent Dr. Cengiz OKTAY

### **GİRİŞ**

Kemik kırıklarının iyileşmesi şüphesiz çok sayıda faktörün bir arada faaliyet göstermeleri ile ilişkilidir. Faktörlerin iyileşmeyi hızlandırıcı yönde manüple edilmeleri halinde kemik kırıklarında normal iyileşme zamanından daha kısa bir zamanda iyileşme gerçekleştirilebilir. Nitekim, anabolizan ve C vitamini kombinasyonunun özellikle primer callus teşekkülünde pozitif bir tesiri olduğunu daha önceki araştırmalarımızda saptamış idik (1).

Kalsiyum metabolizmasını regüle eden hormonlardan biri olan thyrocalcitonin'in özellikle callus kalsifikasyonunda ve kollagen biosentezi üzerinde etkili olabileceğini sanmaktayız. Thyrocalcitonin'in günümüzde osteoporöz semptomu gösteren rahatsızlıklarda, paçet hastalığında başarı ile tatbik edildiğini bilmekteyiz (2, 3, 4). Thyrocalcitonin'in özellikle iyileşmekte olan kemik dokularında mey-

---

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyesi

dana getireceği kalsifikasyonu tetkik etmek hakikaten ilginç görünmektedir. Bu yönde müşterek olarak plânladığımız bir çalışmada autotransplante edilen kemik greflerinde C. T.'nin ana kemik kütlesine olan kaynaşmayı pozitif yönde etkilediği Aras (5) tarafından histolojik olarak saptanmıştır.

Thyrocalcitonin'in yalnızca iyileşmekte olan kemik dokularında kalsifikasyon açısından değil, aynı zamanda iyileşme sahasındaki kollagen biosentezi üzerinde de pozitif bir etkisi bulunmaktadır (5).

Araştırmamızda kemik kırıklarında primer callus devresinde teşekkül eden organik matriksin verilen bazı preparatlar ile kalsifikasyonunun hızlandırılıp hızlandırılmıyacağını tetkik etmek gayesiyle kalsiyum metabolizmasını regüle eden thyrocalcitonin hormonunu tek olarak kalsiyum ile kombine ederek veya kalsiyum ve D vitamini ile birlikte tatbik ederek bu hormonun primer callus devresinde organik matriks kalsifikasyonu açısından ne derecede etkin olduğunu röntgenolojik ve fotodansitometrik yöntemler ile saptamaya çalıştık.

## GENEL BİLGİLER

Kemik dokusunun devamlı bir dinamizm gösterdiği, yani rezorbtif ve formatif hâdiselerin bir arada yürüdüğü bilinen bir husustur. Bu husus isotope çalışmalarında özellikle mineral dinamizmi açısından belirgin olarak ortaya konmuştur (6). Bahsettiğimiz bu dinamik denge muhtelif regülasyon mekanizmaları ile canlının lehine olacak biçimde yürütülmektedir. Bu regülasyon sistemi şüphesiz muhtelif komponentleri ihtiva eder. Bu komponentler arasında özellikle üzerinde durulması gerekenler kemik organik matriks yapımını ilgilendiren komponentler ile matriks kalsifikasyonunu sağlayan komponentlerdir. Araştırmamız açısından gözönünde bulundurulması gereken en önemli komponentler paratiroid-thyrocalcitonin gibi antogonit olarak çalışan hormonlar ile, plazma kalsiyum ve fosfat seviyeleri ve bunlara bağlı olarak oluşan renal reabzorbisyon mekanizmasıdır.

Vücut homeostazi açısından plazma kalsiyum ve fosfatlarının belli limitler arasında bulunması ve bunlara ait konsantrasyonlar çarpımının sabit bir değerde bulunması gereksiliği vardır. Normalde insanda total kan kalsiyum seviyesi % 9-11 mgm, fosfat seviyesi ise % 5 mgm'dir. Parathormonu esas fonksiyon olarak fosfatların böbreklerden reabzorbisyonunu regüle ederek bahsettiğimiz bu sabit değerin fizyolojik limitler içerisinde kalmasını temin eder.

Parathormona antagonist olarak faaliyet gösteren thyrocalcitonin ile ilgili olarak farelerde paratiroid bezinin cerrahi eksizyon metodu yerine koterleme yolu ile çıkarılması halinde, serum kalsiyum seviyesinin düşmesi, bu konuda çalışan araştırmacıları hipokalsemi yaratan bir faktörün aranmasına yöneltmiştir (7, 8). Bu çalışmalar 1963 yılında başarı ile tamamlanmış ve hipokalsemi meydana getiren substansın tiroid bezindeki parafolüküler ultimobranşial menşeli C tipi hücrelerde yapıldığı saptanmıştır. Bu hücreler tiroid bezi içinde bulduklarından ve salgıları serum kalsiyum seviyesini etkilediğinden, bu substansa thyrocalcitonin ismi verilmiştir (9).

Thyrocalcitonin ve paratiroid hormonu plazma kalsiyumu üzerinde antagonist tesire sahiptirler. Thyrocalcitonin, parathormon, hipofiz önlob hormonlarının, böbrek ve gastrointestinal traktustan bağımsız olarak fonksiyon gördüğü ve bu fonksiyonun da indirekt olarak kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği şeklinde araştırma neticeleri bulunmaktadır (10, 11).

Giraund V. Foster ve arkadaşları (11) paratiroidektomi yapılmış hayvanlara verdikleri thyrocalcitonini'nin metafiziyel kemik mineralizasyonunu artırdığını ve bu sahada osteoklast sayısında dikkate değer bir azalma meydana getirdiğini röntgenolojik ve histolojik yöntemler ile saptamışlardır. Aynı çalışmada tam olarak mineralize olmuş metafizlerde bir artma olması kısmi olarak mineralize olmuş veya hiç mineralize olmamış osteoid'deki artma ile izah olunmaktadır. Bu hormonun kemik yapımını artırdığı ve mineralize olmamış kolagen yıkımında bir inhibisyon meydana getirdiği yolunda görüşler de mevcuttur.

Nitekim, in vitro kemik kültüründe thyrocalcitonin ile yapılan çalışmalarda hormonun osteoblast sayısında dikkate değer artmalar meydana getirdiği Gaillard (12) tarafından gösterilmiştir. Gaillard'ın bu bulgusu Foster ve arkadaşlarının düşüncelerini kanıtlar niteliktedir. Parathyroidektomi yapılmamış hayvanlarda yüksek dozda ve uzun süre thyrocalcitonin verilmesi halinde parathormonun kompensasyon kapasitesinin üzerine erişileceğinden kemiklerde Gaillard'ın bulgularına benzer bulgulara rastlanılabileceği Foster (11) ve arkadaşlarınca ifade edilmektedir.

Calcitoninin plazma kalsiyum seviyesi normal veya normalin üstünde olduğu vakalarda tatbik edilmesi halinde, plazma kalsiyum seviyesinin normalin üstündeki vakalarda, normale nazaran daha çok etkilendiği Milhaud ve arkadaşları (13), Bell ve arkadaşları (14), Milhaud ve Job (15) gibi araştırmacılarca gösterilmiş bir husustur.



Tenenhouse, Arnaud ve Rasmussen porcine thyrocalcitonini ilk kez izole eden araştırıcılardır. Bir polypeptid olan ve domuzlardan elde edilen hormonun yaklaşık olarak moleköl ağırlığı 5000 mol. gm olarak hesaplanmıştır. Günümüz araştırıcıları yukarda da belirtildiği gibi thyrocalcitonin'in kemik rezorbsiyonunu inhibe ettiğini ve kemik teşekkölü üzerinde de etkin olduğunu kabul etmektedirler (16).

Thyrocalcitoninin osteoklastik aktivitede meydana getirdiği inhibisyonun yanı sıra osteocytic osteolysiside inhibe ettiği ifade olunmaktadır (17).

Her ne kadar thyrocalcitonin kemik seviyesinde parathormon aktivitesine antagonizma gösterirse de, G. İ. traktusta ve böbreklerdeki reabzorbsiyon mekanizması üzerinde parathormonun gösterdiği etkiyi engellemez. Araştırıcılar arasında birleşilen hususlardan bir diğer de thyrocalcitoninin kalsiyum, magnezyum ve hidroxyproline'nin idrar ile atılmasını azaltması hususudur. Ancak, fosfor eliminasyonunda C. T.'nin etkinliği üzerinde múnakařalı bir durum söz konusudur. Rasmussen (17) ve Robinson (13), thyrocalcitoninin tatbiki sırasında geçici bir fosfatüri görüldüğünü ifade etmektedirler. Buna karşın Pechet (19) thyrocalcitonini tatbikinde böbreklerden fosfat eliminasyonun azaldığını belirtmektedir. Bu çelişkili bulgular muhtemelen experimental şartların farklı olmasından doğmuş olabilir. Ancak şurası da bir gerçektir ki, kemik rezorbsiyonunun C. T. tatbiki halinde inhibe olması kalsiyum, inorganik fosfor ve hidroksiprolinin bir noktada vücutta tutulmasını gerektirir.

D vitamininin kemik rezorbsiyonunu stimüle ettiği bilinen bir husustur. Bu rezorbsiyon hadisesinde hem mineral yapının, hem de kollagen yapının yıkılımı söz konusudur. D vitamininin bu rezorbif proçesi gerçekleştirebilmesi için az miktarda da olsa parathormona ihtiyaç vardır. Thyrocalcitonin D vitamini hipervitaminozu ile ortaya çıkan kemik rezorbsiyonu vakaları ile, E. G. T. A. ve A vitamini hipervitaminozunda bu rezorbif proçesleri önleyebilecek potansiyele sahiptir (20).

İnorganik fosforun kemik mineralizasyonunu ve muhtemelen kemik formasyonunu artırdığı Pechet (19) ve Rasmussen (17) tarafından ifade edilmektedir. Günümüzde osteoporöz tedavisinde thyrocalcitoninin inorganik fosfatlar ile kombine edilerek osteoporöz tedavisinde bir tedavi alternatifi olabileceği bu iki araştırıcı tarafından belirtilmektedir.

Raisz ve arkadaşları (21) az miktarda parathormonun thyrocal-

citonin ile yan yana bulunduğu ve uzun süre thyrocalcitoninleme yapılan kemik dokusu kültürlerinde T. C. T.'nin bir zaman sonra aktivitesini yitirdiğini ve P. T. H.'nin doku kültürüne hakim olarak rezorbsiyon hadisesini başlattığını göstermişlerdir. Bu durum thyrocalcitoninin aralıklı olarak salgılanmasının ve hiperkalsemik durumlarda kan kalsiyum seviyesini normale indirgemesinin bir ifadesidir.

Experimental çalışmalarda yaşlı hayvanlara tatbik olunan T.C.T. nin gençlerdekine nazaran kemik rezorbsiyonunu inhibe etme açısından daha az tesirli olduğu gerçeği Rassmussen ve Tenenhouse (17)'un çalışmalarında gösterilmiştir.

Sorensen (22) calcitoninin parathormon tarafından meydana getirilen hipercalcemic durumu tamamen kontrol altına alabildiğini ancak bu durumun reversible olduğunu belirtmektedir. Parathormonun calcitonin ile aynı anda tatbikinden bir saat sonra yapılan serum kalsiyum seviyesi tayininde tiroid ve paratiroidleri sağlam farelerde parathormonun calcitoninin hipocalcemic etkisini inhibe etmediği görülmüştür. Ancak, tiroid bezi çıkarılmış farelerde tatbik olunan parathormonun enjeksiyonu takiben 42 saat süre ile hayvanda hipercalcemie hali meydana getirdiği gözlenmiştir. Tiroid bezi çıkarılmış farelere dışardan verilen paratiroid ile [(Para-Thor. Mone (Lilly))] serum kalsiyum seviyesinin 5.5 m.Eq/lt seviyesinde tutulması muhtemelen yüksek seviyedeki calcitonin sekresyonu ile ilgilidir. Sağlam farelere intraperitoneal olarak kalsiyum yüklemesi yapılması halinde önce geçici bir hipercalcemie, daha sonra bir hipocalcemie görülmesi calcitoninin kalsiyum seviyesinin yükselmesine bağlı hiperfonksiyonu ile izah olunabilir (22).

İnsandaki plazma calcitonin seviyesi ile ilgili bir araştırmada (23) aç olarak 5 vakadan alınan kanlarda calcitonin seviyesinin litrede 170-331 m. M. R. C. (Medical Research Council) olduğu tok karnına alınan kanlarda ise seviyenin 256-492 m.M.R.C. arasında değiştiği saptanmıştır. Ayrıca total thyroidectomy yapılmış 3 vakada calcitonin seviyesinin normal şahısların seviyesinde bulunması, calcitoninin insanda sadece tiroiddeki parafolüküler C tipi hücrelerce salgılandığını, vücudun başka sahalarında da calcitonin salgılandığını düşündürmektedir. Nitekim, Zağyapan (24) kobaylarda yaptığı araştırmada parafolüküler C tipi hücreleri thymusda ve boyun bağ dokusunda tesbit etmiştir.

Thyrocalcitoninin serumdaki bağlı kalsiyuma değil, iyonize kalsiyuma spesifik olarak etkin olduğu kalsiyuma spesifik elektrodlar yardımı ile tesbit olunmuştur (25).



Değişik etiolojide hipercalcemie gösteren vakalarda porcine calcitoninin i. M. tatbiki halinde yükselen kalsiyum seviyesinin 20-24 saat süre ile normale indirildiği, ancak bu sürenin bitiminde tekrar yükselmeye başladığı ve maksimum hypocalcemic etkinin hormon tatbikinden 6-9 saat sonra ulaşıldığı Kammerman (26) ve arkadaşlarınınca tesbit olunmuştur. Kammerman ve arkadaşlarının paralelinde yapılan araştırmalarda da hemen hemen aynı neticeler elde edilmiştir (27).

D<sub>3</sub> vitamininin tatbiki halinde tiroid parafolüküler hücrelerinde ne gibi değişiklikler meydana gelebileceği hususu üzerinde de durulmuştur. Bu yönde Frankel ve Yasumura (28)'nin yaptığı araştırmada 10 U.S.P. ünite D<sub>3</sub> vitamini tatbik olunan erkek Holzman farelerinde enjeksiyonu takiben 4-6 gün sonra kalsiyum seviyesinin % 13.1 mg'a yükseldiği, bu yüksek kalsiyum seviyesine ulaşıldığında tiroiddeki calcitonin muhtevasının % 59'a indiği gözlenmiştir. D<sub>3</sub> vitamini tatbiki ile kemiklerde meydana gelen rezorbsiyon üriner Sr<sup>85</sup> ile tibial Sr<sup>85</sup> oranı üzerinden saptanmış ve bu oranın hipercalceminin maksimumuna eriştiği durumlarda 10 kat arttığı tesbit edilmiştir. Thyroparathyroidektomi yapılmış hayvanlara D<sub>3</sub> vitamini tatbiki halinde plazma kalsiyum seviyesi ve üriner, tibial Sr<sup>85</sup> oranının da arttığı ve hipercalemic durumun tiroid ve paratiroidleri çıkarılmamış hayvanlara nazaran daha uzun süre devam ettiği görülmüştür. Bu araştırma neticeleri endojen thyrocalcitoninin D<sub>3</sub> vitaminine bağlı kemik rezorbsiyonunu hafifletici bir yönde etki etmesinin ifadesidir. D<sub>3</sub> vitamininin 2 gün aralıklar ile daha uzun süre tatbiki halinde tiroiddeki calcitonin seviyesinin daha da düştüğü ve normal seviye % 100 kabul olunursa D<sub>3</sub> hipervitaminozunda bu seviyenin % 16'ya kadar alçaldığı Frankel ve Yasumura tarafından saptanmıştır (28).

D vitamini, calcitonin (C.T.) ve parathormon (P.T.H.) arasındaki ilişkiler Rassmussen ve Feinblatt (29) tarafından araştırılmıştır. Bu araştırmacıların bulgularına göre thyroparathyroidektomiyi takibeden 3 saatlik sürede hidroksiprolin seviyesinde bir artma görülmesi bu seviyenin yine thyroparathyroidektomy yapılmış, ancak D vitamini eksikliği göstermeyen farelerde normal limitlere yakın olarak bulunması ilginç bir durumdur. Yüksek seviyede kalsiyum infüzyonu yapılması halinde hidroksiprolin itrahında dikkate değer bir azalma olduğu; P.T.H. veya C.T. tatbikinde ise idrar ile atılan hidroksiprolinin D vitamini eksikliği gösteren farelerde daha arttığı tesbit olunmuştur. Buna karşın D vitamini açısından normal olan farelerde P.T.H. tatbikinde hidroksiprolin itrahının artması, halbuki, C.T. tatbiki ile bu miktarın dikkate değer ölçüde azması, calcitonin ve D vitamini

arasındaki ilişkinin hidroksiprolin metabolizması açısından önemini ortaya koymaktadır. D vitamini eksikliği gösteren farelerde gerek P.T.H., gerekse C.T. idrar ile atılan kalsiyum seviyesinde bir azalma meydana getirmekte ve kalsiyum dengesi bu şekilde pozitif olarak etkilenmektedir. Halbuki, D vitamini seviyesi normal olan farelerde P.T.H. kalsiyumun idrar ile atılmasını artırmakta ve hayvanda negatif bir kalsiyum dengesi oluşmaktadır. C.T. verilen farelerde ise kalsiyum dengesinin pozitif yönde oluşması bu hormonun kalsiyum dengesinin pozitif yönde oluşması bu hormonun kalsiyum dengesini D vitamini eksikliği olsun veya olmasın pozitif yönde etkilemesinin bir kanıtıdır (29).

Kalsiyum yüklemesi yapılması halinde hücrenel veya doku seviyesinde ne gibi değişikliklerin oluştuğunun göz önüne alınmasının, araştırmamız açısından olumlu olduğuna inanmaktayız. Bu konuda Urist ve arkadaşlarının (30) yaptıkları çalışmalarda normal plazma seviyesinden 1 m.mol/l'te fazla kalsiyumun plazmada bulunması halinde kalsiyumun fosfatlar ile birleşmeden kıkırdak, deri, kıl folikülü, v.s. üzerinde biriktiği tesbit olunmuştur. Aynı araştırmacılar kalsiyum iyonu influx'ının ekstraselüler sahaya geçmesini veya intraselüler kalsiyum barajı olduğuna inanmaktadırlar. Ayrıca patolojik kalsifikasyon gösteren vakalarda ekstraselüler olarak kalsiyum ve  $HPO_4$  bağlama kapasitesi, hücre membranlarının kapasitelerinin artması ile pozitif bir korrelasyon gösterir. Spekülâtif olmakla beraber bazı araştırmacılar thyrocalcitoninin, kalsiyum barajı ve kemik dokusu hücrelerinin membran kapasitelerinin artması ile, yakın bir ilişkisi bulunduğuna inanmaktadır (30).

Araştırmamızı yakından ilgilendirdiğinden kırık iyileşmesi ile ilgili bazı genel bilgilerin burada bir kez daha gözden geçirilmesini faydalı bulmaktayız. Kemik kırığı meydana geldiğinde, Havers kanal sistemi, periost damarları ve ilik kavitesi devamlılıklarını yitirirler. Kırık sahasında damarların yırtılmasına bağlı olarak sahaya kan dolar. Ancak kan dolaşımı bozulmuştur. Bu dolaşım bozukluğu sahaya komşu zedellenmemiş anastomoz sahalarına kadar devam eder. Bu nedenle beslenemiyen kemik sahalarındaki kemiğin canlılığını kaybetmesi görülür. Kırık iyileşmesinden kırık parçaları etrafında teşekkül eden hematoma önce granülasyon dokusuna, daha sonra da kemik dokusuna dönüşme için lüzumlu olduğuna dair görüşler günümüzde pek doğru kabul olunmamaktadır. Bu konudaki bir görüşe göre hematoma sadece pasif bir fonksiyon taşır ve yeni teşekkül eden callus, granülasyon dokusunun dışında oluşur. Kemik yapı-



ını sağlayan hücrelerin sahayı kaplamasında hematom varlığına ihtiyaç yoktur; ancak, hematomda meydana gelebilen nekrozlarda iyileşme hadisesinde bir gecikme görülebilir (31).

**Callus Teşekkülü :** Callus kırık uçlarını birbirleri ile birleştiren ve değişik miktarlarda fibröz doku, kıkırdak doku ve kemik dokusunu taşıyan bir oluşumdur. External callus kırık hattı dışında teşekkül eden ve kırık parçalarını bir yaka gibi saran callus şeklindedir. İnternal callus ise kemik iliğinden menşee alan bir dokudur. Periost callus teşekkülünde ve kırığın nihai iyileşmesinde rolü olan bir dokudur. Bu nedenle muhafazası iyileşme açısından çok önemlidir. Fraktür meydana gelmesini müteakip periostun dış kısmında bulunan fibröz tabaka kemik yüzünden uzaklaşır. Bu uzaklaşma periost içindeki hücrelerin osteogenik proliferatif faaliyetlerinin tabii bir neticesidir. Bu proliferatif osteoblastik bir faaliyettir. İşte bu periostal osteogenic faaliyete bağlı olarak kırık hattından daha uzaklarda başlayan bir callus yakası oluşur. Teşekkül etmekte olan bu tamir kemiği genellikle muntazam olmayan bir trabekülasyondadır ve trabekülasyonu kemik yüzüne dik gelen bir konumlama gösterir. Kırık hattından uzakta meydana gelen proliferatif faaliyetlerin tamamı osteoblastik tipte değildir. Bir kısım hücrelerin kondroblastlara dönüştüğü ve osteoblastik faaliyetin yanı sıra kondroblastik faaliyetin de bulunması karakteristiktir. Özet olarak ifade edersek periostal proliferasyon kırıklarda hem osteoblastik, hem de kondroblastik tiplerde olabilir. Kondroblastik proliferasyon görülmesinde muhtelif faktörler rol oynayabilir. Bunlar önemlilik sıralarına göre :

1. Vasküler Beslenme : Vaskülarizasyonun iyi olduğu sahalarda kemikleşme, kötü olduğu sahalarda da kıkırdak teşekkülü görülür. İyileşmenin çabukluğu ile kıkırdak teşekkülü arasında pozitif bir korrelasyon söz konusudur. Yavaş olan iyileşmelerde kıkırdak teşekkülü minimaldir.

2. Fragman parçalarının mobilitesi ile kıkırdak teşekkülü arasında yakın bir ilişki vardır. Fazla mobilite gösteren vakalarda kondroblastik proliferasyon da çok fazla demektir. Tamamen immobilize edilmiş fragmanlarda Kondral proliferasyonda hücrelerin matürasyonu kani kondroblastların kondrositlere dönüşmesini takiben endochondral kemikleşmede olduğu gibi bir kalsifikasyon görülmeye başlar. Kemik uçlarında teşekkül eden bu yeni kemik ile fragmanlar tedricen kaynaşır ve kemiğin devamlılığı bu şekilde temin edilmiş olur.



## Callusun Yeniden Şekillendirilmesi :

Fragmanları bir araya getiren internal ve external callusun tekrar şekillendirilmesi fonksiyon açısından lüzumludur. Bu şekillendirme süreci sırasında ölen kemik kısımlarının rezorbe edilmesi ve kemiğin fonksiyon göreceği şekilde trabekülasyonu gerçekleştirilir.

Kırık iyileşmesinde hiç şüphesiz muhtelif komplikasyonlar ile karşılaşılabilir. Bu komplikasyonlar :

1. Kemik fragmanlarının kaynaşmaması şeklinde görülebilir. Bu durum endoosteal kemik teşekkülü kâfi değilse ortaya çıkabilir. Genellikle osteogenic potansiyeli zayıf olan şahıslarda, özellikle yaşlılarda bu komplikasyon sıklıkla görülebilir.

2. Fragmanların fibröz doku ile kaynaşması: Bu durum fragmanların iyi bir şekilde immobilize edilemediği durumlarda görülür. Ossifikasyon bu tip vakalarda hemen hiç olmaz. Bu tip vakalarda pseudoarthrosis dediğimiz durumun görülmesi nadir değildir.

3. Kalsifikasyon Eksikliği : Bu durum mineral dengesinin bozuk olduğu vakalar ile beslenme eksikliği görülen vakalarda görülebilir. Ayrıca, normalin çok üstünde mineral verilmesi halinde de mineralizasyonda herhangi bir artma görülmemesi experimental olarak saptanmış bir husustur (32).

Araştırmamızda tatbik edilen preparatlara göre fibula kemiklerinde radiolojik dansite tayini yaptığımızdan günümüzde kullanılan radiodansitometrik metodların burada bir kez daha gözden geçirilmesinin yararlı olacağı kanaatindeyiz. Bu metodlar mineral eşdeğeri bilinen bir materyalden yapılmış basamak-kama sistemi esasına dayalıdır. Dansite kontrolü yapılmak istenen kemik ile basamaklı-kamanın aynı anda filme intikal ettirilmeleri ve X-ray'deki görünümünün mukayesesi metodun esasını teşkil etmektedir. Bu maksatla alüminyum ve alüminyum bileşimi maddelerden yapılmış basamak kamalar kullanılabilir gibi, fildişi ve hayvan kemiklerinden yapılmış basamak kamalar ile polimerize hidroxyapatit'den yapılmış basamak kama sistemleri de kullanılabilir (33, 34, 35).

Basamak kama metodundan başka kemik biopsisi yapılarak iliac erista'dan alınan parçanın mikroradiografisi, radiomorfometrik metodlar ve monokromatik gama ışınları ile yapılan kemik dansitesi tayinleri günümüzde sık kullanılan metodlar olarak tanımlanmaktadır. 1970'de Krokowski (36) tarafından geliştirilen radiodansitometrik metodda değişik enerjide iki değişik X ışını kaynağı kullanılmaktadır.

Sübütay (37) röntgen filmlerinin dansite farklılıklarının elektroforez tayininde kullanılan ve beyaz ışık geçirgenliğine hassas Photovolt cihazı ile değerlendirilebileceğini ifade etmektedir.

Bu solüsyonun

0.4 m.lt'si 3.2 M.R.C./Kg calcitonin;

0.2 m.lt'si 1.6 MR.C./Kg calcitonin;

0.1 m.lt'si 0.8 M.R.C./Kg calcitonin ihtiva eder (Stok 2).

Stok 1'in Hazırlanması :

Stok 2'nin 750 cc % 1 N.Hcl'de çözündürülen kısmından 150 cc alınıp, bu miktar 3 kısım % 1 N.Hcl ve 1 kısım % 1'lik jelatin ile tamponlandı (150x3+150x1=600 cc). Bu solüsyonun (Stok 1) 0.2 m.lt'si 0.4 M.R.C./Kg calcitonin, 0.1 m.lt'si 0.2 M.R.C./Kg calcitonin ihtiva etmektedir

Hazırlanan stok solüsyonlar 50 cc'lik küçük plastik kaplarda dondurularak hormon tatbik edilecek günlerde oda hararetinde çözündürüldüler.

Calcium Gluconat'ın Hazırlanması ve Tatbiki :

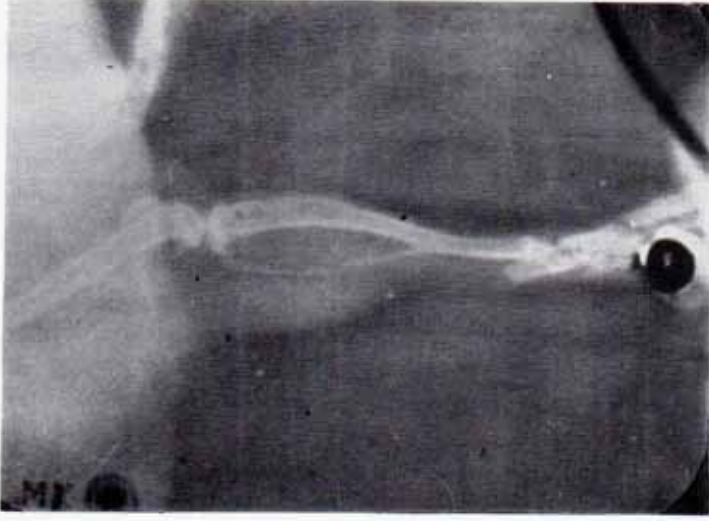
Hayvanlarda thyrocalcitonin ile beraber calcium gluconat'ın da tatbiki yapılmıştır. Bu maksatla 10 cc'lik % 10'luk calcium gluconat 90 cc serum fizyolojikte çözündürülerek calcium gluconat stoku hazırlandı. Araştırmaya alınan hayvan gruplarından II, III, V. ve VI. gruplardaki her hayvana bu stok solüsyondan 0.1 cc İ. V. olarak verildi. Bu şekilde hayvanların kan kalsiyum seviyeleri ortalama % 10.5 mg olarak kabul edilirse her enjeksiyonda gruplardaki hayvanlarda kan kalsiyum seviyesi % 14.257 gibi hipercalce mic bir seviyeye ulaştırıldı.

D vitamini tatbiki için asitsiz zeytinyağında çözündürülen D<sub>3</sub> vitamini III., IV. gruplardaki hayvanlara İ.M. olarak 60 İ.Ü. olarak verildi.

Araştırmada kullanılan farelerin sağ ayak fibulaları orta yerlerinden ince bir cerrahi makas ile kırıldı ve kırıklar röntgen ile kontrol edildi.

İntra venöz enjeksiyonlarda, farelerin bir ampul ile ısıtılan kutuda 10 dakika süre ile tutularak kuyruk ve venalarının dilate olmaları beklendi. 0.1 cc taksimatlı 1 cc'lik enjektörler ile hayvanlara kuy-





Kırılan fare fibulasının kırığı hemen takiben çekilen röntgeni.

ruk venalarından girilerek Tablo No: 1'de gösterilen miktarlarda ve sayıda calcitonin ve calcium gluconat verildi. Kontrol grubu hayvanlarda da kırık meydana getirildikten sonra % 1'lik jelatin ile tamponlanmış % 1. N.HCl'den her enjeksiyon periodunda 0.5 cc İ. V. olarak tatbik olundu. Bu şekilde calcitonin tatbikinde hazırlanan solüsyonların callus teşekkülüne etkin bir faktör olup olmayacağı hususuna yer verildi.

D<sub>3</sub> vitamini de Tablo No: 1'de gösterildiği şekilde hayvanlara uygulandı (bkz. safiye 14).

Araştırma periodları sonunda eter ile öldürülen farelerin sağ ayak fibulaları çıkarılarak kemikler röntgen tetkikinden önce % 70'lik alkolde fikse edildiler. Fiksasyonu takiben kemiklerin radyodansitometrik olarak değerlendirilebilmeleri için autoradyografileri alındı. Röntgen çekiminde kullanılan radyolojik faktörler aşağıdaki şekilde sabit tutuldu.

1. K.V.P. / 65 K.V.P.
2. Miliamperaj / 10 m.amp.
3. Şalama zamanı / 0.25 sn,
4. Film tüb mesafesi / standart uzun kon uzunluğu,

**CALCITONIN, CALCITONIN VE CALCIUM GLUCONAT,  
CALCITONIN CALCIUM GLUCONAT (D) VİTAMİNİ TATBİK EDİLEN  
GRUBLAR, DOZLAR VE TATBİK ŞEKİLLERİ  
21 GÜNLÜK GRUBLAR\***

**TABLO NO : 1**

Alt Grub No.	I. GRUB			II. GRUB			D <sub>3</sub> Vitamini I. M.
	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	- Grubdaki Hayvan Sayısı	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	i. V. % 1'lik Grubdaki Hayvan Sayısı	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	i. V. % 1'lik Grubdaki Hayvan Sayısı	
1	0.2	5	0.2	0.1 cc	5	0.2	5
2	0.4	5	0.4	0.1 cc	5	0.4	5
3	0.8	5	0.8	0.1 cc	5	0.8	5
4	1.6	5	1.6	0.1 cc	5	1.6	5
5	3.2	5	3.2	0.1 cc	5	3.2	5

KONTROL GRUBU : 6 Hayvan enjeksiyon priorlarında % 1'lik elatin ile tamponlanmış % 1 N.Hcl'den 0.5 cc verilmiştir.

**42 GÜNLÜK GRUBLAR\*\***

Alt Grub No.	IV. GRUB			V. GRUB			VI. GRUB			D <sub>3</sub> Vitamini I. M.
	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	- Grubdaki Hayvan Sayısı	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	i. V. % 1'lik Grubdaki Hayvan Sayısı	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	i. V. % 1'lik Grubdaki Hayvan Sayısı	i. V. Calci tonin M. R. C. / Kg	i. V. % 1'lik Grubdaki Hayvan Sayısı		
1	0.2	5	0.2	0.1 cc	5	0.2	0.1 cc	5	5	
2	0.4	5	0.4	0.1 cc	5	0.4	0.1 cc	5	5	
3	0.8	5	0.8	0.1 cc	5	0.8	0.1 cc	5	5	
4	1.6	5	1.6	0.1 cc	5	1.6	0.1 cc	5	5	
5	3.2	5	3.2	0.1 cc	5	3.2	0.1 cc	5	5	

KONTROL GRUBU : 5 Hayvan % 1'lik elatin ile tamponlanmış % 1 N.Hcl'den 0.5 cc i. V. verilmiştir.  
\* Toplam 4 enjeksiyon, \*\* Toplam 7 enjeksiyon



##### 5. Film tipi (Dupont E tipi film).

Procomat ile developpe edilen filmler kurutulduktan sonra agrandize edildiler ve elde olunan negatifler dansite tayininde kullanıldılar. Bu tayinde Densicord-552 cihazından istifade olundu. Her filmde aletin sıfırlaması yapılarak filmler dansite tayini için referans kemiği ve araştırma grublarındaki callus sahalarının transvers taranması şeklinde değerlendirildiler. Elde olunan dansite eğrileri kemiklerdeki dansite farklılığını filmin zemin tonuna göre vermektedirler. Kontrol grubu hayvanlarda callus sahası film zemin tonunda olduğundan Densicord ile yapılan dansite ölçümlerinde bu saha sıfır dansiteye göre değerlendirildiler. Ölçümlerin standardize edilebilmesi ve filmin fon tonundan doğabilecek farklılıkların önlenmesi için eğriler photo-volt kayıt kâğıdı üzerinde o yerine 40 sıfır alınarak değerlendirildiler. Dansite farkını gösteren eğrilerin alanları hata oranını küçültmek gayesiyle 10 misli büyütülerek değerlendirilmeleri yapıldı. Elde olunan değerlerin mukayeseleri istatistiki olarak saptandı. Bu maksatla gruplar arasında bir farklılık bulunup bulunmadığını gösterebilmek gayesiyle gruplara varyans analizi tatbik edildi.

## BULGULAR

Araştırmaya alınan hayvanlardan bazıları özellikle intra-venöz olarak tatbik olunan enjeksiyonlarda oluşan hava embolileri nedeniyle eks oldular. Bu nedenle araştırmamızı başladığımız hayvan sayısı ile tamamlayamadık. Ayrıca, hayvanlardan bazılarını da gruplar arasında bazı karışıklıklar olması nedeniyle araştırma dışında tuttuk. Aşağıdaki röntgen resimlerinde 21 günlük ve 42 günlük araştırma gruplarındaki farelerin fibula kemikleri ile referans olarak aldığımız sağlam fare fibulası ve kontrol grubu hayvanların fibulaları ile film negatiflerinden elde olunan dânsite eğrileri görülmektedir.



Kontrol Grubu I.

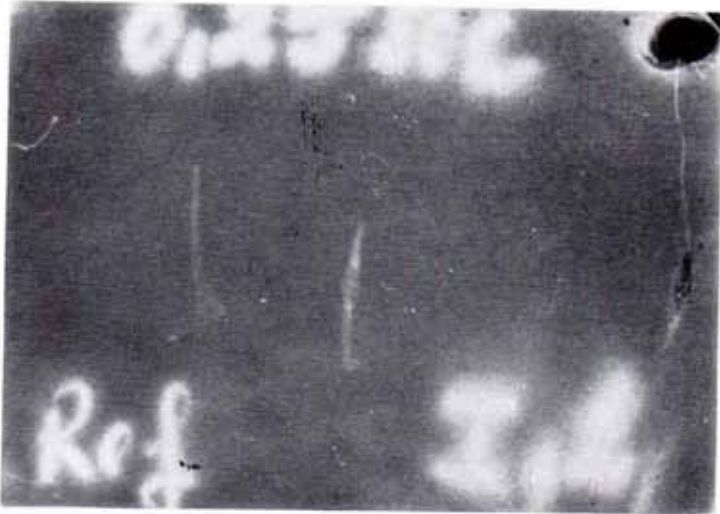
21 günlük kontrol grubu farelerden birinin fibula röntgeni. Bu gruptaki farelere 4 kez % 1'lik jelatin ile tamponlanmış % 1. N.Hcl'den 0.5 cc tatbik olunmuştur. Callusun herhangi bir şekilde kalsifiye olmadığı belirgindir.





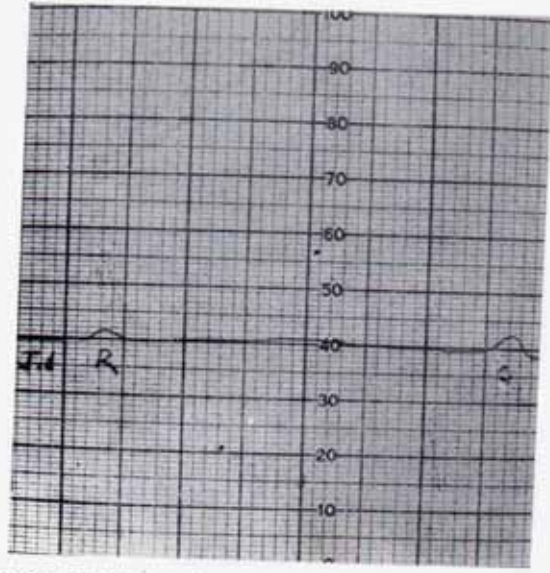
Kontrol Grubu II.

42 günlük kontrol grubu farelerden birinin fibula röntgeni. Bu röntgendeki farelere 7 kez % 1'lik jelatin ile tamponlanmış % 1.N. Hcl'den 0.5 cc tatbik olunmuştur. Callus kalsifikasyonunun oluşmadığı bariz olarak görülmektedir.

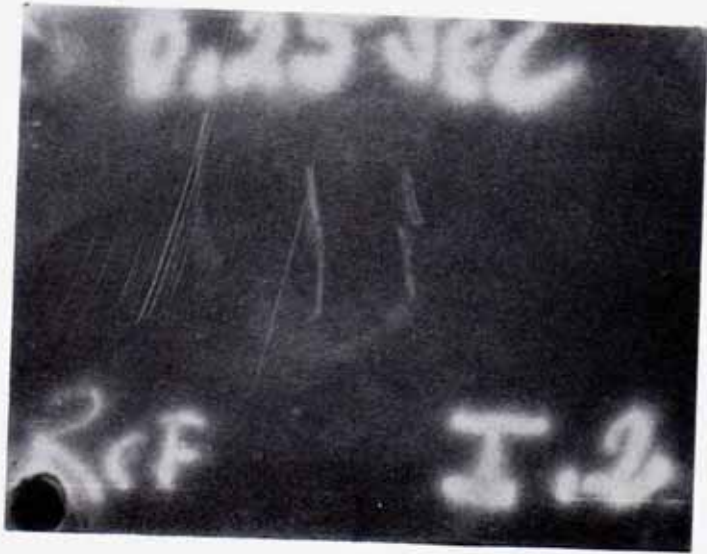


Grub I. I.

21 günlük sürede 4 kez 0.2 M.R.C./Kg T.C.T. verilen farelerden birinin fibulası, kırık sahası ve referans kemiğin röntgen görünümü. Tecrübe hayvanının callus sahası komşu kemik sahalarındaki kalsifikasyon odakları karakteristiktir. Callus sahası iyi bir şekilde teşekkül etmiştir.



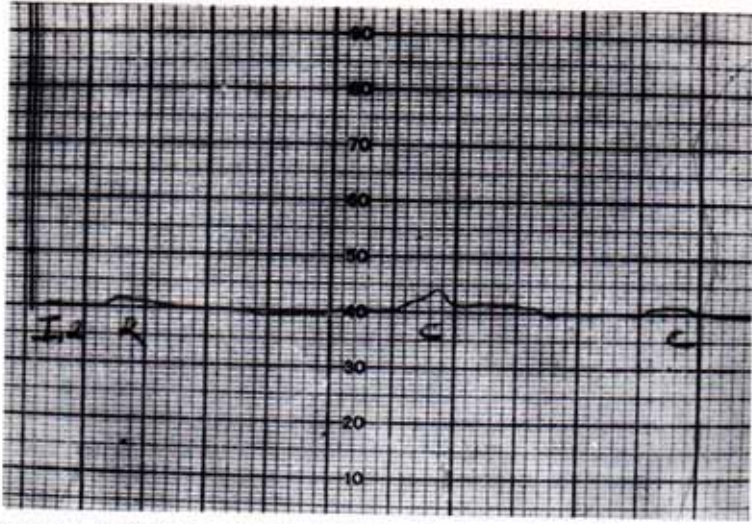
Grub I. I.'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.



GrubI.2;

21 günlük sürede 4 kez 0.4 M.R.C./Kg T.C.T. verilen farelerin fibulaları ve referans kemiğin röntgen görünümü. Özellikle ortadaki tecrübe hayvanının fibulasında teşekkül eden callus, gerek organik stroma açısından, gerekse bu stromanın kalsifikasyonu açısından müsbet bir iyileşme göstermektedir. Sağ baştaki fibula röntgen çekimi sırasında callus sahasında tekrar kırılmıştır.



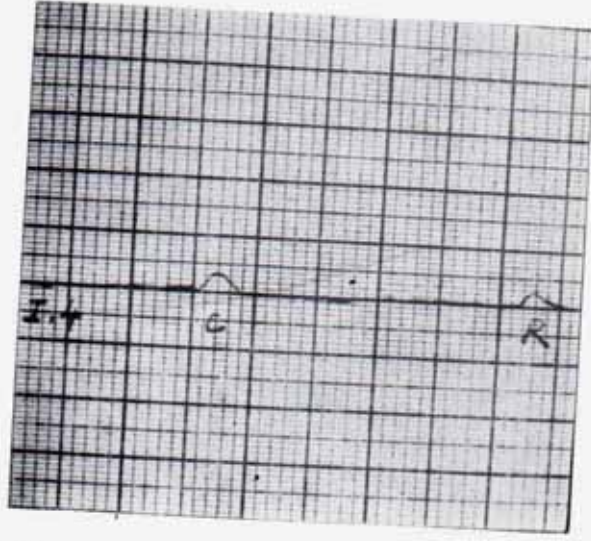


Grub 1.2'den transvers tarama ile densioorddan alınan kemik dansitesi eğrileri.



Grub 1.4;

21 günlük sürede 4 kez 1.6 M.R.C./Kg T.C.T. verilen farelerden birinin fibulası ve referans olarak alınan sağlam fare fibulasının röntgeni. Geniş bir callus yakası ve bu sahadaki kalsifikasyonun bariz görünüşü karakteristiktir.

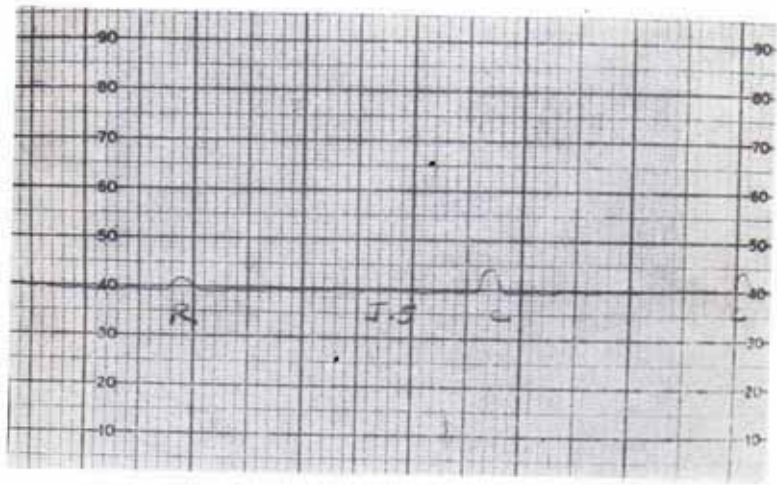


Grub 1.4'den transvers tarama ile Densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.



Grub 1.5;

21 günlük sürede 4 kez 3.2 M.R.C./Kg T.C.T. verilen farelerin fibulaları ve referans kemiğin röntgen resimleri görülmektedir. Özellikle ortadaki tecrübe hayvanının fibulasında callus geniş bir şekilde teşekkül etmiş olup, bu sahanın kalsifikasyonu mükemmeldir. Her iki tecrübe kemiğinde görülen bariz dansite artışı karakteristiktir.



Grub 1.5'den transvers tarama ile Densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.

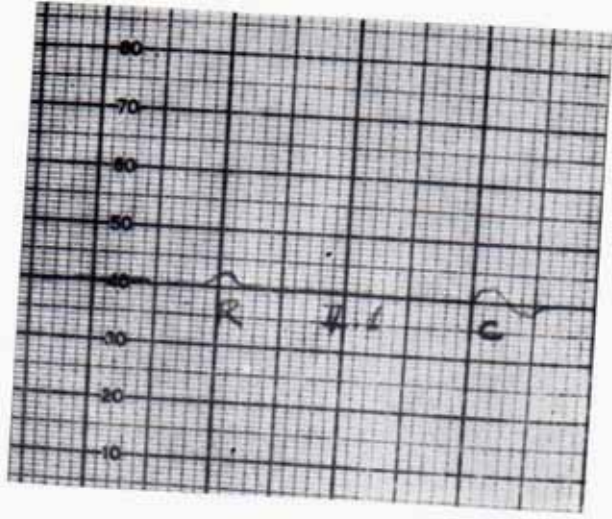


Grub II.1;

21 günlük sürede 4 kez 0.2 M.R.C./Kg T.C.T. ve 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat tatbik edilen fare fibulası ve referans kemiğin röntgeni.

Kırık hattında bariz kalsifikasyon görülmektedir.



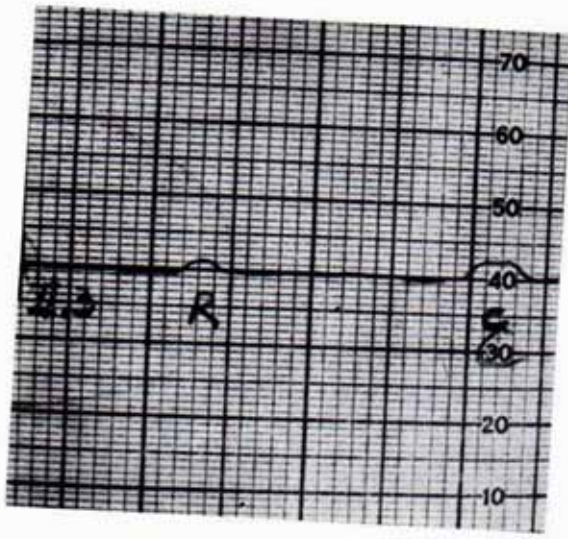


Grub II.1'den transvers tarama ile Densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.



Grub II.3;

21 günlük sürede 4 kez 0.8 M.R.C./Kg T.C.T. ve 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat verilen farelerden birinin fibula ve callus sahası ile referans kemiğin röntgeni.

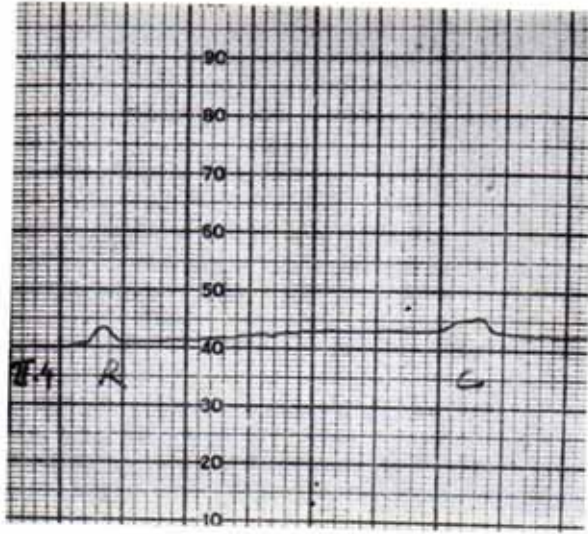


Grub II.3'den transvers tarama ile densitördan elde olunan kemik dansite eğrileri.

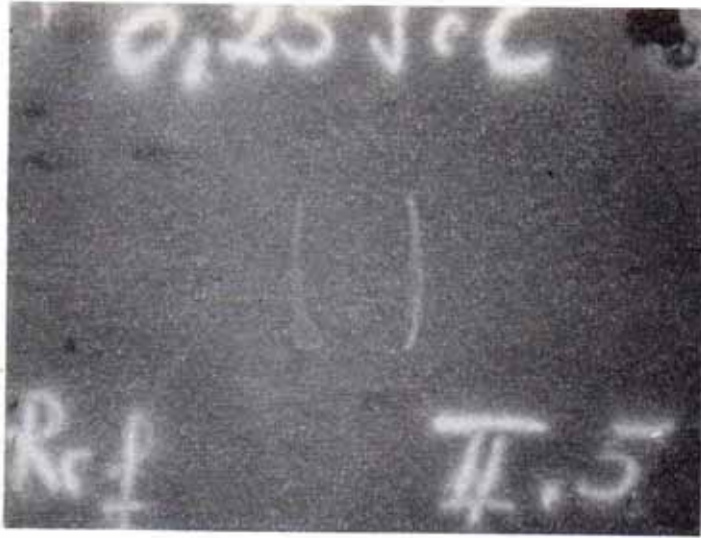


Grub II.4;

21 günlük sürede 4 kez 1.6 M.R.C./Kg T.C.T. ve 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat verilen farelerden birinin fibulası ve callus sahası ile referans kemiğin röntgen görünümü. Callus yakasındaki bariz kalsifikasyon karakteristiktir.



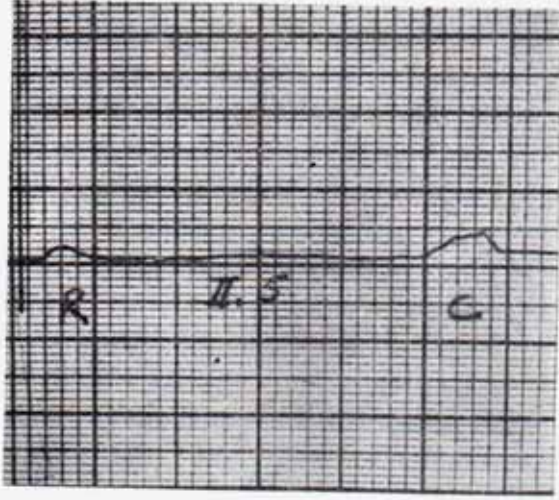
Grub II.4'den transvers, tarama ile densicorddan alınan kemik dansite eğrileri.



Grub II.5;

21 günlük sürede 4 kez 3.2 M.R.C./Kg T.C.T. ve 0.1 cc calcium gluconat verilen farelerden birinin fibulası ve referans kemiğin röntgeni. Experimental grubdaki fibulada referans kemiğe kıyasla bariz dansite artması ve geniş bir callus yakası ve bu yakanın kalsifikasyonu görülmektedir.



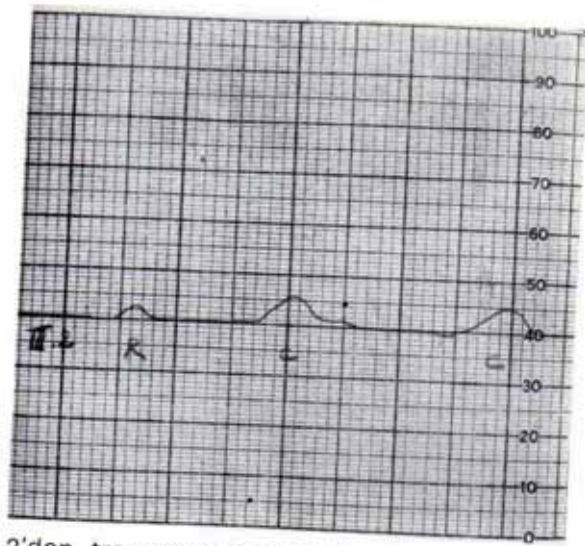


Grub II.5'den transvers tarama ile densitordan elde olunan kemik dansite eğrileri.

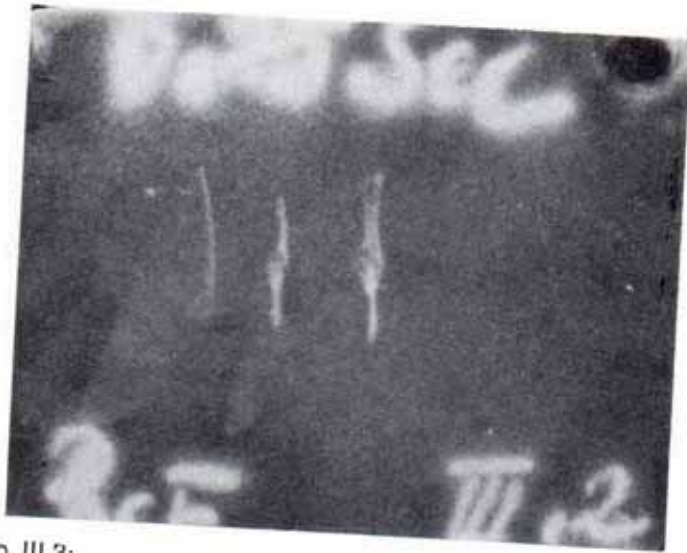


Grub III.2;

21 günlük sürede 4 kez 0.4 M.R.C./Kg T.C.T., 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat ve 60 I.Ü. D<sub>3</sub> vitamini verilen farelerin fibulaları ve referans kemiğin röntgeni. Kırık hattında aşırı callus teşekkülü ve kalsifikasyon bariz olarak görülmektedir.

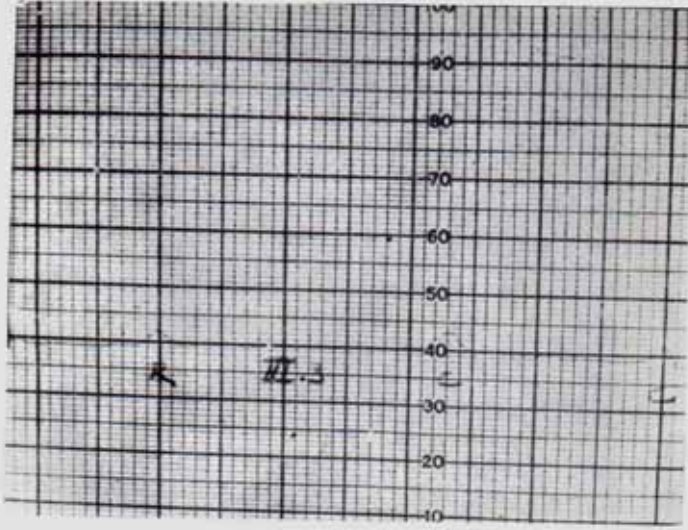


Grub III.2'den transvers tarama ile densitörden elde olunan kemik dansite eğrileri.

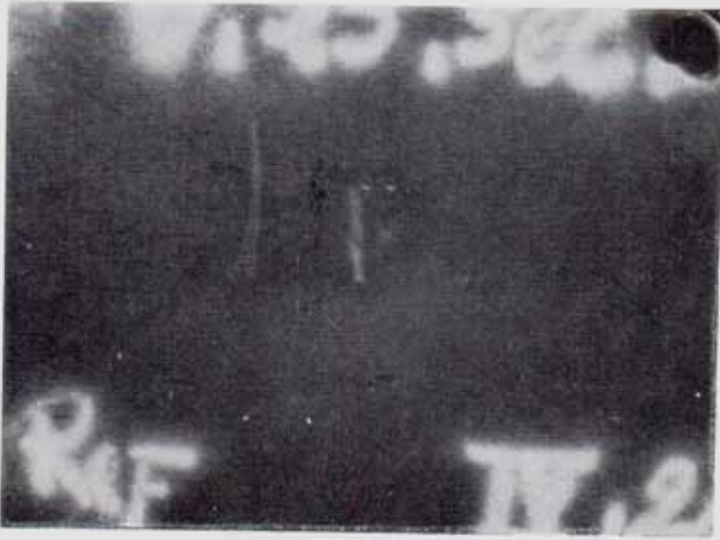


Grub III.3;

21 günlük sürede 4 kez 0.8 M.R.C./Kg T.C.T., 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat ve D<sub>3</sub> vitamini verilen farelerin fibulaları ve referans kemiğinin röntgen resmi. Araştırma grubundaki fibulaların callus sahalarındaki aşırı genişleme ve bu sahaların oldukça iyi kalsifiye olmaları karakteristiktir.



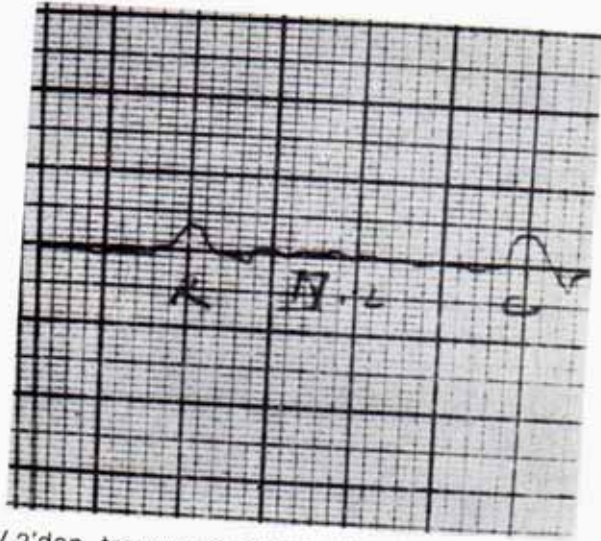
Grub III.3'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.



Grub IV.2;

42 günlük sürede 7 kez 0.4 M.R.C./Kg T.C.T. verilen farelerden birinin fibulası ve referans kemiğin röntgeni. Callus yakasındaki bariz kalsifikasyon açıkça görülmektedir. Ayrıca referans kemiğe kıyasla bu fibuladaki kemik dansitesinin tüm kemikte arttığı görülmektedir.



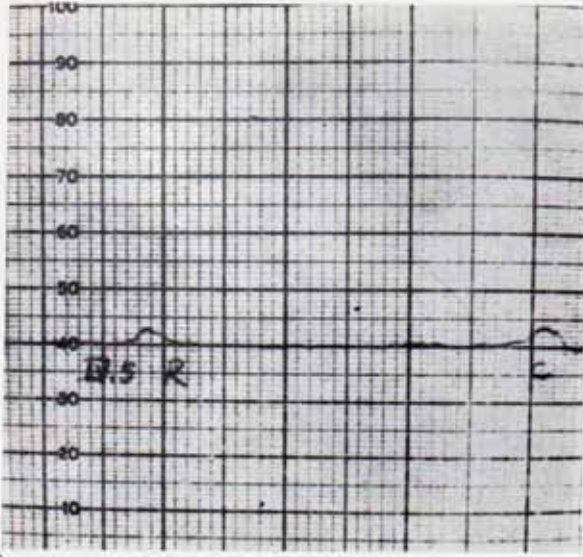


Grub IV.2'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.



Grub IV.5;

42 günlük sürede 7 kez 3.2 M.R.C./Kg T.C.T. verilen farelerden birinin fibulası ve callus sahası ile referans kemiğin röntgenolojik görünümü. Aşırı bir callus yakası oluşumu ve kalsifikasyonu ile fibulada referans kemiğe nazaran dansite artması karakteristiktir.

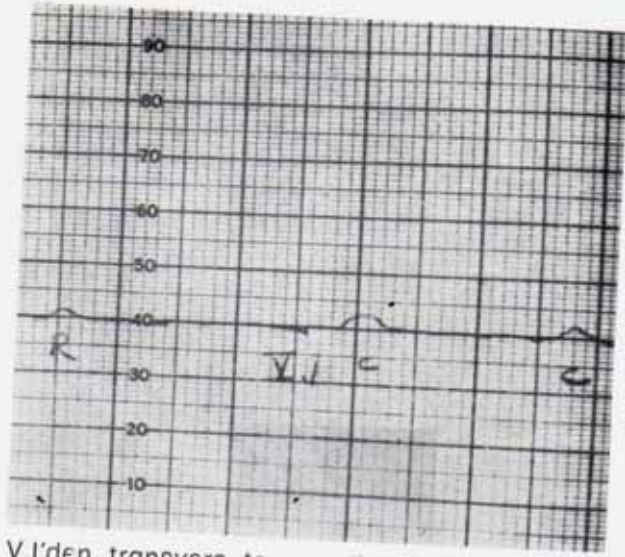


Grub IV.5 den transvers tarama ile densitometrin elde olunan kemik dansite eğrileri.



Grub V.I;

42 günlük sürede 7 kez 0.2 M.R.C./Kg T.C.T. ve 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat verilen farelerin fibulaları ve referans kemiğin röntgeni. Özellikle en sağdaki fare fibulasında callus teşekkülü ve kalsifikasyonu barizdir.



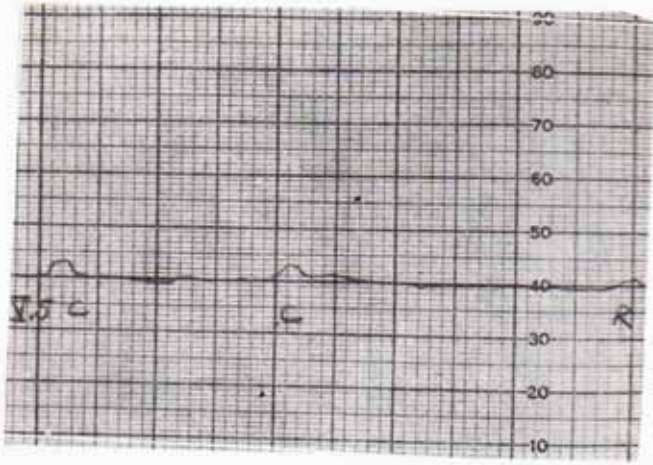
Grub V.I'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.



Grub V.5;

42 günlük sürede 7 kez 3.2 M.R.C./Kg T.C.T. ve 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat verilen farelerin fibulaları ile referans olarak alınan sağlam fare fibulasının röntgeni. Callus sahalarında bariz callus yakası teşekkülü ve kalsifikasyonu açıkça görülmektedir. Ayrıca deneme grubundaki fibulaların, sağlam fare fibulasına nazaran gösterdiği dansite artması karakteristik bir görünüm arz etmektedir.



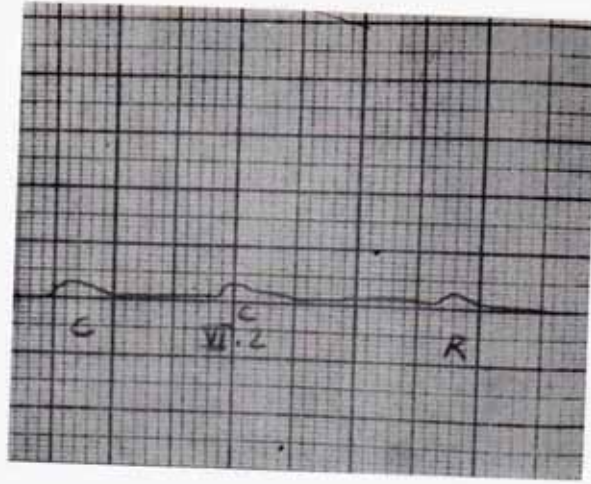


Grub V.5'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.

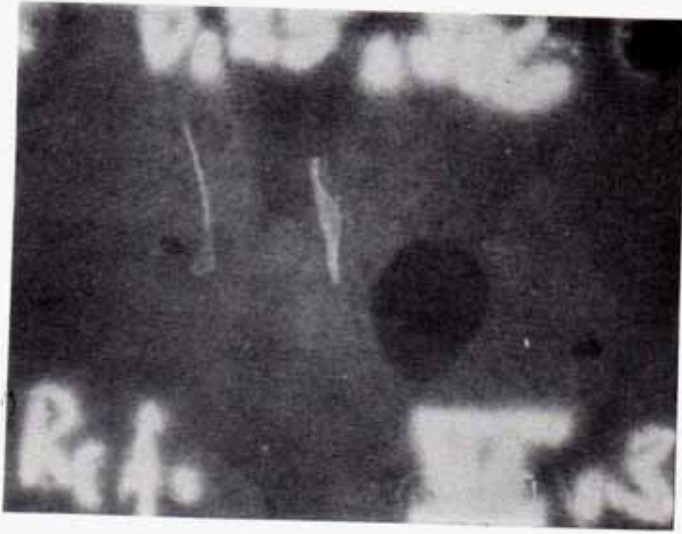


Grub VI.2;

42 günlük sürede 7 kez 0.4 M.R.C./Kg T.C.T., 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat ve 60 İ.Ü. D<sub>3</sub> vitamini verilen farelerdeki kırık sahaları ve referans kemiğin röntgenolojik görünümü. Özellikle ortadaki kemikte kırık uçları birbirlerinden ayrı olmasına rağmen, callus teşekkülü olmuş ve bu sahada kalsifikasyon başlamıştır.

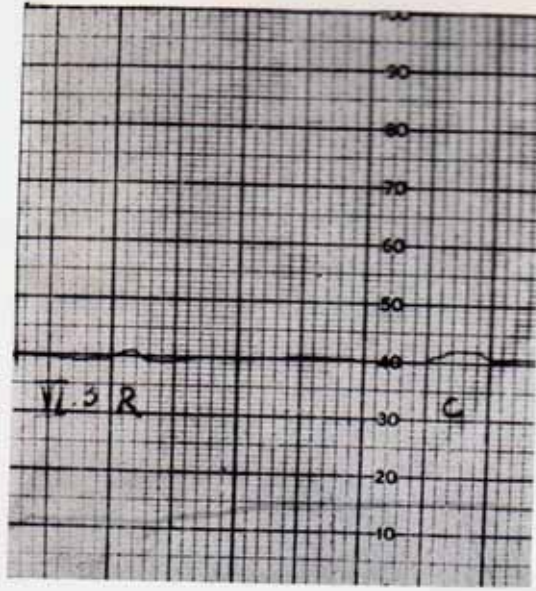


Grub VI.2'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansitesi eğrileri.



Grub VI.3;

42 günlük sürede 7 kez 0.8 M.R.C./Kg T.C.T., 0.1 cc % 1'lik calcium gluconat ve 60 İ. Ü. D<sub>3</sub> vitamini verilen farelerden birinin fibula kemiği ve callus sahası ile deferans kemiğin röntgenolojik görünümü. Callus yakasının genişliği ve sahanın iyi bir şekilde kalsifikasyonu karakteristiktir.



Grub VI.3'den transvers tarama ile densicorddan elde olunan kemik dansite eğrileri.

Grublar arasında dansite açısından bir farklılık bulunup bulunmadığı dansite değerlerinin mukayesesi ile yapılmıştır. Tablo No: 2 ve 3'de dansite eğrilerinden elde olunan dansite değerlerinin referans kemik ile mukayeseli değerleri ve kontrol grublarına nazaran direkt dansite değerleri bulunmaktadır.

Tablo No: 2 ve 3'de saptanan değerlerin zaman, doz, preparat ve bu üç faktörün interaksiyonları açısından yaptığımız varyans analizi değerlendirmesi Tablo No: 4 ve Tablo No: 5'de gösterilmiştir.

(DEVAMI GELECEK SAYIDA)