



**T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**YÜKSEK DOZ ATORVASTATİN'İN KIRIK
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
RADYOLOJİK, HİSTOPATOLOJİK ve
BİYOMEKANİK YÖNDEN ARAŞTIRILMASI
(RATLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Şenol AYDIN

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Günhan KARAKURUM

Ocak - 2009

**T. C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**YÜKSEK DOZ ATORVASTATİN'İN KIRIK
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
RADYOLOJİK, HİSTOPATOLOJİK ve
BİYOMEKANİK YÖNDEN ARAŞTIRILMASI
(RATLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Şenol AYDIN

ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Günhan KARAKURUM

TEZ ONAY SAYFASI

T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK DOZ ATORVASTATİN'İN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN RADYOLOJİK, HİSTOPATOLOJİK ve BİYOMEKANİK YÖNDEN ARAŞTIRILMASI (RATLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. Şenol AYDIN
Ocak 2009

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Ayşe BALAT
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının 'Tıpta Uzmanlık' derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. M. Ömer ARPACIOĞLU
Ortopedi ve Travmatoloji A. D. Bşk.

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile 'Tıpta Uzmanlık' tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Günhan KARAKURUM
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

İMZA

1. Prof. Dr. M. Ömer ARPACIOĞLU
2. Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ
3. Prof.Dr. Mehmet SUBAŞI
4. Prof.Dr. Ünsal ÖNER
5. Doç. Dr. Günhan KARAKURUM

TEŞEKKÜR

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitimim döneminde bana ortopedinin temel ilkelerini öğreten ve kazandıran değerli hocalarıma kalpten teşekkür ederim. Eğitim yıllarında gösterdikleri anlayış ve sabır, sarf ettikleri güç ve enerji görüldüğünden çok, çok daha fazlaydı. Bunun ödenebilecek karşılığı yok. Bilgi ve cerrahi tecrübelerini benimle paylaşarak günden güne daha iyi ve bilgili olmama yardımcı oldular. Kendilerini işine adanmış bu insanlara, büyük özveri ile inanılmaz güç sarf ederek iyi bir uzman hekim olarak yetişmeme yardımcı oldukları için sonsuza kadar içten teşekkür ederim. Bana gösterdiği anlayış ve atravmatik yaklaşımından dolayı bölüm başkanı Prof. Dr. Ömer Arpacıoğlu'na ayrıca teşekkür ediyorum. Değerli hocalarımdan hepsine; Prof. Dr. Akif Güleç'e, Prof. Dr. Orhan Büyükbeci'ye, Prof. Dr. Mehmet Subaşı'na, tez danışmanım Doç. Dr. Günhan Karakurum'a, Yrd. Doç. Dr. Oğuz Cebesoy'a eğitimime katkılarından dolayı teşekkür ediyorum. Fırsat bulmuşken tıp eğitimimde Hacettepe üniversitesinde hazırlık sınıfından son sınıfa kadar emeği geçen tüm hocalarıma teşekkür ediyorum. Ailemden uzak kaldığım süreyi geri getiremem; annem, babam, eşim ve çocuklarım. Bunlar kolay tamir edilebilecek şeyler değil. Onlara ayrıyeten teşekkür ediyorum.

Tez hazırlama sürecinde yardımlarını esirgemeyen patoloji bölümünden Yrd. Doç. Dr. Ediz Tutar'a, Fizyoloji bölümünden Prof. Dr. Cahit Bağcı'ya, Farmakoloji bölümünden Prof. Dr. Tuncay Demiryürek'e; Arş. Gör. Dr. Yasemin Baltacı ve Arş. Gör. Dr. Nurgül Yılmaz'a, Gıda Mühendisliği hocalarından Prof. Dr. Ahmet Kaya ve Arş. Gör. Dilek Büyükbeşe'ye teşekkür ederim.

Yoğun ve stresli asistanlık sürecinde yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarıma, teknisyenlerimize, hemşirelerimize ve personellerimize teşekkür ederim.

Dr. Şenol Aydın

Gaziantep - 2009

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	vii
RESİM LİSTESİ.....	ix
GRAFİK LİSTESİ.....	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KEMİK DOKUSU ve İÇERİĞİ.....	3
2.1.1. Matür Kemiğin Mikroskopik Hüresel Bileşenleri.....	3
2.1.2. Kemik Matriksi	5
2.1.3. Periosteum	6
2.1.4. Endosteum	6
2.1.5. Kemik Tipleri.....	7
2.1.6. Kemik Damar ve Sınırları.....	8
2.1.7. Histogenez	9
2.2. KIRIK İYİLEŞMESİ	11
2.2.1. Kırık İyileşmesinin Evreleri.....	12
2.3. KIRIK İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER	17
2.3.1. Sistemik Faktörler	17
2.3.2. Lokal Faktörler.....	23
2.4. STATİNLER	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	32
3.2. KIRIK MODELİ OLUŞTURULMASI	32
3.2.1. Anestezi	32
3.2.2. Kırık Modeli Oluşturulması ve Tesbit Yöntemi	32
3.2.3. İlaç Uygulaması	34
3.2.4. Deneylerin Sonlandırılması	34
3.3. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	34
3.3.1. Radyolojik Değerlendirme.....	35
3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	35
3.3.3. Biyomekanik Değerlendirme	36
3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	37
4. BULGULAR.....	38

4.1. RADYOLOJİK BULGULAR.....	38
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	42
4.3. BİYOMEKANİK BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	59
7. KAYNAKLAR.....	59

ÖZET

YÜKSEK DOZ ATORVASTATİN'İN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN RADYOLOJİK, HİSTOPATOLOJİK ve BİYOMEKANİK YÖNDEN ARAŞTIRILMASI (RATLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. Şenol AYDIN

UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Doç. Dr. Günhan KARAKURUM

TEZ DANIŞMANI

Ocak-2009, 65 Sayfa

İskelet sistemi hareket için esas bir yapıdır. “Hayat harekettir, hareket hayattır”. Uygulanan mekanik güç kemiğin taşıyabileceğinden fazla ise kırılır. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörlere yapılan çalışmalarda her gün bir yenisi daha eklenmektedir. Statinlerin kırık iyileşmesinde potansiyel rolü olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Statinler kolesterol biyosentezinde birinci basamağı kontrol eden 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzim inhibitörleridir ve kolesterol düşürücü olarak kullanılmaktadırlar. Biz çalışmamızda yüksek doz atorvastatinin ratlarda kırık iyileşmesine etkisini araştırdık.

Çalışmamızda 50 adet rat kullanıldı. Tüm ratların tibialarında kırık oluşturuldu. Toplam 2 grup oluşturuldu ve her grup 3 alt gruba ayrıldı. Çalışma grubundaki ratlara gavaj ile atorvastatin verildi. Kontrol grubundakilere ilaç verilmedi. 8., 14. ve 28. günlerde deneyler sonlandırıldı. Ratların tibiaları radyolojik, histopatolojik ve biyomekanik olarak araştırıldı.

Radyolojik sonuçlar arasında istatistiksel olarak 8. ve 28. günlerde anlamlı bir fark vardı ($p < 0.05$). 8. gün $p = 0.0383$, 28. gün $p = 0.0314$ olarak bulundu. 14. gün kontrol ve çalışma grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Histopatolojik sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$). Biyomekanik sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Yaptığımız deneysel çalışmada yüksek doz atorvastatinin kırık iyileşmesini radyolojik olarak hızlandırdığını, biyomekanik ve histopatolojik olarak herhangi bir etkisinin olmadığını bulduk.

Anahtar Kelimeler: Atorvastatin, Kırık iyileşmesi, 3-(HMG-CoA) redüktaz enzim.

ABSTRACT**RADIOLOGICAL, HISTOPATHOLOGICAL AND BIOMECHANICAL
RESEARCH OF EFFECT OF HIGH DOSE ATORVASTATIN ON
FRACTURE HEALING (AN EXPERIMENTAL STUDY WITH RATS)****Dr. Şenol AYDIN****DISSERTATION THESIS****DEPARTMENT OF ORTHOPAEDIC SURGERY AND TRAUMATOLOGY****Assos. Prof. Dr. Günhan KARAKURUM****SUPERVISOR****January-2009, 65 Pages**

Skeletal system is essential structure designed for motion. (Life is movement and movement is life). If we apply force to the bone more than it can afford fracture occurs. Almost every day another innovation is adding to the factors having positive effect on bone making. Fracture improving potential of some statins have been shown in the literature. Statins inhibit the 3-hydroxy-3-methylglutaril coenzyme-A (HMG-CoA) which is the first step controlling enzyme in the cholesterol biosynthesis. They are used for the treatment of hyperlipidemia.

In this study our aim was to investigate the role of high dose atorvastatin in fracture healing. Total number of 50 rats were used. Tibia fracture model was performed to all. The rats were randomly separated equally to two groups and each group was divided randomly to three subgroups. Atorvastatin was given by gavage to the one group and no drug was given to the control group. After harvesting the rats at certain dates (8th, 14th, 28th days) we investigated the tibias we had performed fracture model radiologically, histopathologically and biomechanically.

At 8th and 28th day there was a significant statistical difference between two groups radiologically. The "p" values of less than 0.05 ($p < 0.05$); $p < 0.0383$; $p < 0.0314$ correspondently. There have been no significant differences statistically in histopathologic and biomechanical studies. p results ($p > 0.005$) were found for both.

In this study the effect of atorvastatin on fracture healing could not been shown histopatologically and biomechanically, but radiological difference was found to be significant between two groups under our investigation.

Key Words: Atorvastatin, Fracture healing, 3-hydroxy-3-methylglutaril-Coenzyme-A (HMG-CoA).

KISALTMALAR

BMP	: Kemik kaynaklı morfojenik protein
Ca	: Kalsiyum
CDGF	: Kondrosit kaynaklı büyüme faktörü
ECDGF	: Endotel hücre kaynaklı büyüme faktörü
ECGF	: Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü
EGF	: Epidermal kaynaklı büyüme faktörü
FDGF	: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü
HMG-CoA	: 3-hidroksi 3-metilglutaril CoA
IL	: İnterlökin
İM	: İntramüsküler
MDGF	: Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü
NSAİİ	: Nonsteroidal anti inflamatuvar ilaç
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PG	: Prostaglandin E
Po	: Per oral
PPMH	: Pluripotent mezenkimal hücreler
PTH	: Paratiroid hormon
TFPI	: Doku faktörü yolu inhibitörü
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
GFZ	: Gemfibrozil
CYP	: Sitokrom p-450
CYP3A4	: Sitokrom p-450 3A4
CYP2C8	: Sitokrom p-450 2C8
CYP2C9	: Sitokrom p-450 2C9
ATP	: Adenozin trifosfat
MRP2	: Multidrug resistant protein-2
GTP	: Guanozin trifosfat
UGT	: Uridin glukoronil transferaz

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. 8. gün radyolojik verileri	38
Tablo 2. 14. gün radyolojik verileri	39
Tablo 3. 28. gün radyolojik verileri	41
Tablo 4. Histopatolojik değerlendirme sonuçları	46
Tablo 5. Biyomekanik değerlendirme sonuçları (Newton olarak)	47

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kemik hücrelerinin şematik görünümü.....	5
Şekil 2. Kemik doku kesiti	7
Şekil 3. Kemik yapısı ve beslenmesi	9
Şekil 4. Kırık iyileşmesinin şematik görünümü	16
Şekil 5. Paratiroid hormonun etki mekanizması.....	18
Şekil 6. Statinlerin miyotoksisite mekanizması	26
Şekil 7. Mevalonat yolu ve statinlerin etki mekanizması	30

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Kemiğin histolojik kesiti	10
Resim 2. Kemiğin histolojik kesiti	11
Resim 3. Deneyde kullanılan ratlar	31
Resim 4. Rat tibiasının medullasının oyulması	33
Resim 5. Tibia kırığının intramedüller tesbiti	34
Resim 6. Biyomekanik test yapılan cihaz (Texture Analyser).....	36
Resim 7. Cihazın kırma deneyi parçası.....	37
Resim 8. 8. gün radyolojik bulgular	39
Resim 9. 14. gün radyolojik bulgular	40
Resim 10. 28. gün radyolojik bulgular.....	41
Resim 11. 8. gün kontrol grubu (200x büyütme)	42
Resim 12. 8. gün çalışma grubu (200x büyütme).....	43
Resim 13. 14. gün kontrol grubu (100x büyütme).....	43
Resim 14. 14. gün çalışma grubu (100x büyütme).....	44
Resim 15. 28. gün kontrol grubu (200x büyütme)	45
Resim 16. 28. gün çalışma grubu (100x büyütme).....	45

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. 8. gün çalışma grubu biyomekanik değerler grafiği	48
Grafik 2. 8. gün kontrol grubu biyomekanik değerler grafiği	48
Grafik 3. 14. gün çalışma grubu biyomekanik değerler grafiği	49
Grafik 4. 14. gün kontrol grubu biyomekanik değerler grafiği	50
Grafik 5. 28. gün çalışma grubu biyomekanik değerler grafiği	51
Grafik 6. 28. gün kontrol grubu biyomekanik değerler grafiği	51

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Gelişmiş toplumumuzda yaşam hızının artması ve ortalama yaşam süresinin artması ile birlikte kırık sıklığı artmıştır. Kırık iyileşmesi konusunda birçok araştırmalar yapılmasına rağmen, günümüzde kırığın iyileşmesi (konsolidasyonu) tam olarak aydınlatılamamıştır. İmplant teknolojisinin ve cerrahi yaklaşım tekniklerinin ilerlemesine rağmen bazı kırıklarda kaynama problemleri görülmektedir. Kırık iyileşmesini etkileyen çeşitli ilaçlar ortopedi bilim adamları tarafından araştırma konusu olmuştur. Kırık iyileşmesi oldukça komplike bir olaydır. Kırık oluşumunu takiben kemik bütünlüğünün yeniden sağlanabilmesi amacı ile organizmada birçok rejeneratif değişiklikler şekillenir. Bunu etkileyen ilaçlar araştırmacıları yeni bir araştırma alanına sevk etmiştir.

Son zamanlarda statinlerin kemik üzerinde anabolik etkilerinden söz eden yayınlar artmaktadır. Kolesterol düşürücü olan bu ilaçlar, kolesterol biyosentezinde 1. basamağı kontrol eden 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzimini inhibe ederek endojenik kolesterol yapımını baskılamaktadır. Antihiperlipidemik olan bu ilaçlar kardiyoloji ve dahiliye tarafından yaygın kullanılmaktadır. Değişik yayınlarda bu ilaçların kemik yapımında ve iyileşmesinde arttırıcı rolleri olduğu gösterilmiştir. Statin grubu ilaçların arasında jenerik ismi atorvastatin olan ilacın ratlarda kırık iyileşmesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalara rastlanamamıştır ve bu da bizi bu konuda araştırma yapmaya sevk etmiştir.

Bu çalışmada ratların sol tibialarında kırık oluşturup intramedüller tesbit yapılarak 8., 14. ve 28. günlerde atorvastatin'in kırık iyileşmesi üzerindeki etkileri radyolojik, histopatolojik ve biyomekanik olarak araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU ve İÇERİĞİ

Kemik dokusu vaskülarizasyonu iyi olan, yaşayan, ve sürekli değişen mineralize olmuş bağ dokusudur. Dikkat çeken özellikleri sert, dayanıklı, rejenarasyon kapasitesi olması ve ayrıca karakteristik büyüme mekanizmalarının olmasıdır. Bütün diğer bağ yapıları gibi kemik dokusu da hücreler ve interselüler matriksten oluşmaktadır. Kemik dokunun hücrelerinin büyük kısmı (osteositler) burada yerleşmişlerdir. Matür kemikte matriksin ağırlığının %40'nı organik materyaller (genellikle kollagen doku), kalan kısmını da kalsiyum (Ca) ve fosfattan zengin inorganik tuzlar oluşturmaktadır. Bunlar, birlikte kemik yapısına özgü mekanik özellikler kazandırır.

Kemik dokunun bu özellikleri vücudumuzda tüm kemikler için aynı olsa da gelişimsel durumuna, yerine, ve mekanik güçlere göre değişiklik göstermektedirler. Kollagen doku ve mineralize matriks damarlarının etrafında konsantrik şekilde dizilerek osteonları yaparlar. Kemikğin dış yapısı ince bir tabaka ile kaplıdır (periosteum), daha iç kısmında buna benzer fakat daha ince olan endosteum yer almaktadır. Snovial dokular, kan damarları, kemik iliği gibi yapılar kemik dokuyla sıkı bir ilişki halindedirler (1).

2.1.1. Matür Kemikğin Mikroskopik Hücresel Bileşenleri

2.1.1.1. Osteoprogenitor hücreler: Mikroskopik olarak yaşayan kemik fildişi gibi beyaz ve sert (kompakt kemik), veya petek gibi boşluklar (trabeküller) içerip kansellöz, trabeküler veya spongioz kemik adını almaktadır. Dediğimiz gibi kemikğin yoğun sert yapısının dış kısmını periosteum, iç kısmını da endosteum oluşturur. Burada veya kemik iliğinde (pluripotent) stromal stem mezenkimal kökenli fuziform osteoprogenitor hücreler bulunur. Fibroblastlarla zor ayırt edilebilir bir yapıya

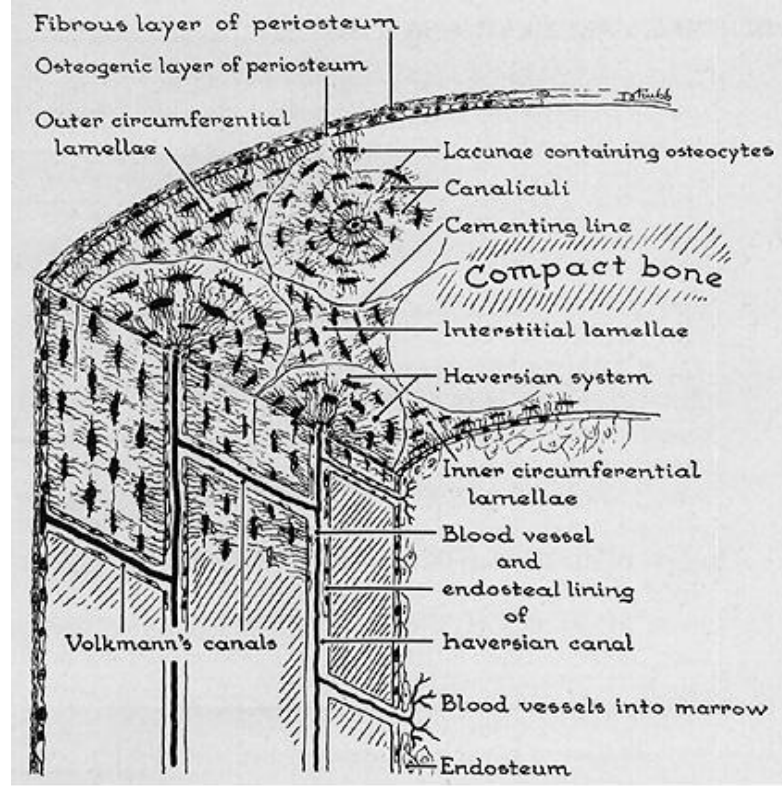
sahiptirler. Uzunca bir çekirdekleri ve asidofilik stoplazmaları vardır. Bu hücreler osteoblastların inaktif prekürsörleridir. Kırık iyileşmesi ve kemik büyümesi dönemlerinde aktive osteoblastlara dönüşürler (2). İnsan kemiğinden alınan mezenkimal hücreler kültürde çoğaltılabilirler. Bunları hayvanlara implante edebilir ve kemik dokusu elde edebiliriz. Deneysel olarak yumuşak dokularda kemik doku oluşumunu (ektopik kemik) sağlayabiliriz.

2.1.1.2. Osteoblastlar: Osteoblastlar mikroskopik olarak protein sentezleyen hücrelerin özelliklerini taşıyıp kemik matriksinin organik bileşenlerinin sentezinden, depolanmasından ve mineralizasyonundan sorumludur. Küboid şekildedirler ve tip 1 kollajen, osteokalsin, osteopontin ve kemik siyeloproteini gibi ürünler sentezlerler. Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitel hücreleri gibi yan yana dizilim gösterirler. Matriks yapımına başlayınca kübik halden prizmatik hale dönüşürler. Stoplazmaları bazofilik olur, sentez faaliyeti azaldıkça bu özellikler de azalır. Osteoblastların birbirleriyle temasını sağlayan stoplazmik uzantıları tutunmak için, aktin ve miyozin demetleri hareketlerini sağlamak için vardır. Osteoblastların yüzeyel kısmı alkalın fosfataz enziminden zengindir ve kemik matriksin mineralizasyonundan sorumludur. Paratiroid reseptörlerinin olması nedeniyle osteoblastların indirek hormonal aktiviteleri olduğu düşünülmektedir. Osteoblastlar yeni matriks ile çevrelendiklerinde osteosit adını alırlar (3). Bazı durumlarda osteoblastlar tekrar osteoprogenitor hücrelere dönüşebilirler.

2.1.1.3. Osteositler: Matür kemiği oluşturan, matriksinde yer alan major hücre tipidir. Yapı olarak osteoblastlara göre daha yassı ve elipsoiddirler ve çekirdek yapıları daha yoğundur. Stoplazmaları bazofilik, az sayıda organeller ve granüler endoplazmik retikulum içermektedir. Daha genç ve aktif osteositler daha yuvarlak görünümde, daha çok endoplazmik retikulum ve büyük golgi kompleksi içermektedir ve bu da onların sekretuar aktivitelerinin daha fazla olduğunun göstergesidir. Osteoblastlardan köken alırlar ve matriks lakünaları arasına yerleşmişlerdir. Hayatları boyunca osteoblastlarla ve kemik üzerinde bulunan hücrelerle ilişkilerini korurlar. Her lakünada sadece bir osteosit vardır. Komşu osteositler stoplazmik uzantılar ile temas kurup besin maddelerini bu şekilde taşırlar. Bu hücreler kemik matriks devamlılığı için aktif rol

alırlar. Bir kemiğin canlılığı osteositlerin canlılığıyla orantılıdır. Ortalama yaşam süreleri 25 yıldır. Osteosit ölümüyle birlikte matriks rezorpsiyonu da başlar (3).

2.1.1.4. Osteoklastlar: Osteoklastlar dallanmış yapıda, çok büyük (20-150 mikron) ve hareketli hücrelerdir. Osteoprogenitor kökenli olmayıp monosit-makrofaj orijinlidirler. Çok sayıda çekirdek içerirler. Stoplazmaları asidofiliktir. Hücre içinde 15-20 veya daha fazla nukleusları, çok sayıda lizozom, granüllü endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi cisimciği bulunur. Fonksiyonları kemiği ortadan kaldırmaktır. Bunu proton salgılayarak yaparlar. Kemiği demineralize ederler, lizozomal ve non-lizozomal yol ile kemik matriksini destrukte ederler. Osteoklastlar kemik rezorpsiyonunun başladığı yerde enzimatik olarak açılan Howship Lakünası adı verilen çukurlarda bulunurlar. Kemik rezorpsiyonu tamamlandıktan sonra apoptozise uğrarlar. Osteoblastlar, makrofajlar ve lenfositler osteoklastların rezorpsiyon aktivitesini stimule ederken, yükselen intersellüler kalsiyum onları inaktive eder. Osteoklastların aktivasyonu kalsitonin, D vitamini ve bazı düzenleyici moleküllerle sağlanır. Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlar. Şekil 1'de kemik hücrelerinin şematik görünümü izlenmektedir. Aktif osteoklastlarda kemik matriksine bakan yüzde düzensiz yapıda fırçamsı kenarlar bulunur ve bu bölge kemik rezorpsiyonu için mikro çevre oluşturur (Osteopetrozis hastalığında fırçamsı kenarlarda yapısal bozukluk vardır) (1-3). Doku kültürlerinde fırçamsı kenarların görülmesi aşırı hareket ve aktif pinositoz göstergesidir.



Şekil 1. Kemik hücrelerinin şematik görünümü

2.1.2. Kemik Matriksi

Kemik matriksi ekstraselüler mineralize olmuş kemik materyali olup, organik ve inorganik moleküllerden oluşmuştur. İnorganik bölüm kuru ağırlığın %60-70 kadarını oluşturur. İçerilen su miktarı %10-20 kadardır. %5'ini glikoproteinler oluşturur. Çoğunluğunu kalsiyum ve fosfor ile bunların bikarbonat, sitrat ve magnezyum gibi moleküllerle oluşturduğu bileşenler teşkil eder.

Kalsiyum ve fosfor değişik bir kompozisyonda birleşerek hidroksiapatit kristallerini oluştururlar. Hidroksiapatit yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için etrafında su ve iyonlarla kaplı bir tabaka vardır. Hidrasyon kabuğu adı verilen bu tabaka sayesinde diğer vücut sıvılarıyla iyon alışverişi sağlanır. Hidroksiapatit ve kollajen lifleri arasındaki ilişki kemiğin sertlik ve dayanıklılık özelliğinden sorumludur.

Organik bölüm (kollajen doku) kuru ağırlığın %30-40 kadarını oluşturur. Büyük çoğunluğunu tip 1 kollajen meydana getirir. Matrikste kemik siyaloproteini, osteokalsin, osteopontin gibi bazı glikoprotein yapılar da bulunur ve hücrelerin birbirleriyle olan ilişkilerini düzenler (1,3). Kemik oluşumun erken evrelerinde matriksin mineralizasyondan önceki haline osteoid denilir. Yaşlılarda osteoid miktarı azdır. Bazı hastalık durumlarında özellikle riketste mineralizasyon defektif olduğundan dolayı osteoid miktarı çok artmıştır. Kemik matriksi büyüme faktörleri de içerir.

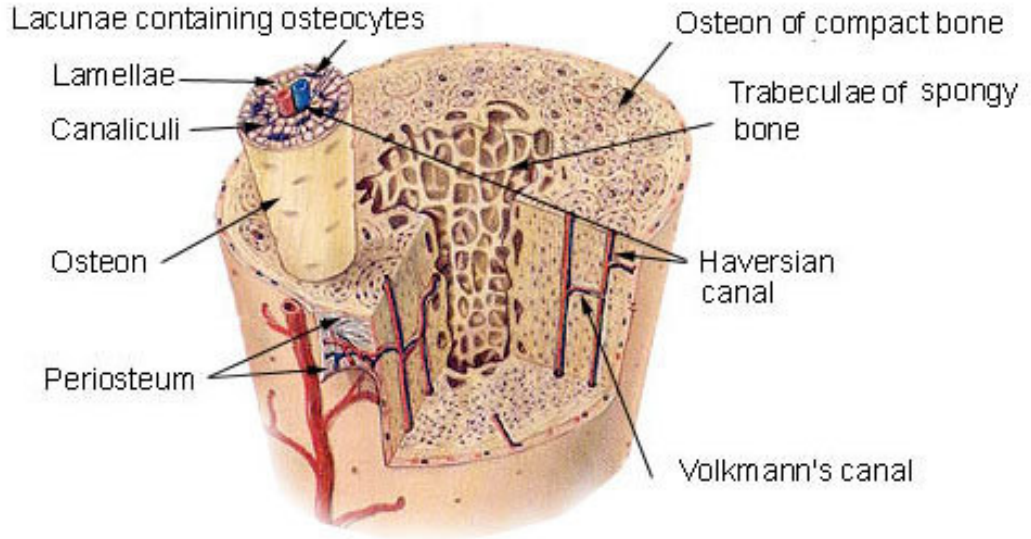
2.1.3. Periosteum

Kemik dokunun kıkırdak yapı dışındaki bölümü periost denilen sıkı bir bağ doku ile çevrilidir. Periostun dış kısmı kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşmuştur. Periostal kollajen liflerden oluşan “sharpey lifleri” periostun kemik matrikse bağlanmasını sağlar. Periostun iç kısmı ise bölünüp farklılaşabilen hücreler bakımından zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler az miktarda granüllü endoplazmik retikulum ve golgi içerirler (1,3).

2.1.4. Endosteum

Kemiğin içindeki bütün boşlukları örter, tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ve az miktarda bağ doku içerir. Periosta nazaran daha ince yapıdadır. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri kemiğin beslenmesi, büyümesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastların yapımını sağlamaktır. Bu nedenle cerrahi sırasında özenle korunmalıdır. Şekil 2’de kemiğin periosteumundan endosteumuna kadar alınmış bir kesitin şematik görünümü izlenmektedir (1,3).

Compact Bone & Spongy (Cancellous Bone)



Şekil 2. Kemik doku kesiti

2.1.5. Kemik Tipleri

İki ana tip kemik vardır; kortikal ve trabeküler. Kemik kütleinin %75'ini dış tabaka olarak kortikal kemik oluşturur. Trabeküler (spongioz) kemik, kemiğinin iç gücünden sorumludur. Vertebra ve pelviste yaygındır. Kemik kütleinin %25'ini oluşturur. Trabeküler kemiğin yüzey alanı daha fazladır ve kortikal kemikten daha yüksek turnover sahiptir. Buna bağlı olarak osteoporoz gibi bazı kemik rahatsızlıklarında en fazla kemik kaybını göstermektedir ve tedaviye yanıtı daha fazladır. Kemiğin mekanik özellikleri her ne kadar matriksin içeriğine bağlıysa da, dayanıklılığı ve içeriğin dizilimine de bağlıdır. Mikroskopik incelemeler sonucunda 2 farklı tip kemik oluşumu gözlenmiştir; Primer olgunlaşmamış kemik ve sekonder olgunlaşmış kemik. Olgun kemikler ise kompakt ve spongioz olmak üzere iki alt gruba ayrılabilirler.

2.1.5.1. Primer kemik: Embriyolojik gelişim sürecinde ve kırık iyileşmesinde ilk ortaya çıkan kemik türüdür. Çok aktif osteoblastlar tarafından sentezlenir. Geçicidir ve yetişkinde diş alveolleri ve tendon-kemik bileşkesinde bulunur. Diğer bölgelerde

yerini sekonder kemiğe bırakır. Rastgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifler içerir.

2.1.5.2. Sekonder kemik: Genelde erişkinlerde bulunan kemik tipidir. Kollajen lifler paralel ve vasküler bir kanal etrafında yerleşmiş şekilde bulunurlar. Kan damarlarını, sınırları ve gevşek bağ dokusunu içeren bir kanal etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe “havers sistemi”denir. Uzun bir silindir şeklindedir. Havers kanalları birbirleriyle “volkmann kanalları” denilen oblik ve transvers kanallarla bağlanırlar. Spongioz kemik ince uzun ve düzensiz trabeküllerden oluşur. Kanal sistemi damar içermez ve beslenmesi içerisinde bulunan kemik iliği ile sağlanır. Kemik yapısında haversian kanallar ana alt birim olarak bilinir. Haversiyen sistem sekonder osteon olarak adlandırılır. Erişkin iskelet sisteminde yaklaşık 21 milyon osteon bulunmaktadır (1,2). Osteonal kanalın ortalama çapı 50 mikromilimetredir. Her kanalın içinden milimetrik fenestre endoteliumla kaplı bir veya iki kapiler ve genellikle myelinize olmamış sinir geçer. Osteonal kanallar direk veya indirek medüller kanalla ilişkide bulunurlar. Sekonder osteositleri buldukları çevreden sement çizgisi ayırır. Sement çok fazla miktarda glikoproteinler ve proteoglikanlar içerdiğinden dolayı güçlü bazofiliktir. Kompakt kemikte (trabeküler) ise damar ve kanal sistemleri bulunur. Kalın trabeküller küçük osteonlar içerebilir. Kemik yüzeyindeki nutrisyonel foramenlerden kan damarları geçerek önce volkman sonra havers kanallarına ulaşır ve iki yöne doğru yayılırlar. Bu sayede kompakt kemik beslenmesi sağlanır (1,3).

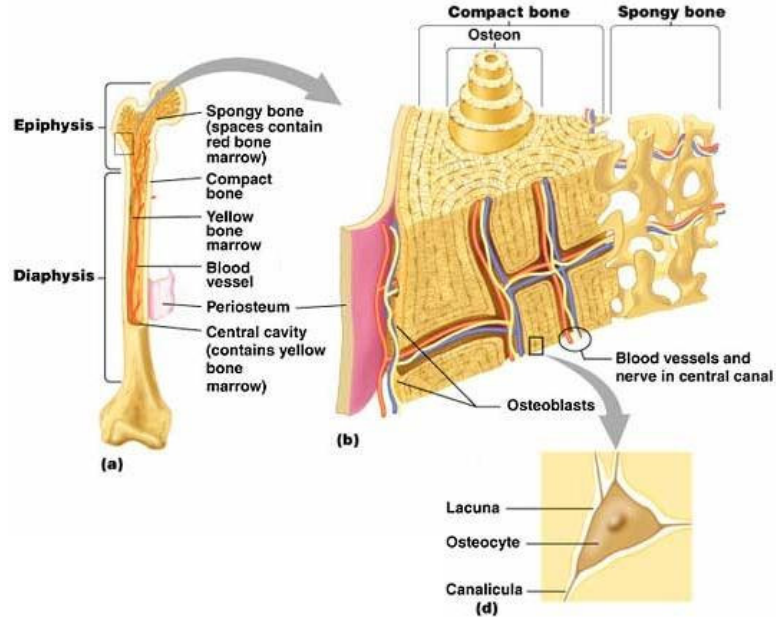
2.1.6. Kemik Damar ve Sınırları

Yaşayan kemiğin, kemik iliğinin, perikondriumun, epifiz kırırdağın ve bir kısım artiküler kırırdağının nutrisyonel desteği kemik dolaşımı tarafından sağlanmaktadır (şekil 3). Yeni konseptte göre uzun kemik dolaşımı sentrifugal akım şeklinde olmaktadır (2).

Diafiz beslenmesi genelde bir veya iki arter tarafından sağlanır, arterler kemik şaftını nutrient foramenlerden oblik şekilde geçerler. Giriş yerleri ve angulasyonları genellikle aynıdır. Nutrient arterler nutrient kanal içinde dal vermezler, fakat medulla

içinde asendan ve desendan arterler olarak devam ederler. Bu dallar küçük arterlere bölünerek epifizlere ulaşırlar.

Sinirler yaygın olarak kemik periostunda bulunur veya nutrient arterlerle birlikte seyrederekler.



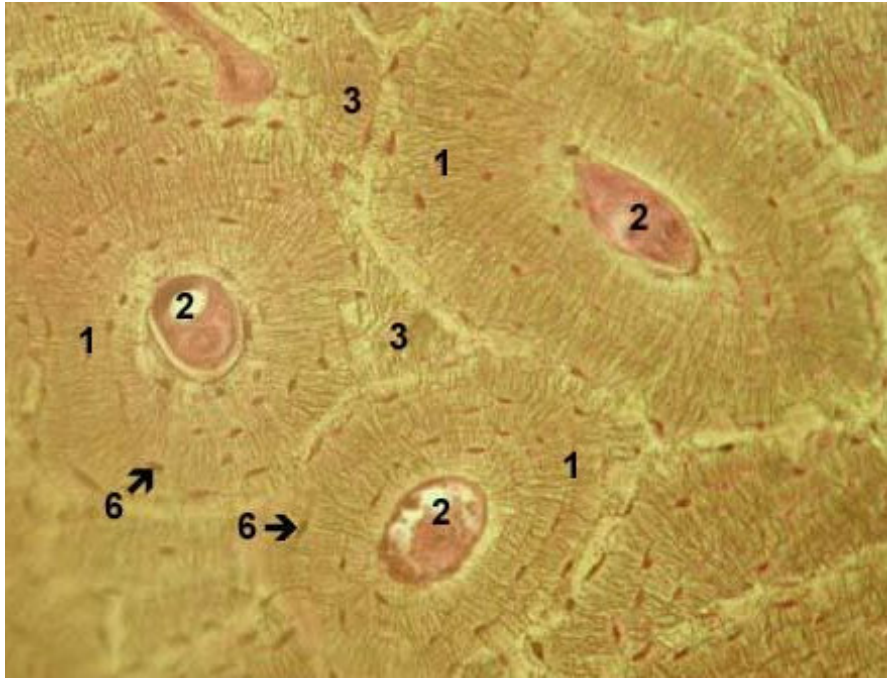
Şekil 3. Kemik yapısı ve beslenmesi

2.1.7. Histogenez

Kemik iki yolla oluşur. Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu (intramembranöz kemikleşme) ya da, daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çökmesi (enkondral kemikleşme) ile oluşur.

2.1.7.1. İnamembranöz (mezenkimal) kemikleşme: Çok iyi kanlanan vasküler konnektif dokunun direk mineralizasyonu ile oluşur. Pek çok yassı kemiğin kaynaklandığı intramembranöz kemikleşmeye, mezenkimal doku yoğunlaşmaları içinde olduğu için bu ad verilmiştir. Bir grup mezenkimal hücrenin osteoblastlara dönüşmesi ile başlar. Erken trabeküler yapıların üzerine kalsifiye olmuş tabakalar ilave

olur. Yeni matriks (woven bone) oluşumunu kalsifikasyon takip eder. Bazı osteoblastlar primitif lakunalar içerisinde yer alıp çevrelerinde kemik matriksi vardır. Osteoblastlar tarafından matriks sekresyonu devam eder kalsifikasyon ilerler, trabeküller kalınlaşır ve bu da vasküler kanallarının daralmasına neden olur. İlk olarak primer osteonlar (primer haversian sistemler) oluşur (resim 1). Daha sonra bu yapılar erode olur ve lameller sekonder osteonlar oluşur. Sonuçta yeni osteositler meydana gelir. Kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanlarda böyle birkaç grup ortaya çıkar ve bunlar birleşerek süngerimsi yapıyı oluşturur. Bağ dokunun kemikleşmeye katılmayan kısımları ise, intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteum yapılarını oluşturur.

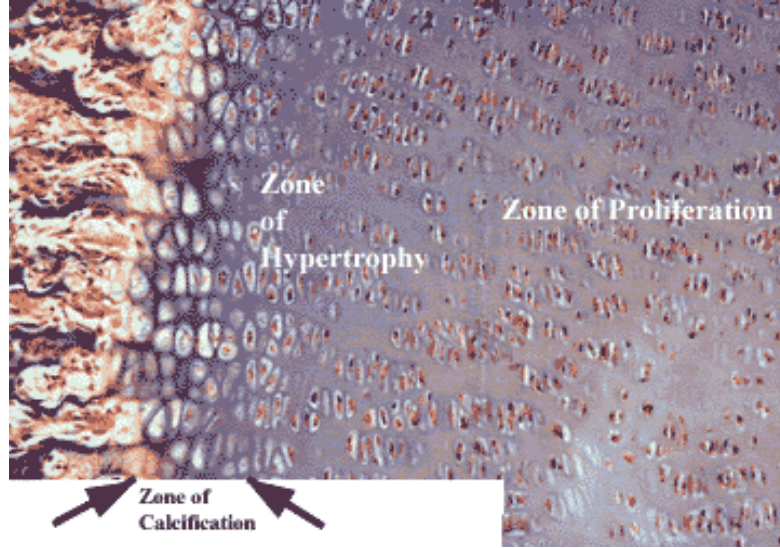


Resim 1. Kemiğin histolojik kesiti

(Thionin ve picric asitle boyanmıştır. 1. Havers Sistemi (osteon), 2. Havers Kanalı, 3. İnterstisel Sistem, 6. Osteositler)

2.1.7.2. Enkondral kemikleşme: Hyalen kıkırdaktan oluşmuş küçük bir model içinde cereyan eder. Bu tür kemikleşme kısa ve uzun kemiklerin şekillenmesinden sorumludur. Enkondral kemikleşme iki aşamadan oluşur. İlk aşamada kondrositlerin

hipertrofisi ve harabiyeti sözkonusudur. İkinci aşamada osteoprogenitör hücreler harabiyet oluşan boşluklara yerleşirler. Burada osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar kalsifiye kıkırdak matriksi üzerinde aralıksız bir tabaka oluşturarak kemik matriksini sentezlemeye başlarlar (resim 2). Böylece primer kemik sentezi başlamış olur (3).



Resim 2.Kemiğin histolojik kesiti

2.2. KIRIK İYİLEŞMESİ

Oluşan hasara kemik nasıl cevap verir? Ortopedistler tarafından araştırılan ilginç konulardan biridir. Herhangi bir kuvvete maruz kalma sonucunda kemiğin anatomik yapısının bozulmasına kırık denir. Kırık oluşmasından sonra başlayan fizyolojik reaksiyonlar, bozulan bütünlüğün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kırık iyileşmesinde mekanik, moleküler ve biyolojik faktörlerin etkileşimi söz konusudur (4).

Kemik skarlaşma yapmadan remodelling yoluyla iyileşir. Kırık iyileşmesi kırık oluşumuyla başlar ve düzenli kemik doku ile kemik uçları birleşinceye kadar devam eder (4). Kırık tespiti sonucu, çevredeki mekanik ortam kırık iyileşmesini iki farklı yolla gerçekleştirir. Kesin tespit (absolute stabilite) durumlarda primer (direk), fleksible (relative) tespit sağlanmış durumlarda sekonder (indirek) iyileşme olur.

Direk (primer) kemik iyileşmesinde kallus dokusu oluşmadan osteon remodellingi olur. Remodelling iki kırık fragman arasında çok iyi kompresyon varsa olur. Kırık oluşumundan birkaç hafta sonra havers sistemi gelişerek kemiğin remodellingi başlar. Kırık fragmanların arasındaki boşluk osteon yapılarla doldurulur.

İndirek (sekonder) kemik iyileşmesinde, kalus oluşumu normal kırık iyileşmesi mekanizmasını takip eder. İndirek kemik iyileşmesi embriyolojik kemik gelişimine benzer ve intramembranoz ve endokondral ossifikasyon içerir. Böylece kırık iyileşmesinde dört ana evre vardır (inflamasyon, yumuşak kallus, sert kallus oluşumu, remodelling).

Kırık iyileşmesinde evrelerin doğal gidişatı şunları içerir:

- a) Periosteal ve endosteal kallus oluşumu ve fragmanlar arası fibrokartilaj dönüşümü.
- b) İntramembranoz ve endokondral kemikleşmeyle kemik devamlılığının sağlanması.
- c) Nekrotik ve avasküler sahalarda yeni havers kanalları oluşumu.
- d) Remodelling.
- e) Fonksiyonel adaptasyon.

Primer kırık iyileşmesi genelde dış kallus dokusu oluşmadan iç kallus oluşumuyla devam eden temas (kontakt) iyileşmedir, ameliyatla iç sabitleme (internal fiksasyon) sonrası görülür. Sekonder kırık iyileşmesi ise ameliyatsız tedavi sonrası görülür. Histolojik olarak iyileşme evreleri sırayla değil birbiriyle iç içe görülür (6).

2.2.1. Kırık İyileşmesinin Evreleri

2.2.1.1. Yangı (inflamasyon) evresi: Kırık oluşumuyla birlikte matriks hasarı, periosteum ve endosteum yırtıkları, kırık uçlarının yer değiştirmesi gözlenebilir. Tüm travmalarda olduğu gibi kırık sonrasında da verilen ilk cevap inflamasyon yani “yangı”dır.

Oluşan travmayla birlikte kırık uçları periost ve çevre yumuşak doku hasarı oluşturur. Yırtılan küçük damarlar ve lenfatiklerden sızan kan ve lenf sıvıları aynı bölgede toplanır. Kanama olan bölgeye pıhtılaşmayı sağlamak amacıyla trombotik faktörler salgınır. Pıhtılaşma başlayınca da hem kırık uçları arasında hem de periost

altında hematoma meydana gelir. Hematom kırık uçlarını bir arada tutar ve sekonder iyileşmede önemli bir rol alır.

Açık kırıklarda ve cerrahi fiksasyon için açılan kırıklarda kırık hematoma dışarı boşaldığından iyileşme süreci biraz gecikir, hatta kaynamama bile gözlenebilir. Kırık hematoma fibrin yapıda bir iskelet oluşturarak onarım hücrelerine yardımcı olur. Ayrıca salınan büyüme faktörü ve bazı proteinler aracılığıyla periosteal hücre artışına ve matriks sentezi artışına yardımcı olur (1).

Kırık sonrasında önce geçici bir arterioller daralma olur, hemen sonrasında mast hücrelerinden histamin salınımıyla hem arterioller hem venüller hem de kılcal damarlarda genişleme gözlenir. Kırık bölgesinde kılcal damarların geçirgenliğinin artmasıyla da ödem oluşur. Son olarakda lökosit, monosit ve lenfositler ödemli bölgeye doğru yer değiştirirler.

Komşu havers sistemleri arasında çok yetersiz anastomozlar olması nedeniyle kırık hattının her iki tarafında bir miktar dolaşım bozukluğu oluşur ve nekroz gözlenir. Akut yangının başlamasında nekrotik dokular ve kırık bölgesinde açığa çıkan prostoglandinler etkilidirler (6).

Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olarak fibrin bakımından zengin bir hal alır. Lökosit ve makrofaj diapedezi ile fibrin matriks oluşur. Büyük kemik kırıklarında makrofaj ve monositler interlökin (IL)-1 salgırlar. IL-1 lenfosit göçünü, kemik geri emilimini (rezorbsiyon) sağlar ve ateş oluşumunda görev alır.

2.2.1.2. Onarım (yumuşak kalus, sert kalus) evresi: Onarım evresinin ilk aşaması hematoma organize hale gelmesidir. İyileşme evrelerinin en önemli kısmıdır. Çeşitli mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler farklılaşarak yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde ve destek hücreler oluştururlar. Onarım evresi kırık oluştuktan birkaç saat sonra başlar ama 7-12 gün içinde belirgin hale gelir.

Onarım mekanizmasında rol alan hücreler çok yönlü gelişim gücüne sahip hücrelerdir. Bu hücreler kırık bölgesindeki granülasyon dokusundan, periosteumun osteojenik tabakasından ve nadiren de endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başlayınca öncelikle kılcal damarlarla hematoma içine giren fibroblastlar değişikliğe uğrarlar. Üçüncü gün sonunda kırık uçlarında yoğun mezenşimal hücre mevcudiyeti vardır. Bu hücreler kırık uçları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu

oluşturur. Bu granülasyon dokusu periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle ve fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla oluşur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoid salgırlar. İyileşme sürecindeki kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı içindeki kollajenle orantılıdır. Kallus boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır.

Yaşlanmayla birlikte bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri azalır. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdaki uzaklaştırılması kırık iyileşmesini geciktirir (8-10).

Kırık bölgesinde mezenşimal hücrelerin çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosta ait damarlar, geç dönemde ise besleyici damarlar kılcal damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Kanla beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler osteoblastlara dönüşür, yakın olmayan kısımda kılcal damarların gelişim hızı hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondrosit ve kondroblastta farklılaşarak kırık dokuyu oluşturur (4,10). Onarımın ilk zamanlarında kırık dokuyu (kırık dokusu) belirginleşir. Kırık dokusunun damarlanmasından sonra kemik gelişimi başlar. Kan dolaşımı yeterli düzeyde olursa osteoblastlar kırık içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre; damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kırık dokuda proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlar ile kırık dokusu arasındaki bu itme kuvveti nedeni ile damarlanma engelleniyor gibi gözükmektedir. Ca bu negatif yükü pozitif olarak çevirerek, yeni damarların kırık dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla kemik kallus dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi için de osteoidin mineralizasyonu gereklidir (11).

Periostun iç (kambiyum) tabakasındaki Pluripotent Mezenkimal Hücreler (PPMH) kırık bölgesindeki erken dönem kemik yapımında rol alırlar. Bunlar doğrudan osteoblastlara farklılaşarak periosteal intramembranöz kemikleşmeyi başlatırlar. Yani periosttan kaynaklanan intramembranöz kemik yapımı, kırıktan hemen sonra başlar. Oluşan intramembranöz woven kemik kırık hattının her iki kenarına bitişik olarak görülmeye başlar ve kallus merkezine doğru ilerler. İnamembranöz kemikleşme sonucu meydana gelen kallusa kemik kallus (sert kallus) denir. İnamembranöz kemikleşme kırık sonrasında 8-16 günde periost altında belirgindir (12,13).

Bir yandan periostal kemikleşme devam ederken bir yandan da diğer çevre yumuşak dokulardan ve kandan gelen PPMH, hematoma yerini alan granülasyon dokusu içinde yer alırlar. Kırık sonrası 4. günde PPMH'in çoğalması ve farklılaşması ile kallus oluşumu başlar. Bu noktada yeni kemik oluşumu belirgindir. Bu hücreler fibroblastlara ve kondroblastlara farklılaşır ve granülasyon dokusunun merkezinde kırık dokusunu oluşturur. İlk kırık dokusunu 4. günde belirlemeye başlar.

Fakat kırık hattında ve çevresinde kırık dokunun görülmeye başlaması kırık sonrası 8. günde olur. Kırık iyileşmesinin 2. haftasının ortalarında kırık bölgesini yaygın olarak kırık dokusu kaplar ve kalsifikasyon için biyokimyasal hazırlığa başlarlar. Bu aşamadaki kallus kırık dokusu (yumuşak kallus) olarak bilinir (12,13).

Kırık kemik uçları iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapı oluşturur. Kallus gelişimi çocukta daha hızlı olur. Ayrıca trabeküller kemikte kompakt kemiğe göre daha hızlı olur. Kırık sonrası kallus oluşumu ve mineralizasyonu 4-16 haftayı gerektirir. Kallus kaynamanın bir belirtisi olmasına rağmen son nokta değildir. Onarım evresinin ortalarında gereksiz ve etkisiz kallus dokusunun geri emildiği remodelling başlar.

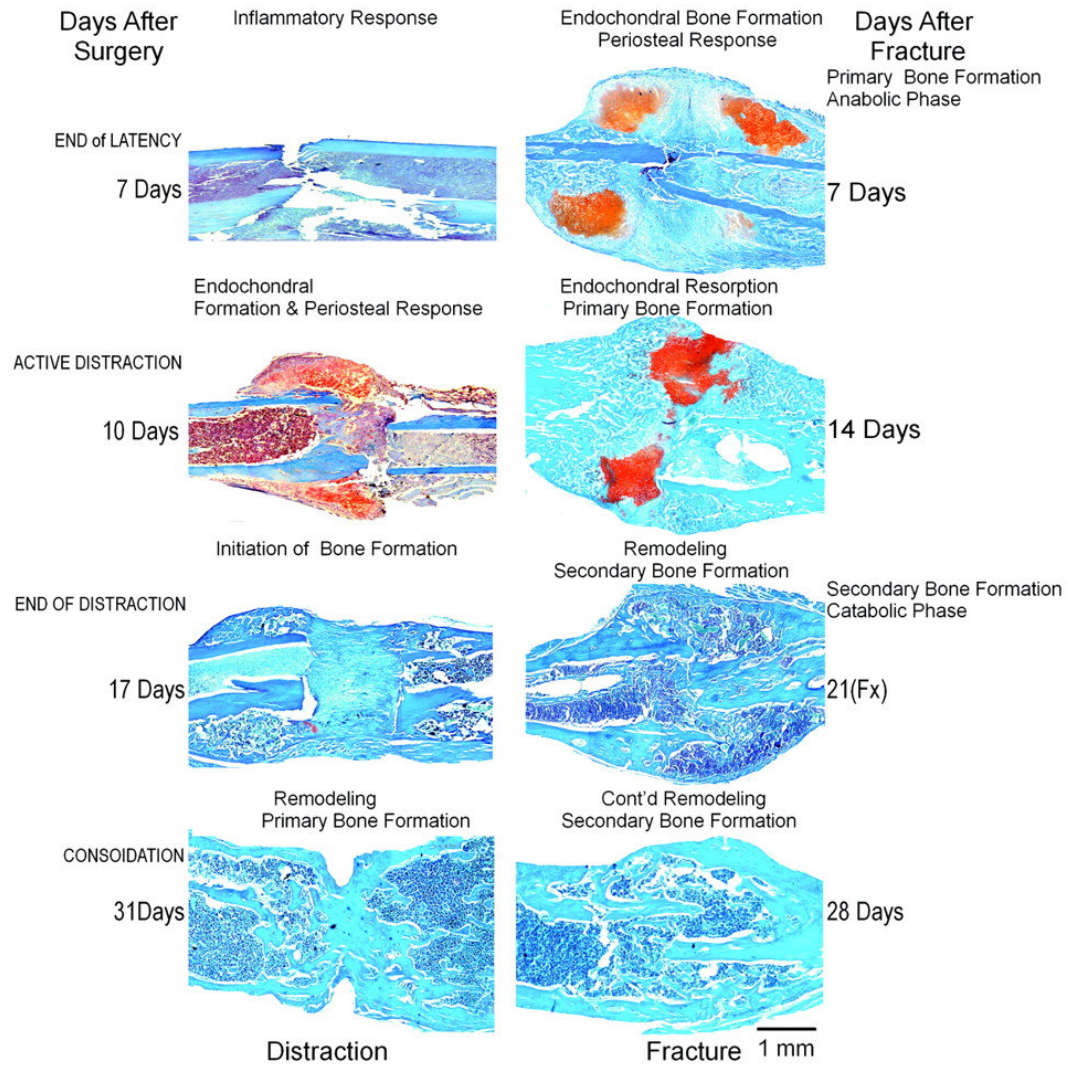
2.2.1.3. Yeniden şekillenme (remodelling) evresi: Kırık iyileşmesi evrelerinden en uzun sürenidir. Birkaç yıl devam edebilir Bu evrede güçlü ve düzensiz kallusun normale yakın güçteki düzenli lameller kemiğe dönüşümü gözlenir. Onarım evresinin ortalarında başlayıp 4-16 hafta sürebileceği gibi yıllarca da devam edebilir (14).

Yeniden şekillenme döneminde başlıca 4 olay gözlenir:

- 1- Kalsifiye kırık dokusu, osteoid dokuyla değişip birincil trabeküller dokuya dönüşür.
- 2- Lameller kemik dokusunun yerini alır.
- 3- Kompakt kemik uçlarındaki kallus lameller kemikten yapılan ikincil osteonlara dönüşür. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.
- 4- İlik kanalı dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus rezorbe olarak boşluklar yeniden düzenlenir.

1892 yılında Wolf, iskelet sistemindeki yapılanmanın, kemikler üzerindeki mekanik baskılara uygun bir yapılanma gösterdiğini ifade etmiştir. Daha sonra Wolf kanunu olarak

isimlendirilen bu kanuna göre kemiğin işlevsel durumundaki bir değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin dış bükey yüzü pozitif, iç bükey yüzü ise negatif elektrikle yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu dış bükey yüzde yıkım ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu iç bükey yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Sonuç olarak açılanma düzelir ve kemik düzgün duruma gelir. Kırık iyileşmesinin şematik görünümü şekil 4'te görülmektedir (11,12,15).



Şekil 4. Kırık iyileşmesinin şematik görünümü

2.3. KIRIK İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Kırık iyileşme süreci organize olmuş birçok hücre tipinin katkılarıyla gerçekleşen, bu süreç boyunca birçok faktörün etkili olduğu, hayli karışık fizyolojik bir süreçtir. Kırığın olduğu yer, kırık yerinin kanlanma özellikleri, kırığın açık veya kapalı oluşu ve muhtemelen kullanılan ilaçlar örneğin; steroidler, nonsteroid antienflamatuarlar (NSAİİ), antikoagulanlar gibi birçok değişken kırık iyileşmesini etkiler. Şayet kırık uçları birbirine çok yakınsa, kırık uçlarında yeterli tespit yapılmışsa, kemiğin kanlanması iyiye, kırık yeri yumuşak doku örtüsü iyi ve iltihap yoksa genelde kırık iyileşir (16).

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler sistemik ve lokal olmak üzere başlıca iki ana grupta incelenebilir (6,10,17-20).

2.3.1. Sistemik Faktörler

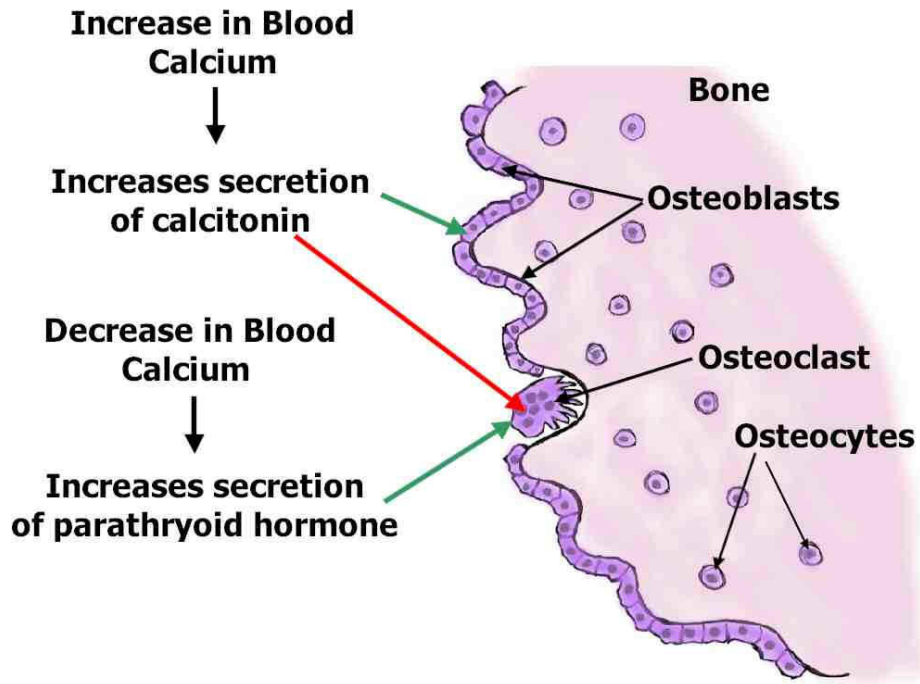
2.3.1.1. Yaş: Hasta yaşı ile kırık iyileşme süreci birbiri ile direkt bağlantılıdır. Çocukluk çağında revaskülarizasyon ve mezenşimal hücre farklılaşması oldukça hızlı seyredir. Bu nedenle çocuklarda kırık iyileşmesi erişkinlerden daha hızlıdır.

2.3.1.2. Beslenme durumu: Kırık iyileşmesi çok hassas dengeler üzerine kurulu bir sistemdir. Çok basit açlık durumunun kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği deneysel modellerde gösterilmiştir.

2.3.1.3. Hormonlar:

a) Büyüme hormonu: (Human growth hormone) tüm vücudun dokuların büyümesinden sorumlu bir hormondur. Uzun veya kısa olmak hormon seviyesine bağlıdır. Cinsiyet hormonları ile birlikte çalışır. Yeni kemik oluşumunu stimule eder. Epifiz plağında kırıkta hücrelerin dejenerasyonuna sebep olur. Kırık iyileşmesi üzerine etkileri halen tartışmalıdır. Büyüme hormonu miktarındaki azalmanın kırık iyileşmesini yavaşlattığına ait çalışmaların varlığı yanında bu hormon miktarındaki fizyolojik sapmaların kırık iyileşmesinde çok az etkisi olduğuna ait çalışmalar da mevcuttur. Büyüme hormonunun, kallus hacminde artışa sebep olduğu belirtilmektedir (20,22-24).

b) Paratiroid Hormon (PTH): Kemik dokusu Ca^{+2} iyon deposudur. Diğer dokulara nazaran 500-1000 kat daha fazladır. PTH'ın osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyararak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Osteoblastların üzerine dolaylı etkisi olsa da, net sonuç kemik kaybı ve kırık iyileşmesinin yavaşlamasıdır (şekil 5) (27-29).



Şekil 5. Paratiroid hormonun etki mekanizması

c) Kalsitonin: PTH'un antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır. Ancak iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır.

d) İnsülin: Kemik ve kollajen dokuların büyümesinde ve metabolizmasında çok önemli rol oynar. Kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Proteine bağlı kalsiyum artışını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur. Hayvan modellerinde diyabet varlığının mezenkimal hücre proliferasyonunu inhibe ederek kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği ortaya konarken, insülinin kemikteki kollajen sentezini stimüle edici etkisi son derece önemli bir durum olarak belirtilmiştir (30-32).

e) **Tiroid hormonu:** Tiroid hormonu da paratiroid hormonu gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder. Kırık iyileşmesine de yardım ettiği ileri sürülmüştür.

f) **Cinsiyet hormonları:** Androjen ve estrogenler normal kemiğin büyümesinden ve gelişiminden sorumludur.

g) **Kortikosteroidler:** Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Mezenşimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli moleküllerin sentezini yavaşlatıp, kırık iyileşmesini geciktirir. Ayrıca kallus oluşumunu azaltır. Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü (FDGF), epidermal kaynaklı büyüme faktörü (EGF), ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (33-36)

2.3.1.4. Sistemik hastalıklar: Diyabetes mellitus, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi sistemik hastalıklar da kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerdeki proteolitik enzimler matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi ile ilgili hastalıklardaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporozu neden olur.

2.3.1.5. Vitaminler: A vitamini normal dozda mezanşimal hücre farklılaşmasını uyarak kırık iyileşmesine yardımcı olur. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir. A vitamini fazlalığındaysa hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırık kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir. C vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler (37). D vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır.

D vitamini eksikliğinde kalsiyum düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. D vitamini kalsiyumun kemikten kana geçişini ve kemik hücrelerinde sitrat üretimini artırır.

Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Sonuç olarak; D vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki gösterir. B5 vitamini eksikliği ve K vitamini antagonistleri kırık iyileşmesine olumsuz etki ederler.

2.3.1.6. İlaçlar:

a) **Antikoagülanlar:** Bu grup ilaç alan hastalarda oluşabilecek kırıklarda iyileşme sürecinde genellikle önemli bir farklılık saptanmamıştır. Bunun yanı sıra heparin ve kumadin sağaltımında iyileşmelerin sınırlı kalabileceği de vurgulanmıştır.

b) **Nonsteroid anti-inflamatuarlar:** Etki mekanizması tam olarak belirtilmemiş olsa da kırık iyileşmesi üzerine inhibe edici etkisi saptanmıştır. Deneysel çalışmalar NSAİİ'ların kemik matriksinin osteoindüktif içeriğini değiştirmediğini ancak inflamatuvar cevabı azaltarak ve prostoglandin sentezinin inhibe ederek etkili olduğunu göstermiştir. Başka çalışmalar ise NSAİİ'ların osteogenezisin erken dönemindeki kan akımı artışı engelleyerek ya da mezenkimal hücre proliferasyonunu azaltarak etkili olabileceği göstermiştir.

2.3.1.7. Merkezi sinir sistemi travmaları: Travmatik beyin hasarlı hastalarda uzun kemiklerde ve eklemlerde artmış bir osteogenesis saptanmıştır.

2.3.1.8. Diğer maddeler:

a) **Nikotin:** Sigaranın kemik, eklem ve adale sağlığı üzerinde de olumsuz etkileri saptandı. Amerikan Ortopedik Cerrahlar Akademisi Kongresi'nde yapılan açıklamada, nikotinin, kemiklerin iyileşmesini yavaşlattığı belirtildi. Sigaranın C ve E vitaminlerinin antikanserojen etkisini azalttığını da vurgulayan uzmanlar, sigara tiryakilerinin kemiklerinin daha çabuk kırılabileceğini kaydettiler. Sigara içiminin kırık iyileşmesindeki inhibe edici etkisi deneysel modellerde gösterilmiştir. Bununla birlikte nikotinin kırık iyileşmesi ve füzyon üzerine olumsuz etkisinin osteoindüktif kemik büyüme faktörü ile azaltılabileceği de belirtilmiştir.

Tütün ürünlerini kullanan bireylerde kaynamama (nonunion) oranının 2-4 kat daha fazla olduğu başka çalışmalarla da gösterilmiştir. Tavşanla yapılan deneysel posterolateral spinal füzyon modelinde spinal füzyon sırasında sitokin salınımı üzerine nikotinin etkileri araştırılmış ve nikotinin sitokinlerin salınımı inhibe ettiği bundan dolayı neovaskülarizasyon ve osteoblastik dönüşümü olumsuz etkilediği gösterilmiştir.

2.3.1.9. Sistemik büyüme faktörleri: Polipeptid yapıda olan büyüme faktörleri hücre fonksiyonunun lokal düzenleyicisidirler. Kırık oluşumu sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda değildir.

Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf, sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici "coupling" faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir.

a) Prostaglandinler (PG): Hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. Araşidonik asitten siklooksijenaz enzimi yardımıyla her biri doymamış bağlantıya sahip iki yan zincirle birlikte bir veya iki halka ile meydana gelen değişik prostoglandinler oluşur. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenir. İltihap hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Güçlü vazodilatatördürler. Hücre çoğalmasını hızlandırırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler (immün düzenleyici özellik). Hücre içine ve dışına Ca hareketini kolaylaştırır. PGE2 ve PGI2' nin kemik geri emilim (rezorpsiyon) gücü fazladır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır. PGF2 alfa, kondrogenezis ve kondroliziste etkilidir. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; EGF, transforme edici büyüme faktörü (TGF)-alfa, PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE2 aracılığıyla göstermektedir. PGF'nin de kemik gelişimini hızlandırdığı hakkında görüşler vardır. Nonprostanoid EP-2 reseptör selektif PGE-2' nin, rat modelinde lokal kemik yapımını arttırdığı ve kırık iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür.

b) Kemik uyarıcı faktörler: (8,10,19-21) Farklılaşmamış mezanşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar.

I. TGF-beta: Dönüştürücü büyüme faktörüdür. İltihap ve doku tamirinden sorumludur. Tüm hücreler moleküler formlarının birinde TGF-beta oluştururlar ve tüm hücreler bu faktörün reseptörüne sahiptir. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir.

TGF-beta kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve encondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin reseptörlerini uyararak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar. Sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumuna etki eder.

- II. Kemik kaynaklı morfojenik protein (BMP):** Yaralanan kemik kaynaklı morfogenetik proteindir. Mitojenik ve dönüştürücü bir faktördür. Mezanşimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektojik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (38-39).
- BMP 1-10 olmak üzere 10 alt grubu vardır. Bunlardan BMP-1, TGF-beta ailesinin alt grubuna bağlı değildir. BMP-7 osteojenik protein 1, BMP-8 ise osteojenik protein 2 olarak bilinir. BMP-2 osteblastik aktiviteyi en çok etkileyen faktördür (41-44).
- III. FGF:** Fibroblast kaynaklı büyüme faktörüdür. Kırıkta ve fibroblastlar için mitojeniktir (40). Kırıkta oluşumu aşamasında kallusu genişletir. Yüksek dozda kemik gerilimini artırır.
- IV. PDGF:** Trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezanşimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır.
- V. İnterlökinler:** Makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler.
- VI. Plazma Fibronektini:** Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.
- VII. Somatomedin C:** İskelet sistemi üzerinde büyüme hormonunun arasındadır. Kondroblastların bölünme ve farklılaşmalarını, ayrıca kemik matriksi oluşumunu uyarır.
- VIII. EGF:** Epidermal büyüme faktörüdür. Kemik geri emilimini hızlandırır.
- IX. Kondrosit kaynaklı büyüme faktörü (CDGF):** 2 tipi vardır ve Tip II kollajen ve hyaluronik asit için düzenleyicidir.
- X. Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü (MDGF):** Sıçanlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir.
- XI. Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü (ECGF):** Kırıkta ve kemik için mitojeniktir.

XII. Endotelial hücre kaynaklı büyüme faktörü (ECDGF): Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

2.3.2. Lokal Faktörler

2.3.2.1. Travmaya bağlı nedenler: Çok parçalı, açık ve kirli yaralanmalarda kırık iyileşmesi gecikmektedir. Eğer kırık sahasının kanlanması iyi değilse ve kırık fragmanları canlı değilse kallus oluşumunda problemler olacaktır. Kırığın deplase olması travmanın şiddetinin büyük olması kan dolaşımını bozarak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (1).

2.3.2.2. Tedaviye bağlı nedenler:

a) Yeterli şekilde ve sürede tespit kırık kaynamasının temel prensibidir. Stabil bir fiksasyon kırık iyileşmesini arttırırken erken yük verilmesine olanak sağlayan tesbitler mikro hareketlerle kırık iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Stabilizasyon yapılırken kanlanmayı olumsuz yönde bozan yumuşak doku ve kemikteki tahribat kaynamayı olumsuz yönde etkiler. Ultrasonun kırık iyileşmesindeki etkilerini ortaya koymak için birçok çalışma yapılmıştır. Klinik çalışmalarda ekstrakorporal şok dalgalarının uzun kemiklerde kırık iyileşmesinde etkili olduğu ve gecikmiş kaynama ya da kaynamama durumlarında faydalı olabileceği bildirilmiştir. Deneysel hayvan modellerinde aralıklı hiperbarik oksijen uygulamasının kırık iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilmiştir.

b) Fiksasyon: Kemik kırık iyileşmesinde biyolojik internal tespit çok önemlidir. Kırık stabilizasyonu ve kemiğin biyolojik fonksiyonu arasında çok ince vital balans vardır. Bugünkü konsept kırık iyileşmesinde stabilite ve biyolojik integrason arasında iyi balans sağlanmasıdır. Daha az zarar vermek redüksiyonu kusursuz yapmaya uğraşmamak ve daha az stabil fiksasyon sağlamaktan geçer. Atravmatik yaklaşım, kırık çevresindeki yumuşak dokuya zarar verilmemesi, bu da uygun cerrahi yaklaşımın seçilmesi ile olur. Kırık tedavi prensipleri günümüzde anatomi, stabilite, biyoloji ve mobilizasyondur. Bu prensiplerin aynı kalması ile birlikte, kırık tespitinde metod ve teknikler yeni implantların çıkması ile sürekli değişmektedir. Gelişen teknoloji kırık tedavisinin çok ötesine gitmiştir. Yanlış kırık bakımına bağlı ortaya çıkan komplikasyonlar, dejeneratif hastalıkların tedavisi, deformitelerin düzeltilmesi gibi

problemler gittikçe yaşlı populasyonun artışı ile daha çok önem kazanmaktadır. Kırık tedavisinde konvansiyonel intramedüller çividen kilitli çiviye, reamerizeden reamerize edilmeyen çivilemeye, plak tespitinde kesin tespitten (absolutely stable), göreceli (relatively stable) fiksasyona, kompresif plak fiksasyonundan kilitli internal tespite kırık iyileşmesini pozitif yönde etkileyen faktörlerdir.

2.3.2.3. Travma, sağaltım veya komplikasyonlara bağlı nedenler:

Kemiklerde dejeneratif, metabolik, tümöral, enfeksiyon, radyasyon gibi nedenlere bağlı olarak kırılmaya eğilim artabilir ve ufak bir travma ile kırıklar gelişebilir. Kırılan kemik bölgesinde lokal malign tümörler ya da enfeksiyon varlığında bölgedeki malignite ve enfeksiyona ait hücreler nedeniyle kırık iyileşmesinde sorunlar yaşanabilir. Bu olgularda altta yatan sebebe yönelik sağaltım yapılmadan sağlıklı bir kırık iyileşmesi güç bir ihtimaldir.

Mevcut patolojinin varlığına bağlı olarak iyileşme oranı ve süresi değişmekle birlikte osteoporoz gibi malign olmayan lezyonlarda kırık kaynamasına osteoporozun olumsuz etkisi olmadığı belirtilse de kaynama yüzey miktarındaki azlıktan dolayı kırık bölgesinin sağlamlaşmasında süre daha fazla olarak saptanır.

Tüberküloz, bruselloz gibi enfeksiyöz olaylarda kırık sahasındaki hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesi etkilenir, artan lökositlerin proteolitik enzimleri matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumu engellenir.

2.3.2.4. Enfeksiyon: Enfeksiyonun kırık iyileşmesindeki olumsuz etkileri ile nonuniona sebep olduğu bilinen bir gerçektir. Enfeksiyöz materyal fibröz kallus oluşumunu engeller. Bu olgularda enfeksiyon kontrol altına alınabilirse sahada yoğun kollajen skarın oluştuğu bildirilmiştir. Enfeksiyon kırık bölgesine eksojen olarak açık yaralanmalarla, iatrojenik olarak cerrahi müdahalelerle çok ender olarak da sistemik enfeksiyonun kırık bölgesine gelmesi ile oluşabilir. Enfeksiyon kırık bölgesindeki granülasyon ve kemikleşme evrelerindeki dokuları olumsuz etkileyerek ve enfeksiyöz nedbe dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini olumsuz etkiler.

2.4. STATİNLER

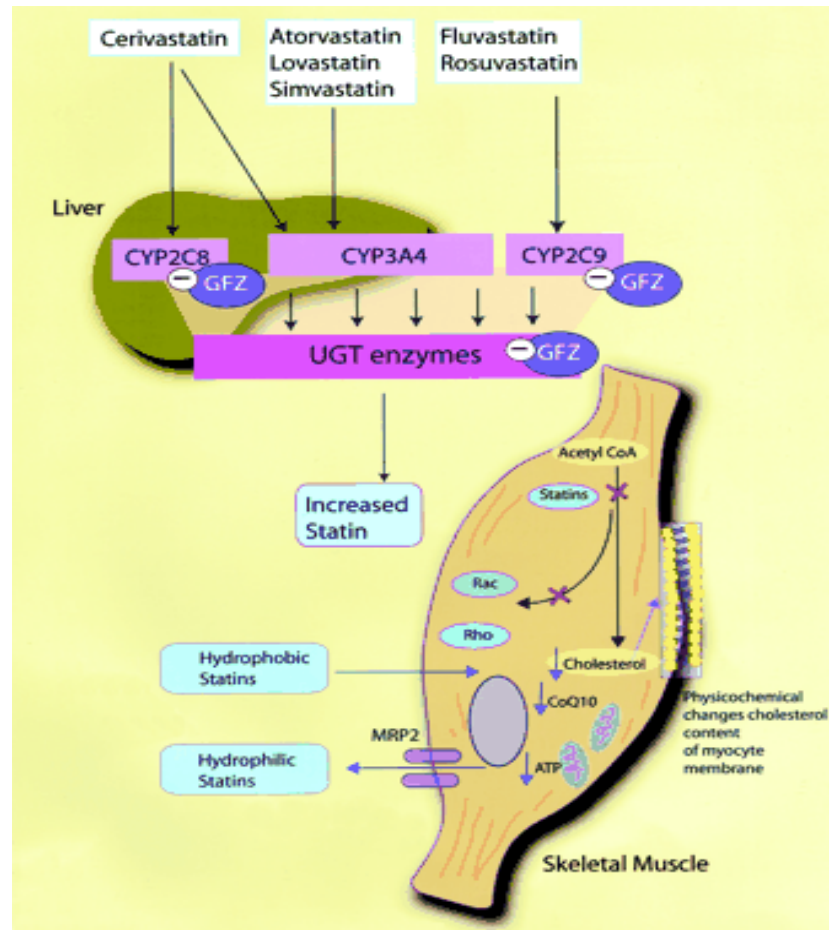
Özellikle batı toplumunda koroner arter hastalığına bağlı mortalite ve morbidite ön sıraya yerleşir. Hem klinik deneme sonuçları, hem Amerikan Milli Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program) kılavuzları, hem de LDL kolesterolunun düşürülmesine verilen önemin artmasından dolayı kolesterol düşürücü ilaçların tedavideki rolü gittikçe artmaktadır. Tüm dünyada kolesterol düşürücü ilaçlar, en yaygın kullanılan ve en pahalı ilaçların arasında yer alırlar. En güçlü kolesterol düşürücü ilaç grubu olan statinler, bu etkilerini tipik olarak 24 saatte 1000 mg dolayında vücutta sentezlenen kolesterolün sentez yolunda (mevalonat yolu) HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederek gösterirler . En güçlü kolesterol ve trigliserid düşürücü statinler olan Atorvastatin ve Simvastatin LDL kolesterolü %30-55 oranında azaltırlar.

Günümüzde statinlerin kullanım alanları kardiovasküler hastalıkların önlenmesinin dışına taşmıştır. Koroner kalp hastalığında hem birincil (koruyucu) hem de ikincil (hastalığın baş göstermesinden sonraki) tedavide kullanılan statinlerin daha fazla olumlu etkilerinin olduğu tahmin edildiğinden, yangı (enflamasyon) ile kemik metabolizmasındaki rolü ve bunama (demans), tümör büyümesi (neoplazm) gibi diğer hastalıklarda kullanımı konusunda araştırmalar sürmektedir. Gelecekte yapılacak olan çalışmalar, statinlerin etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması ve klinik sonuçlar üzerine yoğunlaşacaktır.

Statinlerin yan etkileri arasında miyopati, miyozit ve rabdomiyoliz bulunur. Statin kullanımıyla miyositlerin hücre membranlarındaki kolesterolün azalması, membran stabilitesini etkileyip miyopatiye sebep olabilir. Bu da statinlerin masum olmadığı ve sağlığa zararlı olabileceğini düşündürmüş, bazı soruları gündeme getirmiştir (48). Hatta rabdomiyoliz yaptığından dolayı cerivastatinin satışı durdurulmuştur (49).

Statinlerin metabolizması sitokrom P-450 (CYP) ve/veya uridin glukuronil transferaz (UGT) enzim sistem seviyesinde olur. Statin metabolizmasında baskın olan CYP izoformları şekil 6'da gösterilmektedir. Cerivastatin, atorvastatin, simvastatin ve lovastatin metabolizmasında en yaygın izoform CYP3A4'tür. Gemfibrozil (GFZ) etkisini statinlerin glukoronidasyonunu baskılayarak gösterir.

Spesifik UGT, gemfibrozilin ve aynı zamanda statinlerin de glukoronidasoyunda yer alan enzimdir. Gemfibrozil CYP2C8 ve CYP2C9 enzimlerini de inhibe eder. Kas hücre membranında kolesterolün azalması ile guanozin trifosfat (GTP) bağlayan (Rho ve Rac) proteinlerin aktivitesi, ubiquinone veya Q10 (CoQ10) ve ATP azalır. Bunların hepsi kas hücresine fizyolojik zarar verir. Kas hücresinde bulunan ve statinlerin kaslardan atılımına yardımcı olan çoklu ilaç direnci (multiple drug resistance) proteininin (MRP2) ekspresyonu da etkilenir.



Şekil 6. Statinlerin miyotoksisite mekanizması

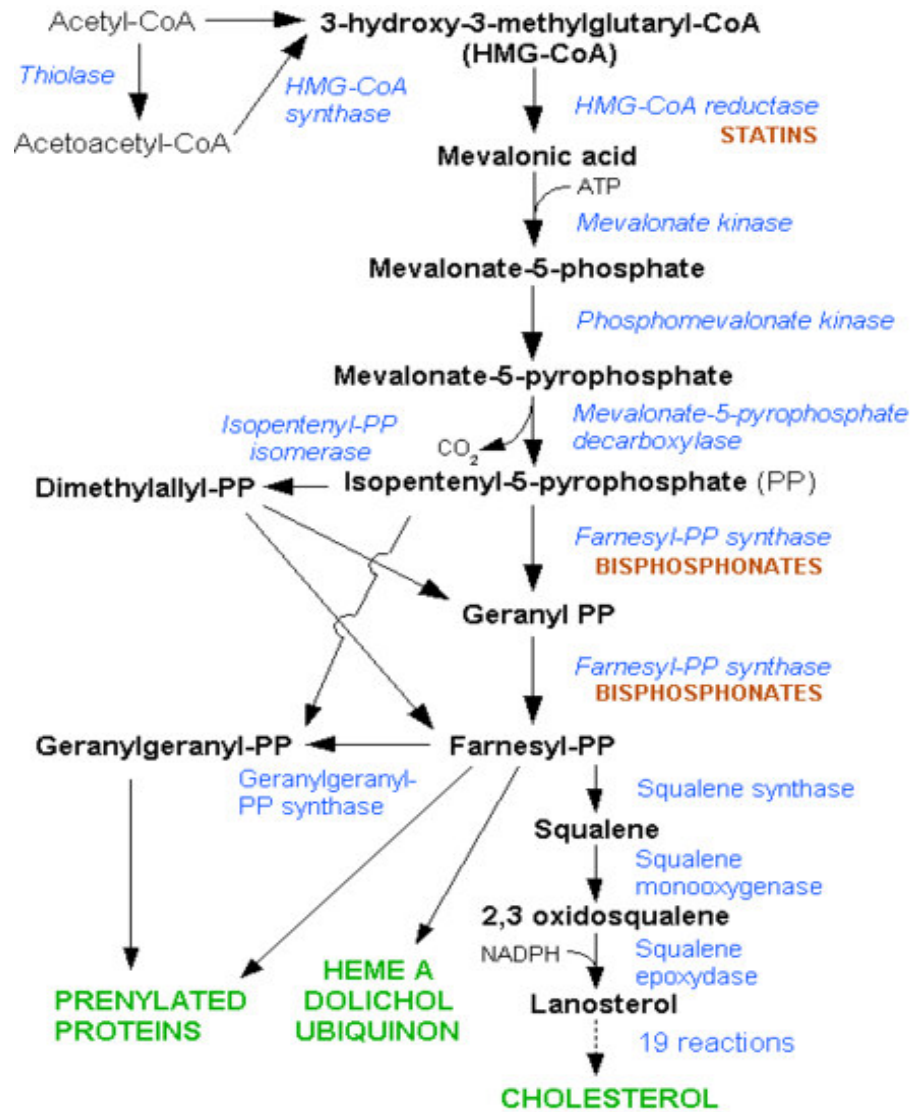
Hayat boyunca kemiğin durmadan remodelling olması iskeletin integrasyonunu sağlar. Bu olayın tam oturması kemiğin rezorbsiyonu ve yapımı arasında ince bir balans olma sonucu ancak mümkün olabilmektedir. Balansın bozulması da, düşük veya yüksek kemik dansitesi olan patolojik durumlarla sonuçlanır. Düşük kemik dansitesi ile birlikte kemiğin yapısal elementlerinin kaybolması kemiğin mekanik destek gücünü ortadan kaldırarak kemiğin çok kırılabilir bir hale gelmesine (bone fragility) neden olur. Bu da küçük travmalarla kemiğin kırılması ile sonuçlanır. Kemik dokusu rejenerasyon özelliğine sahiptir ve yaralanan kemik dokusu şekil ve fonksiyonunu yeniden kazanabilmektedir. Fakat yaralanma boyutu büyük olduğu zaman iyileşme sınırlı kalmaktadır. Kemik iyileşmesi ve kemik kırıklarının önlenmesinde statin kullanımı ile ilgili bilim adamlarının yaptıkları çalışmalarda statinlerin pozitif etkisi olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda mevalonat yolunun iskelet sistemi üzerinde önemli rolü olduğu görülmüştür (şekil 7) *In vitro* ve hayvan çalışmalarında statinlerin osteoblast farklılaşmasını uyarıcı bir protein olan kemik morfogenetik proteini-2 (BMP-2) sentezini arttırdığı görülmüştür (42-44). Kemik morfogenetik proteini 1965 yılında URİST tarafından tanımlanmış ve daha sonra yapılan birçok hayvan deneyi çalışmasında BMP-2 nin kemik defekti iyileşmesini sağladığı gösterilmiştir. BMP-2 bütün morfogenetik proteinler arasında en yüksek osteoindüktif etkiye sahiptir (47). Yapılan çalışmalar sonucunda BMP-2 nin uygulanan dozu ile oluşan yeni kemik miktarı arasında ilişki olduğu ve yüksek dozda BMP-2 uygulandığı zaman elde edilen yeni kemik miktarının da fazla olduğu tespit edilmiştir (42-46). Yapılan çalışmaların çoğunda (hepsinde değil) özellikle kalça kırığı riskini azalttığı gösterilmiştir. Kontrol çalışmalarında statinlerin kemik kütlesini arttırdığı, kemik turnoverını azalttığı görülse de hala etkileri çelişkilidir. Osteoporozda kullanılan diğer ilaçlar; östrojen, bifosfonatlar, kalsitonin, kemik kütlesini koruyarak veya hafif artırarak kırık oluşumunu azaltırlar. Statinler ise HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederek endojen kolesterol seviyesini azaltırlar. LDL kolesterol seviyesinin azalması statinlerin dozuna bağlıdır. Statinlerin kemik oluşumunda rol alan diğer büyüme faktörleri üzerinde etkilerinin olup olmadığı araştırılmış ve statinlerin vasküler endotelial büyüme faktörü salınımını da belirgin olarak arttırdığı tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalara göre, uygulanan BMP-2 dozu arttırılınca elde edilen kemik miktarının arttığı bilinmektedir. Statinlerin mevalonat

yolu üzerindeki etkileri kısaca şöyle tanımlanabilir: Kompetatif inhibisyonla statin grubu ilaçlar kolesterol biyosentezinde hız belirleyici enzim olan HMG-CoA redüktazı inhibe eder. Böylece HMG-CoA'nın mevalonata dönüşümünü baskılar (50). Burada, statinler sadece kolesterol biyosentezini değil, aynı zamanda mevalonat yolunda ara ürünlerin sentezini de baskırlar (örneğin; farnezilpirofosfat, geranilgeranilpirofosfat). İzoprenoid olarak bilinen bu ara ürünler hücre içerisinde iletişim rolü oynayan sinyal proteinlerinin posttransyonel modifikasyonunda yer alırlar (örneğin; GTP-bağlayan proteinler Ras ve Rho). Statinlerin bu etkisine pleiotrofik etki denir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda statinlerin transdermal uygulanmasının iskelet metabolizmasını daha fazla etkilediği görülmüştür (ilk geçiş metabolizması) (51-58). Sugiyama ve arkadaşları simvastatinin osteosarkom hücrelerinde BMP-2 yi arttırdığını, pravastatinin arttırmadığını göstermişlerdir. Mundy ve arkadaşları Bir çalışmalarda 35 gün po (per oral) 5-10 mg/kg simvastatin kullanımıyla, osteoklastların %15-33 azaldığını göstermişlerdir (52). Woo ve arkadaşları statinlerin antiresorbif etkileri olduğunu hayvan çalışmalarda göstermişlerdir. Wang ve arkadaşları statin ve kalça kırıkları arasındaki ilişkiyi vaka-kontrol çalışmalarda takip etmişler, statin kullanan grupta kalça kırıklarının kullanmayanlara göre 2 kat daha az olduğunu belirtmişlerdir (41).

Statinlerin yaşlı popülasyonda kullanımının kırık riskini nasıl etkilediği ile ilgili çalışmalar yetersizdir. İngiltere'de (UK General Practice Research Database) Meier ve arkadaşları tarafından yapılan vaka-kontrol çalışmasında, statin kullanan 50 yaş üzeri hastalarda kırık riskinin statin kullanmayanlara göre %45 daha az olduğu belirtmiştir (66). Başka bir vaka-kontrol çalışmasında, Wang ve arkadaşları tarafından statin kullanan 6110 hasta (65yaş ve üstü) takip edilmiştir ve kalça kırığı riskinin statin kullanmayanlara göre %43-50 arası düştüğü görülmüştür (41). Her iki çalışmada statin dışındaki lipid düşürücü ilaçların kullanımının kırık riskini azaltmadıkları görülmüştür. Cummings ve Bauer, statinlerin kırık riskini azaltıcı etkisinin randomize klinik çalışmalarda desteklenmesi gerektiğini ve ancak bu çalışmaların sonucunda statinlerin kırık önlenmesi amacıyla kullanılabilir hale gelebileceklerini vurgulamışlardır (67).

2002 yılında European Journal of Clinical Investigation'da yayınlanan bir çalışmada, statinlerin postmenopozal kadınlarda kemik turnoverını azalttığı gösterilmiştir. Osteoporoz tedavisinde statinlerin güçlü ajanlar oldukları öne sürülmüştür. Uzun süren tedavilerde kırık riskini azalttıkları, kemik kütlesini arttırdıkları belirtilmiştir. Çalışmada statinlerin Ca hemostazına, kemik turnoverine ve kemik mineral dansitesi üzerine etkisi araştırılmış, 140 postmenopozal kadına 2 yıldan fazla (ortalama 4 yıl) statin tedavisi verilmiştir. Paratiroid hormonlarına, kemik turnover markerlarına ve kemik mineral dansitelerine bakılmıştır. Sonuç olarak statin kullanan gruptaki hastalarda, kullanmayanlara göre plazmadaki kemik turnover markerları daha düşük olarak bulunmuştur. PTH seviyelerinin de statin kullanan grupta %16 daha düşük olduğu görülmüştür. Lomber vertebralarda, kalça, ön kol ve hatta tüm vücutta kemik mineral dansitelerinde, statin kullanan ve kullanmayanların arasında fark görülmemiştir. Bu çalışmada statinlerin kemik hücrelerinin fonksiyonunu etkilemekte ve aynı zamanda antirezorptif etkiye de sahip oldukları gösterilmiştir.



Şekil 7. Mevalonat yolu ve statinlerin etki mekanizması

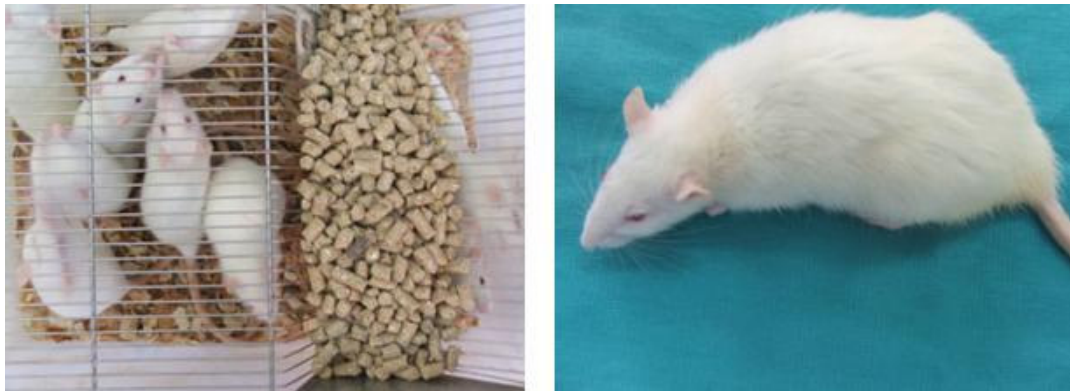
3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Nisan-Mayıs 2008 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki hayvan laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma Radyoloji, Patoloji, Biyoistatistik Anabilim Dallarının ve Gıda Mühendisliği bölümünün katkılarıyla gerçekleştirildi. Çalışmaya başlanmadan önce Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve İnceleme Komisyonundan deney hayvanları etik kurul onayı alındı (Karar tarihi: 05-03-2008, No: 03-2008/37).

Bu çalışmada, 50 adet Sprague-Dawley cinsi erişkin dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, rastgele seçilerek 30 ve 20 olacak şekilde 2 ayrı kafeste bakıma alındı. Kafeslerden 30 hayvan içereni atorvastatin grubu diğeri 20 hayvan içereni kontrol grubu olarak ayrılıp kafes üzerine gerekli bilgiler yazıldı.

Atorvastatin grubundaki sıçanların ortalama ağırlıkları 280 gr, kontrol grubundaki sıçanların ortalama ağırlıkları 290 gr olarak bulundu. Sıçanlar fizyoloji laboratuvarındaki optimal rat barınağında, ortalama 22 derece santigrat sabit sıcaklık ve 12 saat ışık, 12 saat karanlık sağlanacak şekilde muhafaza edildi (resim 3).

Sıçanlar çalışma boyunca tek tip palet yem ve damacanalarla sağlanan kaynak suyu ile beslendiler.



Resim 3. Deneyde kullanılan ratlar

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

2 ana çalışma grubu belirlenip bu gruplar da kendi içlerinde 8,14 ve 28. günlerde incelenmek üzere üçer alt gruba ayrıldılar.

GRUP 1 (n=30): Atorvastatin grubu

GRUP 1A (n=10): Atorvastatin grubu 8. gün

GRUP 1B (n=10): Atorvastatin grubu 14. gün

GRUP 1C (n=10): Atorvastatin grubu 28. gün

GRUP 2 (n=20): Kontrol grubu

GRUP 2A (n=7): Kontrol grubu 8. gün

GRUP 2B (n=7): Kontrol grubu 14. gün

GRUP 2C (n=6): Kontrol grubu 28. gün

3.2. KIRIK MODELİ OLUŞTURULMASI

3.2.1. Anestezi

Çalışmada kullanılan ratlara solunum yollarının tıkanmasını engellemek amacıyla antikolinergik ilaç olarak 0.18 mg/kg atropin sülfat (Atropin amp. ®, Biosel, İstanbul) intramuskuler (İM) olarak verilip anestezi premedikasyon sağlandı. İşlem öncesi profilaktik antibiyoterapi olarak 50 mg/kg sefazolin sodyum (Sefazol flk. ®, Mustafa Nevzat, İstanbul) intramuskular enjeksiyonu yapıldı.

Operatif anestezi amacıyla 50 mg/kg ketamine hidroklorid (Ketalar flk. ®, Parke Davis, İstanbul) intraperitoneal olarak uygulandı. Anestezi durumu 5 dakikada bir sıçan derisi sıkıştırılarak verilen tepkiye göre izlendi.

İşlem sonrası analjezi amacıyla 10 mg/kg dozunda morfin HCL (Morfin HCL amp. ®, Biosel, İstanbul) subkutan olarak uygulandı.

3.2.2. Kırık Modeli Oluşturulması ve Tesbit Yöntemi

Anlatılan yöntemle anestezi sağlandıktan sonra betadine solüsyonu ile lokal saha temizliği yapıp ratlar steril yeşil örtülerle örtüldü. Sol diz anteriordan yaklaşık 5 mm insizyonla girilip cilt ve ciltaltı doku geçildi. Tibia platosu ön yüzünden 0.5 mm'lik

matkap ucuyla girilip tibia medullası açıldı. Daha sonra 3 nokta bükme prensibine uygun olarak tibia cisim kırığı oluşturuldu (56,57).

Kırık sonrasında 0.3 mm kalınlığındaki enjektör iğneleri yardımıyla intramedüller tesbit sağlandı (55). Açılan insizyon yeri 4/0 ipek ile primer basit suture tekniği ile dikildi (Resim 4, 5).



Resim 4. Rat tibiasının medullasının oyulması



Resim 5. Tibia kırığının intramedüller tesbiti

3.2.3. İlaç Uygulaması

Deney grubundaki tüm ratlara standart olarak aynı işlemler uygulandıktan 1 gün sonra kontrol grubu dışındaki tüm çalışma grubu ratlarına günlük %0.9 izotonik solüsyonu içinde sulandırılmış atorvastatin (Saphire 20 mg. tb. ® Sanovel İlaç San. ve Tic. A. Ş./İstanbul) gavage yöntemi ile po 10 mg/kg dozunda uygulanmaya başlandı.

3.2.4. Deneylerin Sonlandırılması

İlaç uygulanan gruplardaki ratlar ve kontrol gruplarındaki ratlar sırayla 8., 14. ve 28. günlerde harvest edilerek deneyler sonlandırıldı.

3.3. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

- 1-Radyolojik inceleme
- 2- Biyomekanik inceleme
- 3- Histopatolojik inceleme

3.3.1. Radyolojik Değerlendirme

Radyolojik değerlendirme için 8., 14. ve 28. gün grupları kullanıldı. Konvansiyonel radyografi cihazında direkt grafiler çekildi.

Çekim için 10 adet (çalışma) ve 7 adet (kontrol) sıçan bacağı grubuna göre çekim yapılacak zemin üzerine ön arka grafi çekilecek şekilde yerleştirilmek suretiyle her grup için tek büyük kasete çekim yapıldı. Grafiler birbirinden habersiz üç farklı uzman tarafından değerlendirilip ortalamaları alındı. Sonuçlar Lane ve Sandhu sınıflamasına göre değerlendirildi (58). Bu sınıflamaya göre:

- 0= Kallus yok.
- 1= Kallus formasyonu var.
- 2= Kemiksel kaynama başlangıcı.
- 3= Kırık hattının görülmemesi
- 4= Tam kemiksel kaynamanın görülmesi şeklinde değerlendirildi.

3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Deneylerin 8., 14. ve 28. günlerinde sonlandırılmasını takiben önce radyolojik grafiler çekildi. Daha sonra biyomekanik inceleme yapıldı. Son olarak histopatolojik değerlendirme için kırık bölgesinden örnekler alındı. Alınan kemik doku örnekleri %10'luk nötral formaldehit içerisinde fiske edilip %5'lik formik asitte bekletildi. Rutin histopatolojik hazırlıklardan sonra parafin bloklara alınan materyaller Leica Rotary mikrotom yardımıyla 5cm'lik kesitlere ayrıldı.

Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ve Hematoksilen Van Giesson boyları ile boyanıp incelendi. Doku mikrografları dijital fotoğraf makinesi bağlantılı binoküler araştırma mikroskobu ile patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Tüm preparatlar fibröz doku, kıkırdak, yeni kemik ve olgun kemik oranlarına göre Huo ve arkadaşlarının önermiş olduğu skala ile değerlendirildi (59).

Bu skalaya göre:

- Grade1: Fibröz doku
- Grade 2: Ağırlıklı fibröz doku, az miktarda kıkırdak
- Grade 3: Eşit oranda fibröz ve kıkırdak doku
- Grade 4: Ağırlıklı kıkırdak, az miktarda fibröz doku
- Grade 5: Kıkırdak doku
- Grade 6: Ağırlıklı kıkırdak, az miktarda inmatür kemik

Grade 7: Eşit oranda kırık dök ve inmatür kemik doku

Grade 8: Ağırıklı inmatür kemik, az miktarda kırık dök doku

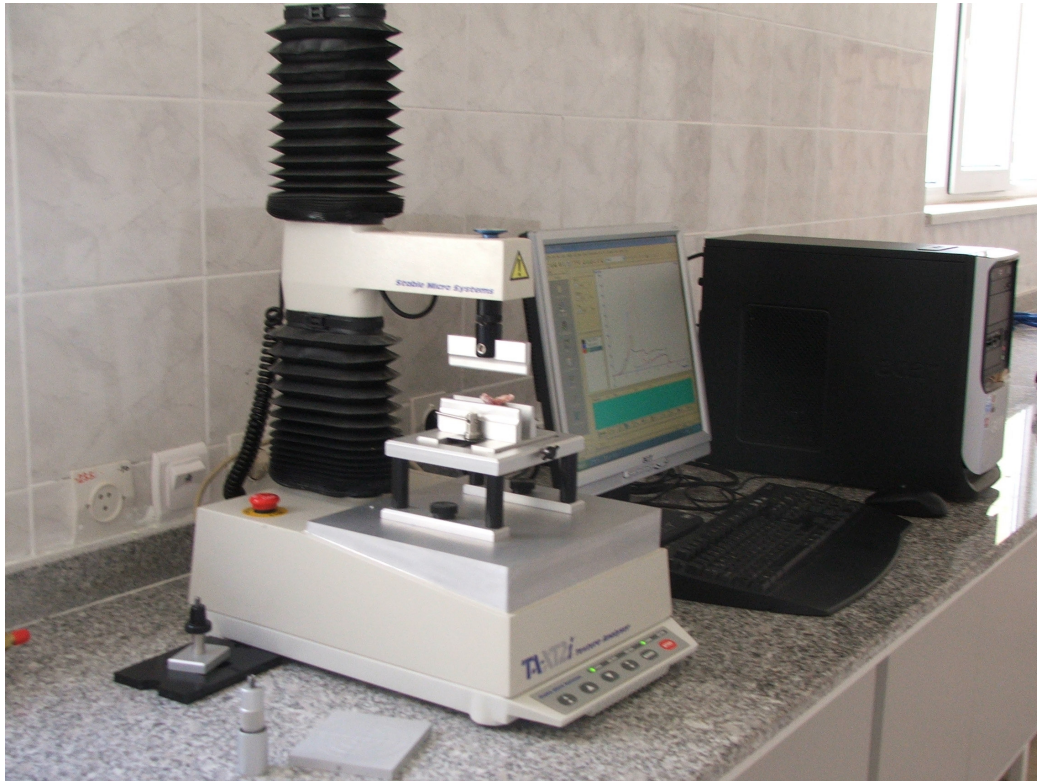
Grade 9: İnmatür kemik ile kırık iyileşmesi

Grade 10: Matür kemik ile kırık iyileşmesi şeklinde değerlendirme söz konusuydu.

3.3.3. Biyomekanik Değerlendirme

Biyomekanik değerlendirme için ratlar 8., 14. ve 28. günlerde sakrifiye edildikten sonra tibialar ayrılarak formol ile tesbit edilmeden çevresindeki yumuşak dokular mümkün olduğunca temizlendi. İntramedüller tesbit için gönderilen ince teller proksimal uçtan çıkarıldı. Sonrasında tibialar üç nokta bükme testi uygulamak amacıyla, uzama kontrollü olarak çalışan, saniyede 2 mm hızla hareket ederek uygulanan kuvveti bilgisayar ekranına grafiksel ve sayısal olarak aktarabilen “The TA-XT2i Texture Analyzer“ (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK) test cihazına yerleştirildi. (Resim 6,7).

Kallus bölgesine kuvvet uygulanarak her grubun elemanlarının bükülmeye karşı direnç kuvvetleri Newton cinsinden ölçülüp karşılaştırıldı.



Resim 6. Biyomekanik test yapılan cihaz (Texture Analyser)



Resim 7. Cihazın kırma deneyi parçası

3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada radyolojik ve histopatolojik veriler ayrı ayrı Mann-Whitney testi ile, biyomekanik veriler de Student's unpaired t-testi'ile değerlendirildi ve $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

1. Radyolojik Bulgular
2. Histopatolojik Bulgular
3. Biyomekanik Bulgular

4.1. RADYOLOJİK BULGULAR

8. gün kontrol grubunda kırığın proksimal ve distalinde deneklerin çoğunda kallus formasyonu olmadığı, 3 ratta kallus olduğu görüldü, tüm deneklerde kırık hattı belirgin olarak gözlenebiliyordu. Atorvastatin grubundaki radyolojik bulguları kontrol grubundakilere farklı olarak daha fazlasında kallus oluşmuş olduğu ve 5 tanesinde kemiksel kaynama başlangıcı olduğu görüldü (tablo 1, resim 8).

Tablo 1, 2 ve 3'te birbirinden ve çalışmadan habersiz 3 farklı gözlemcinin radyolojik değerlendirmeleri görülmektedir.

Tablo 1. 8. gün radyolojik verileri

1. Gözlemci		2. Gözlemci		3. Gözlemci	
Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu
1-1	1-1	1-1	1-0	1-1	1-0
2-1	2-0	2-1	2-0	2-1	2-0
3-2	3-0	3-1	3-1	3-0	3-0
4-0	4-0	4-0	4-1	4-0	4-0
5-1	5-0	5-1	5-0	5-1	5-0
6-2	6-1	6-0	6-1	6-0	6-1
7-1	7-1	7-1	7-1	7-1	7-1
8-2		8-0		8-0	
9-2		9-1		9-0	
10-2		10-1		10-1	



Resim 8. 8. gün radyolojik bulgular

14. gün radyolojik değerlendirilmesinde tüm kontrol grubundaki deneklerin biri hariç kallus formasyonu mevcuttu. Kemiksel kaynama başlangıcı vardı. Atorvastatin grubunda iki denek hariç hepsinde kallus formasyonu vardı. Kemiksel kaynama başlamıştı. Kırık hattının görülmemesi bir denekte net olarak görülmüyordu (Tablo 2, Resim 9).

Tablo 2. 14. gün radyolojik verileri

1. Gözlemci		2. Gözlemci		3. Gözlemci	
Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu
1-3	1-2	1-1	1-2	1-1	1-1
2-2	2-1	2-2	2-2	2-1	2-1
3-2	3-2	3-1	3-1	3-1	3-1
4-2	4-1	4-1	4-0	4-1	4-1
5-2	5-2	5-1	5-1	5-1	5-1
6-1	6-2	6-2	6-1	6-1	6-1
7-2	7-2	7-1	7-1	7-1	7-1
8-1		8-1		8-1	
9-2		9-2		9-1	
10-0		10-0		10-1	



Resim 9. 14. gün radyolojik bulgular

28. gün radyolojik incelemelerinde kontrol grubunda tümünde kemiksel kaynama başlangıcı mevcuttu, dört denekte kırık hattının kaybolduğu görüldü. Atorvastatin grubunda baskın kemiksel kaynama başlangıcı vardı ve altı denekte kırık hattı görülüyordu. Dört denekte tam kemiksel kaynama olduğu görüldü (Tablo 3, Resim 10).

Tablo 3. 28. gün radyolojik verileri

1. Gözlemci		2. Gözlemci		3. Gözlemci	
Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu
1-3	1-2	1-3	1-2	1-2	1-1
2-2	2-2	2-2	2-3	2-1	2-2
3-2	3-2	3-3	3-3	3-2	3-1
4-2	4-2	4-3	4-3	4-2	4-2
5-2	5-2	5-4	5-3	5-2	5-2
6-3	6-1	6-4	6-2	6-1	6-1
7-2		7-2		7-1	
8-3		8-4		8-2	
9-2		9-2		9-1	
10-2		10-4		10-2	

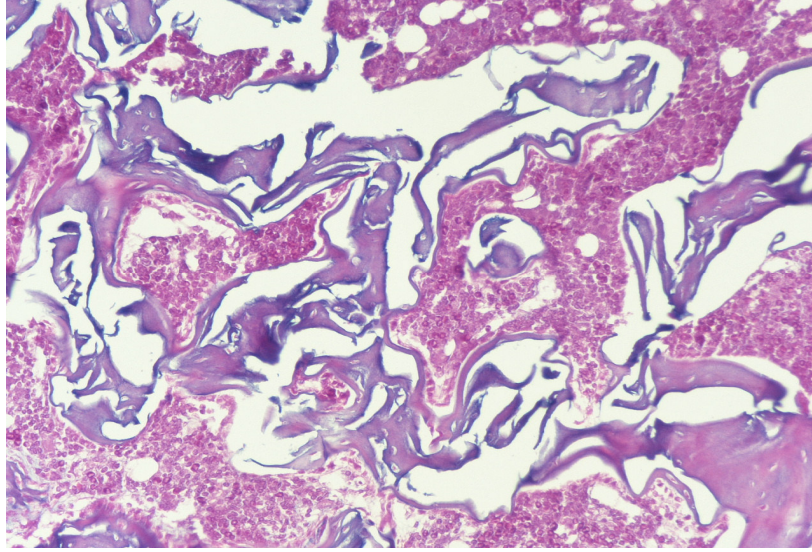


Resim 10. 28. gün radyolojik bulgular

8., 14. ve 28. gün çalışma grubu ve kontrol grubu radyolojik verilerine istatistiksel analiz için Mann-Whitney U testi uygulandı. p değerinin 0.05 ten küçük olması anlamlı kabul edildi. Test sonucunda 8. gün ve 28. gün çalışmaları için p değerleri sırayla ($p=0.0383$; $p=0.0314$) olarak bulundu. Fark, anlamlı olarak kabul edildi. 14. gün aynı test uygulandığında p değeri 0.8404 olarak belirlendi bu da farkın anlamsız olduğunu gösteriyordu.

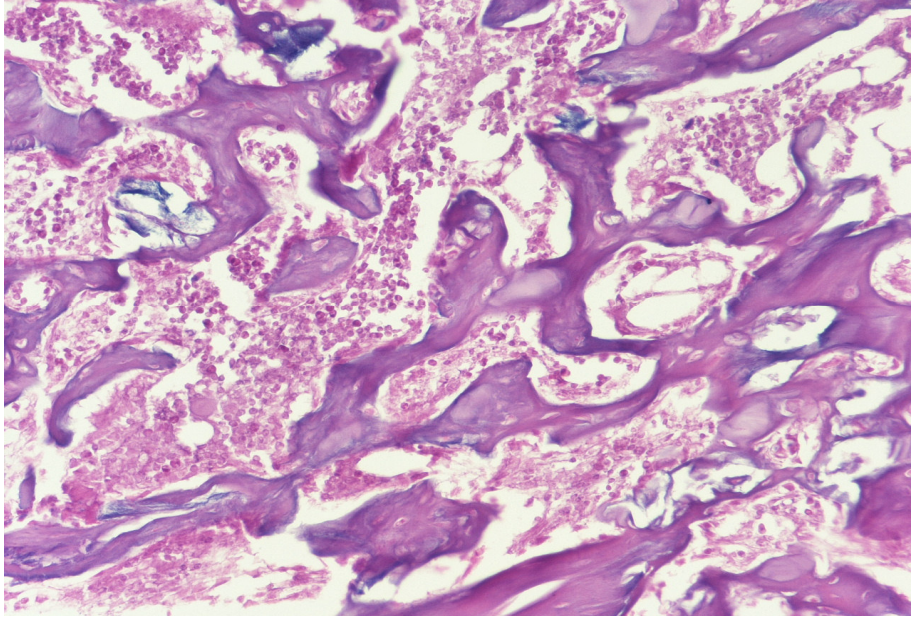
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Resim 11'de görüldüğü gibi 8. gün kontrol grubundan alınan örneklerde baskın oranda kıkırdak doku ve az miktarda yeni kemik oluşumu gözlenmekteydi. Az miktarda kemik iliği mevcuttu. Kırık hematomunu gösteren yaygın miktarda eritrosit hücreleri mevcuttu.



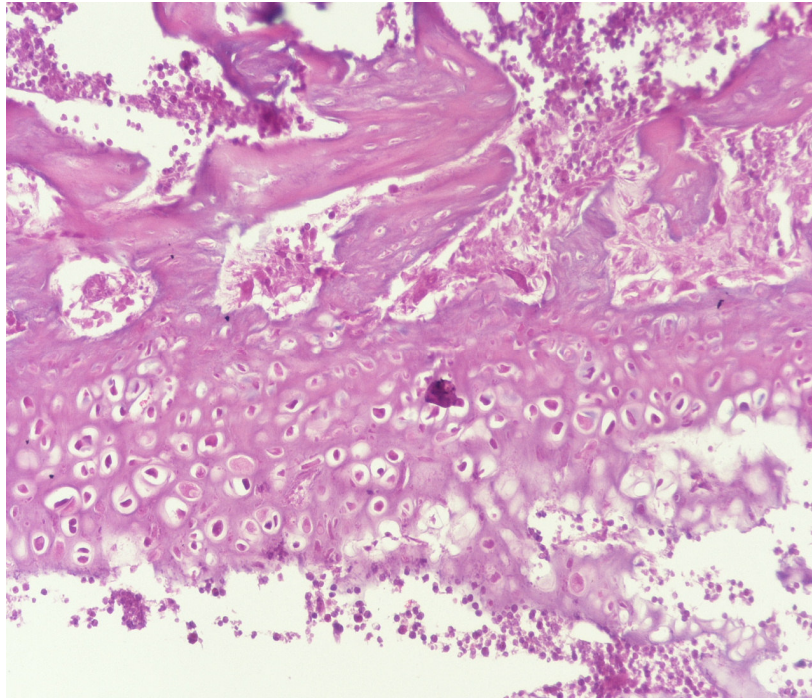
Resim 11. 8. gün kontrol grubu, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. (200x büyütme)

Resim 12'de görüldüğü gibi 8. gün atorvastatin grubundan alınan örneklerde de yine baskın oranda kıkırdak adacıkları ve az miktarda yeni kemik oluşumu görülmekteydi. İnmatür kemik oluşumunun kontrol grubuna göre biraz daha fazla olduğu görünüyordu. Kırık hematomun mikroskopik belirtilerinin burada da baskın olduğu gözleniyordu.



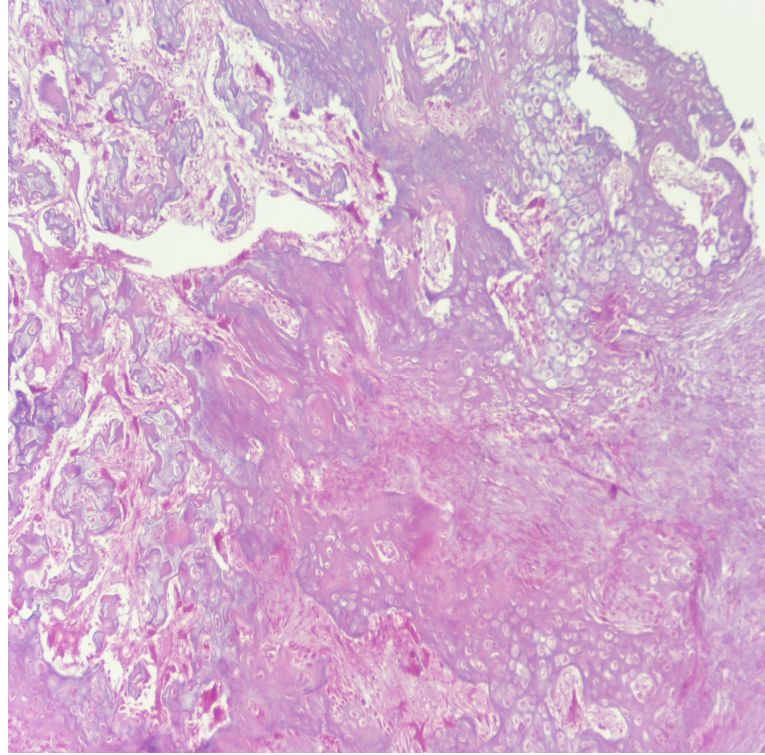
Resim 12. 8. gün çalışma grubu, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. (200x büyütme)

Resim 13'te görüldüğü gibi 14. gün kontrol grubundan alınan örneklerde baskın oranda yeni kemik doku oluşumu, az miktarda kıkırdak doku ve yine az miktarda matür kemik dokusuna rastlandı. Örneklerden bir tanesinde sadece yeni kemik doku yapımı ve kıkırdak eşit miktarda gözleniyordu.



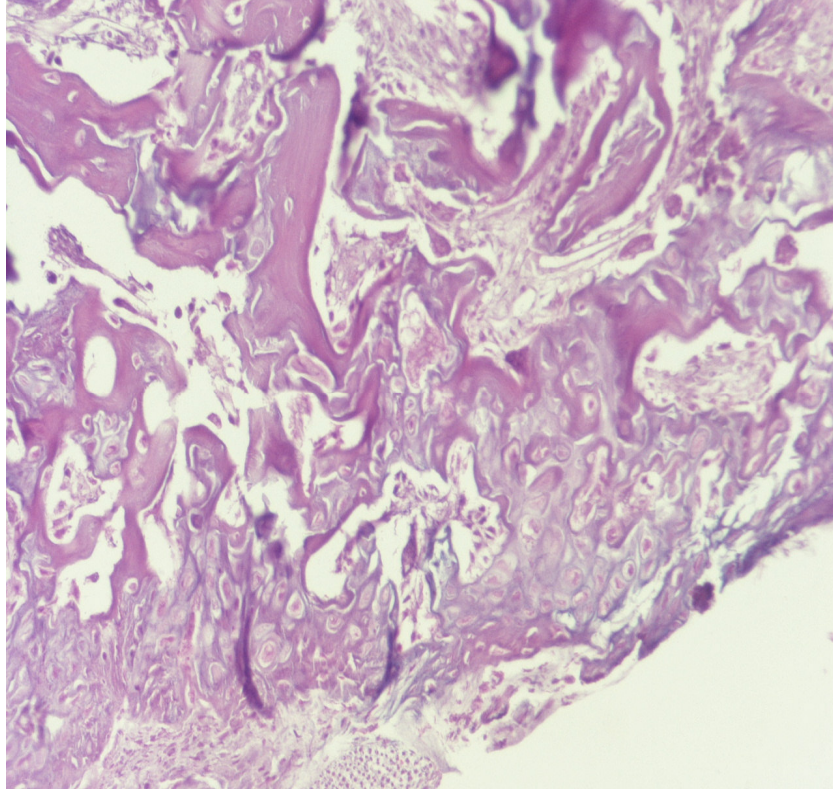
Resim 13. 14. gün kontrol grubu, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. (100x büyütme)

Resim 14'te görüldüğü gibi 14. gün atorvastatin grubundan alınan örneklerde ise yine kontrol grubunda olduğu gibi baskın oranda yeni kemik doku oluşumu ve az miktarda kıkırdak doku gözlemlendi.



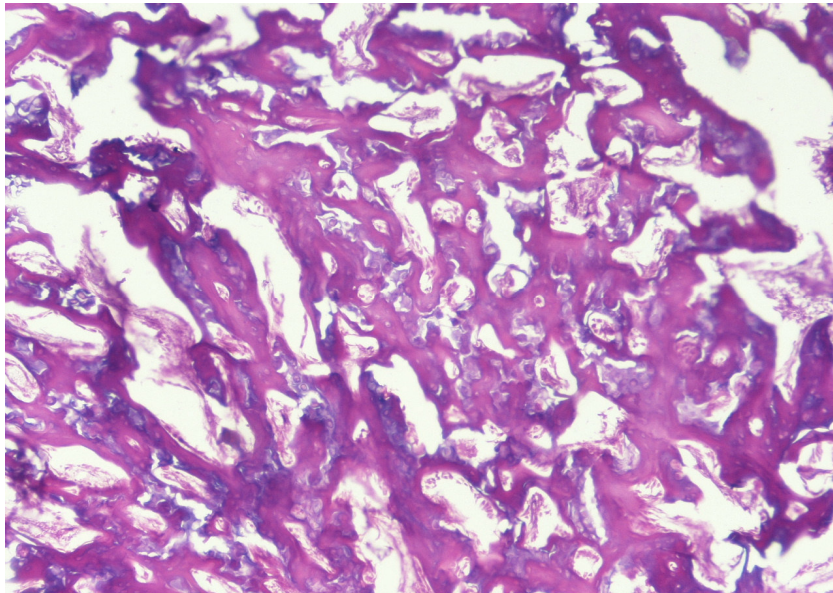
Resim 14. 14. gün çalışma grubu, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. (100x büyütme)

Resim 15'te görüldüğü gibi 28. gün kontrol grubundan alınan örneklerde üç denekte yeni kemik doku baskın, üç denekte de tamamen yeni kemik doku oluşumu gözlemlendi. Kıkırdak dokusu tamamen kaybolmuştu.



Resim 15. 28. gün kontrol grubu, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. (200x büyütme)

Resim 16'da görüldüğü gibi 28. gün atorvastatin grubundan alınan örneklerde tamamen yeni kemik oluşumu baskın olmakla birlikte az miktarda kıkırdak oluşumları da mevcuttu.



Resim 16. 28. gün çalışma grubu, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır. (100x büyütme)

Tablo 4'te 8., 14. ve 28. günlerdeki histopatolojik değerlendirme sonuçları görülmektedir.

Tablo 4. Histopatolojik değerlendirme sonuçları

8. gün		14. gün		28. gün	
ÇALIŞMA	KONTROL	ÇALIŞMA	KONTROL	ÇALIŞMA	KONTROL
1- 6	1- 5	1- 6	1- 6	1- 8	1- 8
2- 6	2- 5	2- 7	2- 7	2- 8	2- 8
3- 5	3- 6	3- 7	3- 7	3- 8	3- 8
4- 6	4- 6	4- 6	4- 7	4- 7	4- 7
5- 6	5- 6	5- 7	5- 7	5- 7	5- 7
6- 6	6- 6	6- 7	6- 7	6- 7	6- 7
7- 6	7- 6	7- 7	7- 7	7- 8	
8- 6		8- 7		8- 8	
9- 6		9- 7		9- 8	
10- 6		10- 7		10- 8	

Kontrol gruplarından alınan örneklerde, 8. günde progresif olarak kıkırdak doku baskın ve az miktarda yeni kemik oluşumu, 14. günde yeni kemik doku baskın ve az miktarda kıkırdak doku, 28. günde %50' de tamamen yeni kemik doku ile çok az miktarda kıkırdak doku mevcuttu. Süre arttıkça yeni kemik oluşumu gözlenme oranı da artıyordu. Çalışma gruplarından alınan örnekler ise 8. günde kontrol grubundan pek farklı değildi. 14. günde yeni kemik doku baskın, az miktarda kıkırdak doku mevcuttu. 28. günde tamamen yeni kemik doku oluşumu %90' nın üzerindeydi. Burada da süre arttıkça yeni kemik oluşumu arttığı gözlemlendi.

İstatistiksel analiz için 8, 14 ve 28. gündeki verilere kendi içlerinde Mann-Whitney-U testi uygulandı. p değerleri sırayla 8. günde 0.544, 14. günde 0.878, 28. günde ise 0.544 olarak bulundu. Her üç sonuç da istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını gösteriyordu.

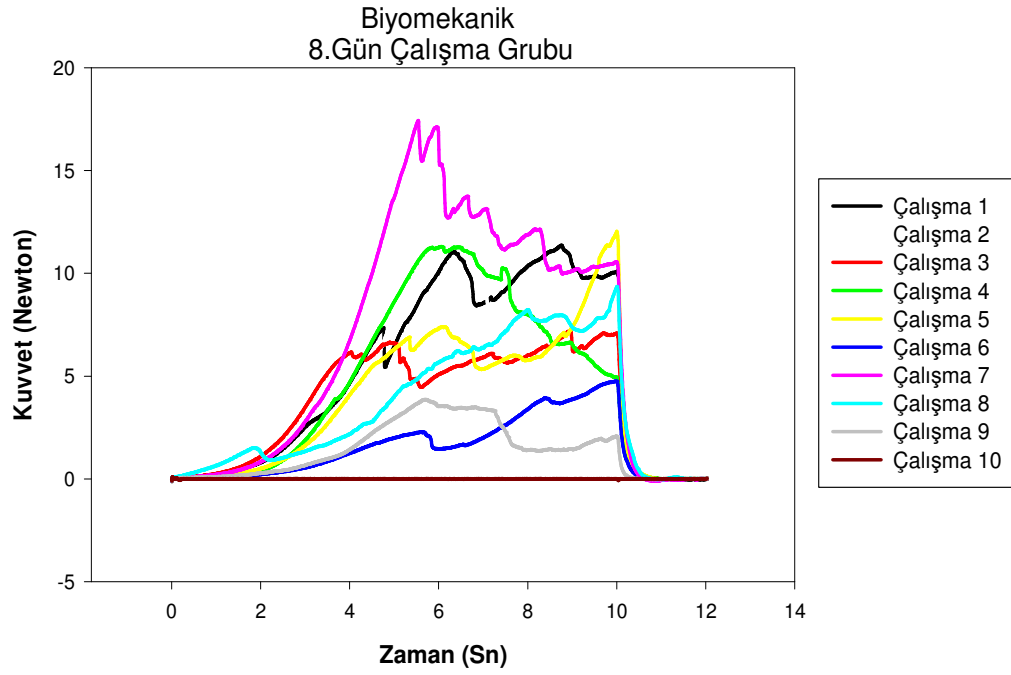
4.3. BİYOMEKANİK BULGULAR

Çalışmaya başladıktan sonra 8., 14 ve 28. günlerde atorvastatin verilen ve atorvastatin verilmeyen (kontrol grupları) ratlar harvest edildi. Sonra üç nokta bükme testine (three point bending) maruz bırakılarak kırık oluşturulan tibiaların Newton olarak resistansı ölçüldü. Tüm gruplarda oluşan kallus dokularının bükülmeye karşı dirençleri ölçülüp grafiklendi. Tablo 5'te tüm grupların biyomekanik çalışma sonunda elde edilen kırılma kuvvetlerinin Newton cinsinden değerleri görülmektedir.

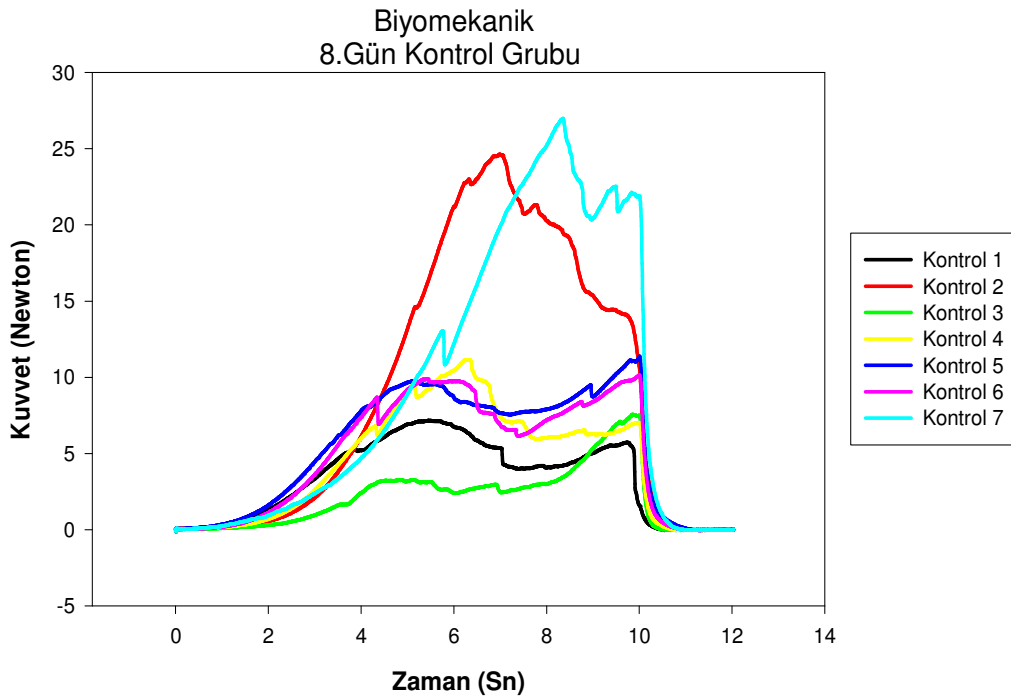
Tablo 5. Biyomekanik değerlendirme sonuçları (Newton olarak)

8. GÜN		14. GÜN		28. GÜN	
İLAÇLI	KONTROL	İLAÇLI	KONTROL	İLAÇLI	KONTROL
1-7.123	1-7.114	1-12.503	1-3.505	1-22.805	1-48.650
2-12.790	2-14.164	2-30.008	2-13.015	2-60.580	2-59.618
3-7.002	3-7.488	3-9.987	3-15.504	3-95.539	3-51.515
4-10.294	4-9.525	4-13.636	4-18.069	4-20.159	4-49.122
5-7.374	5-9.495	5-38.344	5-15.867	5-97.383	5-19.672
6-4.642	6-9.508	6-10.001	6-5.264	6-72.057	6-56.799
7-13.119	7-10.374	7-12.975	7-16.425	7-31.315	
8-8.117		8-18.451		8-21.270	
9-3.827		9-8.104		9-52.873	
10-8.642		10-35.857		10-66.853	

8. gün çalışma ve kontrol gruplarının biyomekanik çalışma verileri önce grafiğe döküldü (grafik 1,2). Daha sonra veriler Student's unpaired t GraphPad Instat (version 3.05, San Diego, CA 92121, USA) testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında p değeri 0.333 bulundu. p değeri 0.05 ten büyük olduğu için bu değer anlamlı bir fark olmadığını gösteriyordu.

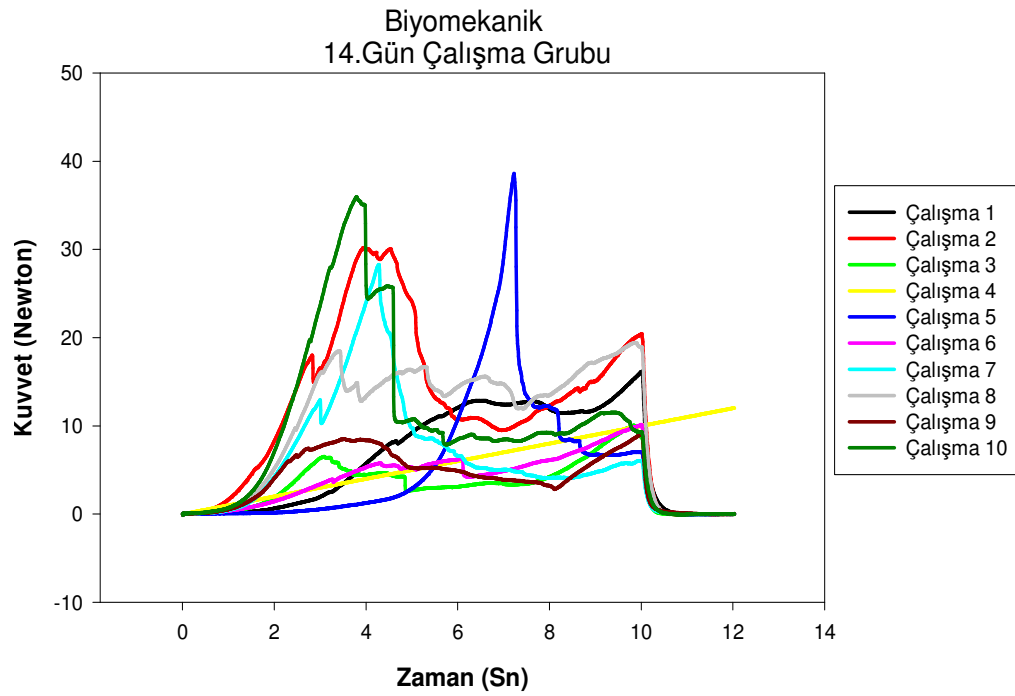


Grafik 1. 8. gün çalışma grubu biyomekanik değerler grafiği

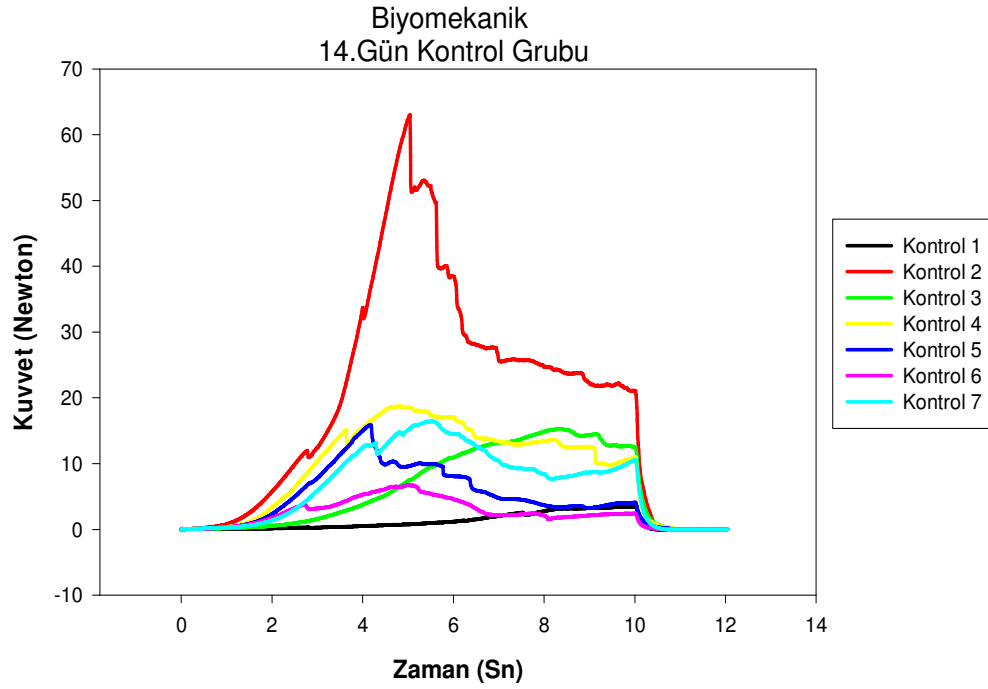


Grafik 2. 8. gün kontrol grubu biyomekanik değerler grafiği

14. gün çalışma ve kontrol gruplarının biyomekanik çalışma verileri önce grafiğe döküldü (grafik 3, 4). Daha sonra veriler Student's unpaired t GraphPad InStat (version 3.05, San Diego, CA 92121, USA) testi ile karşılaştırıldığında p değeri 0.189 olarak bulundu. Bu sonuç p değeri 0.05 ten büyük olduğu için anlamlı bir farkın olmadığını gösteriyordu.

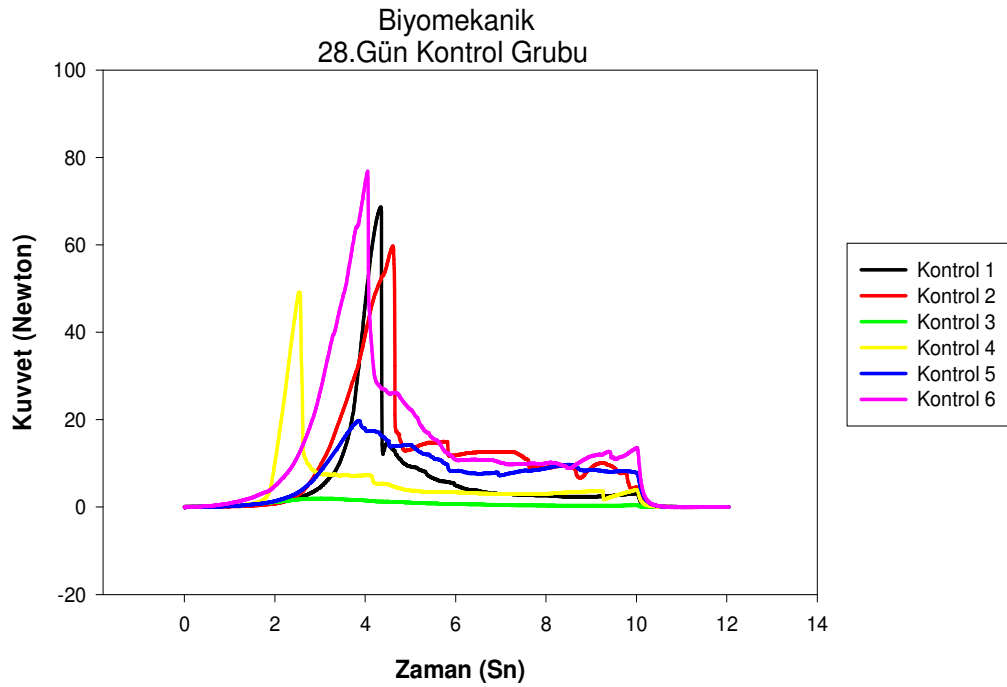
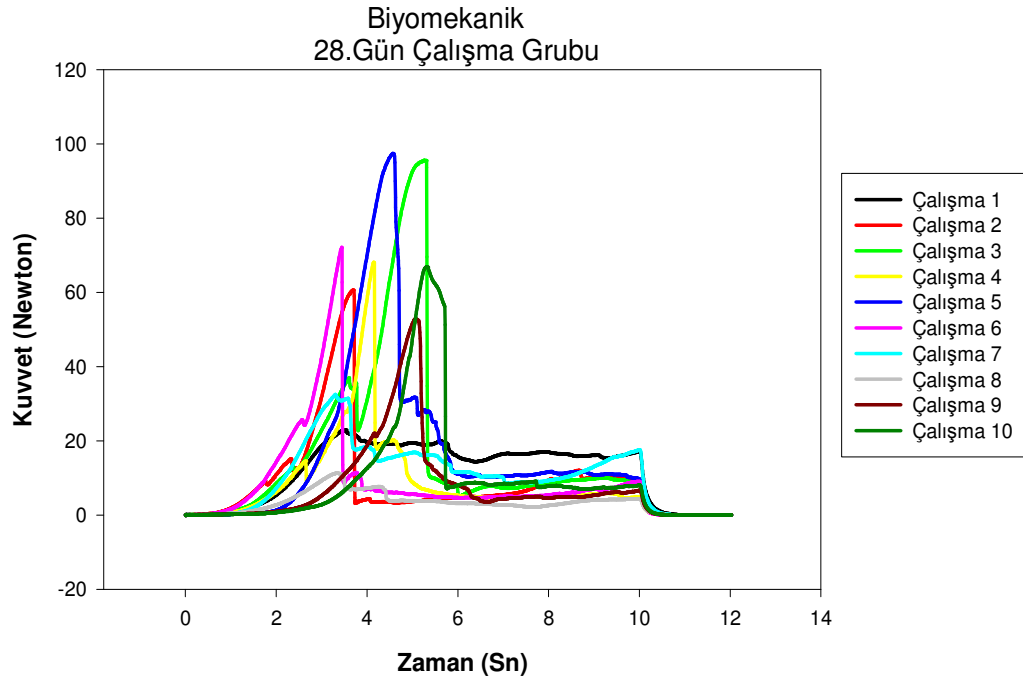


Grafik 3. 14. gün çalışma grubu biyomekanik değerler grafiği



Grafik 4. 14. gün kontrol grubu biyomekanik değerler grafiği

28. gün çalışma ve kontrol gruplarının biyomekanik çalışma verileri önce grafiğe döküldü (grafik 5,6). Daha sonra veriler Student's unpaired t GraphPad InStat (version 3.05, San Diego, CA 92121, USA) testi ile karşılaştırıldığında p değeri 0.623 olarak bulundu. p değeri 0.05'ten büyük olduğu için bu değer anlamlı bir farkın olmadığını gösteriyordu.



5. TARTIŞMA

Kemik; organizmanın iskelet desteğini oluşturan ve yaşamı boyunca sürekli kendini yenileyen, metabolik olarak aktif ve dinamik bir dokudur (17). Travmatik veya başka nedenlerle kemiğin anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulduğu kırıklar, ortopedi ve travmatoloji kliniklerinde en sık rastlanan yaralanmalardandır. Kırık oluştuğunda kemikle birlikte çevre yumuşak dokular da etkilenir (11). Kırık iyileşmesi döneminde remodelling yeteneği ile diğer dokulardan farklı olarak skar dokusu bırakmadan orjinaline en yakın şekilde iyileşme görülür (11,18). Kırık iyileşme sürecine etkisi olan birçok faktör tanımlanmıştır. Travmanın şekli, kırık tedavi seçeneği, tespit şekli, sistemik problemler bunlardan bazılarıdır (19,20). Kırıklar büyük oranda konservatif veya cerrahi tedavi yöntemleriyle kaynarlar (18,60). Sadece %5-10'luk bir bölümü kaynamama veya geç kaynama gibi sorunlar gösterirler. Kırık iyileşmesi; inflamasyon, onarım ve remodelling olmak üzere üç dönemde gerçekleşir. Kırık iyileşmesi sadece kemik dokunun değil; çevresindeki periostun, yumuşak dokunun ve medullanın rol oynadığı oldukça karmaşık hücresel ve biyokimyasal süreçler sonucunda gerçekleşir (11).

Statinlerin kemik resorpsiyonunu baskılaması direk olarak bu ilaçların HMG-CoA redüktaz enziminin inhibisyon kapasitesine bağlıdır. Statinler 3-hidroksi-3 glutaril coenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzimini baskılayarak mevalonat yolunu inhibe ederler ve böylece karaciğer kolesterol sentezini baskırlar. Nitrojen içeren bifosfonat grubu ilaçlar da mevalonat yolunu inhibe ederek isoprenoid sentezine izin vermezler. Bunun sonucunda osteoklast yapımı ve fonksiyonu baskılanır. Bazı hipotezlere göre statinler in vivo kemik metabolizmasını osteoklastik kemik resorpsiyonunu etkileyerek gerçekleştirirler. PTH tarafından stimule edilen kemik rezorpsiyonu in vitro cerivastatin tarafından baskılandığı görülmüştür. Kırık farklı statin analog paneli kullanılarak, kemik resorpsiyonun baskılama kapasitesi, HMG-CoA redüktaz enzimin baskılanması ile direk olarak ilişkili olduğu görülmüştür. Cerivastatin in vivo tedaviden sonra rat kemik iliğinden izole edilmiş osteoblastlarda

protein prenilasyonunu baskıladığı görülmüştür (49). Parietal kemik kültüründe, başka çalışmalara zıt olarak hiçbir statin anabolik etki göstermemiştir (55). Hayat boyunca kemiğin durmadan remodelling olması iskeletin integrasyonunu sağlar. Bu olayın tam oturması kemiğin resorpsiyonu ve yapımı arasında ince bir balans olması sonucu ancak mümkün olabilmektedir. Balansın bozulması düşük veya yüksek kemik dansitesi olan patolojik durumlarla sonuçlanır. Düşük kemik dansitesi ile birlikte kemiğin yapısal elementlerinin kaybolması kemiğin mekanik destek gücünü ortadan kaldırarak kemiği çok kırılğan hale getirir (bone fragility). Bu da küçük travmalarla kemiğin kırılması ile sonuçlanır. Son çalışmalarda statinlerin (lovastatin, simvastatin, mevastatin, fluvastatin) kemik kültürlerinde kemik turnoverını arttırarak, kemik yapımını arttırdıkları görülmüştür. Lovastatin ve simvastatin verilen ratların kanselöz kemik volümünde artış görülmüştür. Statinler bone morphogenetik protein-2 (BMP-2)'nin ekspresyonunu ve sentezini stimüle ederek kemik yapımını arttırmaktadırlar. BMP-2, transforming growth factor-beta süper ailenin bir üyesidir. Kemik rejenerasyonunda ve kırık iyileşmesinde BMP-2 nin önemli role sahip olduğu bilinmektedir (44). Statinler HMG-CoA' yı mevalonata çeviren 3-hidroksi-3glutaril-coenzim A redüktaz enzimini inhibe ederler. Farnezil difosfat ve geranilgeranil difosfat azalmaları sonucu protein prenilasyonu baskılanır (50). Nitrojen içeren bifosfonatlar etki mekanizmasını protein prenilasyonunu baskılayarak osteoklastik kemik resorpsiyonunu etkileyerek gösterirler. Bifosfonatlar osteoklastik aktiviteyi baskırlar, osteoklastik apoptozunu da arttırlar. HMG-CoA redüktaz enzimini en güçlü baskılayan statinler, en güçlü kemik anabolik etkiye sahiptirler. Kemik anabolik ajanı olarak statinlerin arasında ilk lovastatin araştırılmış ve böyle bir etkisi olduğu görülmüştür. Atorvastatinin antihiperlipidemik dozlarda kemik metabolizmasını ve kemik mineral dansitesini etkilemediği bazı çalışmalarda gösterilmiştir.

Biz bu çalışmada yüksek dozda uygulanan atorvastatin'in oluşturulan rat tibia kırık modelinde kırık kaynaması üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Kırık iyileşmesi üzerine çeşitli yöntemlerin etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda ratlar, tavşanlar, köpekler, koyunlar ve domuzlar gibi çok sayıda hayvan çeşidinin kullanılabildiği literatürde gösterilmiştir (21). Biz bu deneysel çalışmamızın

proje aşamasında cerrahi ve modelleme açısından daha gerçekçi olacağını düşünerek tavşanlarda çalışmayı planlamıştık.

Ancak gerek izogenetik hayvan bulmadaki güçlük, gerekse de bulunan hayvanların laboratuvar ortamında çok çabuk ölmeleri gibi sorunlar bizi kendi fizyoloji laboratuvarımızda üretilen, izogenetik olduklarına güvendiğimiz ve yeterli sayıda elde edebildiğimiz ratları deney hayvanı olarak kullanmaya yöneltti. Literatürdeki kırık iyileşmesi ile ilgili birçok çalışmanın da ratlar üzerinde yapılması bu konuda bizi yönlendirdi (25,26).

Çalışmamızda deney hayvanlarından çalışma grubundakilere, her gün 20 mg atorvastatin tablet ezilerek ve %0.9 serum fizyolojik ile karıştırarak her deneğe 10 mg/kg olacak şekilde gavaj yolu ile uygulandı. 8., 14. ve 28. günlerde kırık iyileşmesi değerlendirildi.

Kırık modeli oluşturulurken açık veya kapalı yöntemle kırık oluşturma teknikleri kullanılabilir. Kapalı kırık modeli literatürde birçok çalışmada kullanılmıştır. Açık osteotomi ile oluşturulan kırıkta kaynamanın geç olması ve kaynamamaya yatkınlık oluşturması nedeniyle biz tercih etmedik. Ancak literatürde tedavi yöntemlerinin mukayese edilmesi için açık osteotomi tekniğini öneren çalışmalar da mevcuttur (26). Biz de bu doğrultuda çalışmamızda üç nokta bükme prensibine dayalı kapalı kırık oluşturma tekniğini uyguladık.

Kırık oluşturduktan sonra tespit yöntemleri ile ilgili olarak literatürde birçok tekniğin bahsi geçmektedir. İntramedüller tespit, plakla tespit ve eksternal fiksator uygulama bunlardan bazılarıdır (21). Biz çalışmamızda kırık oluşturduktan sonra diz eklemine anteriordan yaklaşık bir santimetrelik insizyonla tibia proksimalinden girerek enjektör iğnesi ile intramedüller tespit uyguladık.

Bu teknik gerekli malzemenin temini ve uygulama açısından kolaydı ama rijid olmayan tespit yapması dezavantaj gibi görünüyordu. Uyguladığımız enjektör iğnesinin distal ve proximalden kilitlenmesi mümkün değildi.

Böylece yaptığımız relatif stabilite mikro hareketlere bağlı olarak sekonder kırık iyileşmesinin gözlenmesi ve dolayısıyla kallus dokusunun rijid olamayan tesbitlerde daha fazla olması nedeniyle avantaja dönüştü. Ratların tibiaları çok küçük olduğundan tespit yöntemi olarak literatürde çoğunlukla intramedüller tespit seçilmesi de bunu

desteklemektedir. Kırık sonrası intramedüller tesbit yaptığımız hayvanlara dışarıdan ekstra bir tesbit ve immobilizasyon (alçı) uygulamadık.

Kırık iyileşmesinin radyolojik değerlendirilmesi için literatüre çok farklı yöntemlerin kullanıldığını gördük. Bazı çalışmalarda direkt grafilerle kırık uçları arasındaki köprüleşmenin durumu değerlendirilmiştir. Çeşitli ölçüm teknikleri ile kallus boyutları ölçülmüş ve puanlama sistemleri kullanılmıştır (61).

Tüm bu değerlendirmelerin kırık iyileşmesini değerlendirmede yeterince objektif olmadığı ve değerlendirmenin kişiden kişiye farklılık gösterdiği yönünde bilgiler mevcuttur. Bu nedenle biz radyolojik değerlendirme yaparken birbirinden habersiz üç farklı cerrahın kendilerine verilen skorlamaya göre yaptıkları değerlendirmelerin ortalamaları alındı. Sonuçların sadece histolojik değerlendirmemize bir destek olabileceği düşünüldü (58).

Çalışmamızın histolojik değerlendirmesi sırasında literatüre baktığımızda bazı çalışmalarda değerlendirmelerin puanlama olmaksızın gross olarak kalitatif şekilde yapıldığını gördük (62,63). Literatürde ayrıca Huo ve arkadaşlarının tariflediği histolojik değerlendirme skalası da kullanılmıştır (59). Bu skalada iyileşme kriteri olarak kırık hattının proksimal ve distal tarafında oluşan iyileşme alanındaki fibröz doku, kırık dokusu, immatür ve matür kemik oranları skorlanmıştır. Biz de çalışmamızda histolojik değerlendirme amacıyla bu yöntemi kullandık.

Statinler (HMG-CoA redüktaz inhibitörleri) hiperkolesterolemi ve koroner arter hastalığında on yıldan fazla kullanılmamaktadırlar. Kolesterol düşürücü etkilerinin dışında başka etkilerinde olduğu Davidson ve Laaksonen tarafından gösterilmiştir (64). Sıçan veya insan kemik hücre kültürlerinde statinlerin kemik morfogenetik protein-2 (BMP-2) ekspresyonunu arttırdığı ilk olarak Mundy ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (65). Statinlerin uygulama konusunda değişik yöntemlere rastladık. Simvastatin lokal cilt üzerine; lovastatin lokal olarak kırık hattına enjeksiyonla tek doz olarak yapılmış. Biz de atorvastatini yüksek dozda gavaj şeklinde vererek, kırık olan yerde ilacın daha yüksek konsantrasyona ulaşacağını ve böylece etkisinde daha fazla olacağını düşündük.

Çalışmamızın biyomekanik değerlendirmesi sırasında ratların tibialarını kırmak için uygulanan kuvvetler ölçüldü. Doğru sonuçlara erişmek için öncelikle kırma sırasında tüm ratların tibialarının aynı yerden kırılmasına özen gösterildi.

Deney sırasında ölçüme geçilmeden önce kemiklerin üzerindeki yumuşak dokular mümkün olduğu kadar sıyrıldı. Böylece yumuşak dokuların kırılma kuvvetini etkileme olasılıkları engellendi.

Deneyin tüm aşamaları tamamlanıp değerlendirme yapıldığında sonuçta atorvastatinin radyolojik değerlendirilmenin dışında histopatolojik ve biyomekanik çalışmalarda kırık iyileşmesini etkilemediğini gördük.

Radyolojik sonuçlara bakıldığında 8. gün çalışma grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olduğunu gördük. Ortalama p değeri 0.05' ten küçüktü ($p=0.0383$). Görüntülerinin farklılık gösterdiği görüldü. 14. günde sonuçların ortalamasında farklılık olmadığı, sonuçlar benzerlik gösterdiği görüldü ($p=0.8404$). İstatistiksel çalışma da anlamlı bir fark olmadığını gösteriyordu ($p>0.05$). 14. gün ortalama p değeri 0.0314 olarak bulundu ($p<0.05$). Bu da kontrol ve çalışma grubunun arasında anlamlı bir fark olduğunu gösteriyordu. Biz radyolojik değerlendirmenin kişisel farklılıklar gösterebileceğini varsayıp optimum bir sonuç veremeyeceğini düşündük. Bu eksikliği histopatolojik değerlendirmeyle aşmayı planladık.

Histopatolojik değerlendirmede tüm örnekleri kırığın hem proksimal hem distalinden aldık. Böylece iyileşme bölgesini daha iyi değerlendirdik. 8. gün histopatolojik değerlendirmede çalışma grubu ve kontrol grubunda kaynama başlangıcı mevcuttu. Mikroskobik görünümleri de birbirine benziyordu. Yani ilaç kısa dönemde kırık iyileşmesini pozitif yönde etkilememiştir. İstatistiksel çalışma da her 3 hafta sonuçlarında bunu göstermekte idi ($p>0.05$). 14. ve 28. gün için de aynı değerlendirmeleri yaptığımızda zamanın ilerlemesi nedeniyle kallus dokusunun doğal olarak daha çok olduğunu ama yine gruplar arasında büyük oranda benzerlik olduğunu gördük. Bu da ilacın kırık iyileşmesini etkilemediğini göstermiştir.

Histopatolojik sonuçlar ele alındığında atorvastatinin kırık iyileşmesini hızlandırmadığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda histopatolojik değerlendirmenin tek patoloğ tarafından yapılmış olması çalışmanın dezavantajı olarak değerlendirilebilir.

Biyomekanik çalışma tamamen bilgisayar tarafından değerlendirildiği için radyolojik ve histopatolojik değerlendirmelerdeki dezavantajlar en az düzeydedir.

Biyomekanik değerlendirmede 8. gün sonuçları incelendiğinde kırılma kuvvetleri, çalışma ve kontrol gruplarında benzerlik gösteriyordu.

14. ve 28. günlerde yine benzerlik vardı. Kırılma kuvvetlerinin ortalamaları zaman ilerledikçe artıyordu, bu da kallus dokusunun gün geçtikçe sağlamlığının arttığını gösteriyordu.

Çalışmamız sonucunda radyolojik olarak 8. ve 28. günlerde anlamlı bir fark olduğunu gördük, bu da atorvastatinin kırık iyileşmesi üzerine yüksek dozda verildiğinde pozitif etkisi olduğunu gösteriyordu. Histopatolojik ve biyomekanik testlerden elde edilen veriler atorvastatinin kırık iyileşmesi üzerine olumlu bir etkisinin olmadığını gösterdi. Ancak çalışmada kullanılan rat sayısının azlığı ve histopatolojik değerlendirmeyi yapan patoloğun tek olması gibi eksiklikler mevcuttu. Daha geniş denek sayısı ve birden fazla patolog tarafından değerlendirilmesi ile çalışmanın daha güçlü olacağını düşünmekteyiz. Bunun gibi bazı faktörleri göz önüne alınarak bir sonraki çalışmamızı daha anlamlı olacağına umut ediyoruz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1- Yaşam stili, yaşam hızı ve yaşam süresi yaşadığımız yüzyılda sürekli değişmektedir. Bununla birlikte kırık tespit ve tedavi prensipleri değişmektedir. Kırık tedavisi ve kırığın daha çabuk iyileşmesi için değişik alanlarda bilim adamlarının en çok araştırma yaptıkları konulardan biridir.

2- Yapılan çalışmalarda Mundy ve arkadaşları tarafından, bazı statinlerin insan osteoblastlarından kemik morfojenetik proteinin-2 (BMP-2) ekspresyonu arttığı görülmüş.

3- Literatürde bazı statinlerin (lovastatin, simvastatin) kemik üzerinde anabolik etkileri olduğu görülmüştür. Overektomize ratlarda sistemik statinlerin verilmesi çalışmalarda kemik mineral dansitesinin arttığı görülmüştür. Böylece statinlerin yaşlı populasyon osteoporoz tedavisinde, osteoporotik kemiklerin kemik mineral dansitesini (BMD) arttırarak, kırık insidansının azalmasında ve kırıkları önlemek için profilaktik olarak alternatif tedavi olarak sunulabilir.

4- Statinlerin kemik morfojenetik protein-2 (BMP 2) yi arttırdığı ve kemik kırık iyileşmesini pozitif yönde etkiledikleri, bu ilaçların kırık iyileşmesini hızlandırmak veya zor kaynayan kırık tedavilerinde kullanabilmeleri bu ilaçların farklı kardivasküler alanın dışında da kullanılabilirlerini sunu ortaya atmıştır.

5- Statinlerin osteoporoz tedavisinde ve kırık iyileşmesinde etki mekanizması, doz gibi bazı bilinmeyenleri ortaya çıkararak güvenle bu alanda kullanılabilirler ümit vaat etmektedir.

6- Statinlerin kemik yapıcı etkilerinden dolayı normal kolesterol seviyesi olan hastalarda kırık iyileşmesinde kullanımı için daha ileri çalışmalar yapılması gerekir.

7- Statinlerin po serum fizyolojik ile (%0.9 NaCl) birlikte verilmesi ilacın farmakokinetik ve farmakodinamiğini etkilemiş olduğunu düşünerek, belki bir sonraki çalışmalarda konu olup araştırılması uygun olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. (2. Nd edition) 1997 s.132-152.
2. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology (8. th edition) s.132-151.
3. Serinođlu S. Mikroskopik düzeyde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2002; 55(2): 143-150.
4. Browner BD, Jupiter MD, Levine AM, Trafton MD. Skeletal Trauma. (second edition) 1997 s.51.
5. Brond AR, Rubin TC. Fracture healing. Surgery of the Musculoskeletal system New York: Churchill Livingstone, 1990: 1; 93-114.
6. Miller MD. Review of orthopaedics. 2004 s.16.
7. Hulth A. Current concepts of fracture healing. Clin Orthop. 1989; 249: 265-284.
8. Brinker RM, Miller MD. Basic sciences, Review of Orthopaedics. (2nd ed.) WB Saunders Co, Philadelphia, 1996 s1-26.
9. Palma D. The management of fractures and dislocations. (2nd ed.) London, WB Saunders Co. 1970: 1: 10-20.
10. Ege R. Travmatoloji-Kırıklar, eklem ve diğer yaralanmalar. Cilt 1, 5. baskı. Ankara 2001.
11. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Rel Res. 1998; 355: 7-21.

12. Doblare M, Garcia JM, Gomez MJ. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. *Engineering Frac Mechanics*. 2004; 17: 1809-1840.
13. Cruess RL, Dumont J. Healing of bone, tendons and ligament. In. *Rockwood and Green's fractures*. 1sted. J. B. Lippincott, Philadelphia-1975: 97-118.
14. Cook SD, Dalton JE, Barrack RL. Basic science in orthopedic surgery, *Current Diagnosis&Treatment in Orthopedics*; 1st ed.; by Skinner H; Appleton&Lange, 1995: 1-44.
15. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. 1997: 114-130.
16. Khan SN. Bone growth factors. *Orthop Clin North Ame*. 2000; 31 (3): 375-378.
17. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology-I. In Pritchard DJ (ed). *Instructional Course Lectures*. AAOS; 1996(45): 371-86.
18. Einhorn TA. Current concepts review, Enhancement of fracture-healing, *J Bone Joint Surg*. 1995; 77: 940-56.
19. Cornell CN, Lane JM. Newest factors in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1992; 277: 297-311.
20. Ege R: Kırık iyileşmesi (biyolojisi). In: *Travmatoloji: Kırıklar, eklem ve diğer yaralanmalar*. Beşinci baskı. Ankara. 2001; (1): 55-94.
21. Nunamaker DM. Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998; 355: 56-65.
22. The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing *J Bone Joint Surg Br*, June 1, 2006; 88-B(6): 701 - 705.
23. Landin-Wilhelmsen K, Nilsson A, Bosaeus I, Bengtsson B. Growth hormone increases bone mineral content in postmenopausal osteoporosis: a randomized placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res* 2003, 18: 393-405.

24. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res* 1999, 14: 1805-1815.
25. Schmidmaier G, Wildeman B, Ostapowicz D, Kandziora F. Long term effects of local growth factor (IGF-I and TGF- β 1) treatment on fracture healing: A safety study for using growth factors. *J Orthop Res.* 2004; 22: 504-19.
26. Kaygusuz MA, Ataşlı N, Aydoğdu I, Özen S. GM-CSF'nin kırık iyileşmesi üzerine etkisinin sıçan tibiaları üzerinde araştırılması. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 1999; 33: 205-10.
27. Horwitz M, Stewart A, Greenspan SL. Short-term, high-dose parathyroid hormone-related protein as a skeletal anabolic agent for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88: 569-575.
28. Lane NE, Thompson JM, Stewler G, Kinney JH. Intermittent treatment with human parathyroid hormone (hPTH 1–34) increased trabecular bone mass but not connectivity in osteopenic rats. *J Bone Miner Res* 1995, 10: 1470-1477.
29. Dempster DW, Cosman F, Kurland ES, Zhou H, Nieves J, Woelfert L, et al. Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner Res* 2001, 16: 1846-1853.
30. Yakar S, Rosen CJ. From mouse to man: redefining the role of insulin-like growth factor-I in the acquisition of bone mass. *Proc Soc Exp Biol Med* 2003, 228: 245-252.
31. Hankinson SE, Willet WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998, 351: 1393-1396.
32. Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, Chan JM, Tao Y et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91: 620-625.

33. Nagai H, Tsukuda R, Mayahara H. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on bone formation in growing rats. *Bone* 1995, 16: 367-373.
34. Pun S, Florio CL, Wronski TJ. Anabolic effects of basic fibroblast growth factor in the tibial diaphysis of ovariectomized rats. *Bone* 2000, 27: 197-202
35. Wronski TJ, Ratkus AM, Thomsen JS, Vulcan Q, Mosekilde L. Sequential treatment with basic fibroblast growth factor and parathyroid hormone restores lost cancellous bone mass and strength in the proximal tibia of aged ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2001, 16: 1399-1407.
36. Locklin RM, Oreffo ROC, Triffitt JT. Effects of TGFB and bFGF on the differentiation of human bone marrow stromal fibroblasts. *Cell Biol Int* 1999, 23: 185-194.
37. Yilmaz C, Erdemli E, Selek H, Kink H, Arkan M. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Trauma Surg*. 2001; 121: 426-428.
38. Eckardt H, Christensen KS, Lind M, Hansen ES. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing in an experimental model of fractures at risk of nonunion. *Injury*. 2005; 36: 489-94.
39. Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM. A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg*. 2003; 85(A): 1425-35.
40. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, Fox CW. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 and hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res*. 1999; 17: 607-14.
41. Wang EA, Israel DI, Kelly S, Luxenberg DP. Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3h10T1/2 and 3T3 cells. *Growth Factors* 1993, 9: 57-71
42. Onishi T, Ishidou Y, Nagamine T, Yone K, Imamura T, Kato M, et al. Distinct and overlapping patterns of localization of bone morphogenetic protein (BMP) family members and a BMP type II receptor during fracture healing in rats. *Bone* 1998, 22: 605-612

43. Welch RD, Jones AI, Bucholz RW, Reinert CM, Tjia JS, Pierce WA et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on fracture healing in a goat tibial fracture model. *J Bone Miner Res* 1998, 13: 1483-1490.
44. Bouxsein ML, Turek TJ, Blake CA, D'Augusta D, Li X, Stevens M et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar osteotomy model. *J Bone Joint Surg* 2001, 83-A: 1219-1230.
45. Govender S, Csimma C, Genant HK, Valentin-Opran A. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures. *J Bone Joint Surg* 2002, 84-A: 2123-2134
46. Burkus JK, Transfeldt EE, Kitchel SH, Watkins RG, Balderstom RA. Clinical and radiographic outcomes of anterior lumbar interbody fusion using recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Spine* 2002, 27: 2396-2408
47. Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 2001, Suppl 1(Pt 1): S1-6.
48. Statins and Bone Formation, Volume 7, Number 8, 1 May 2001 , pp. 715-736(22)
49. Cosman F, Nieves J, Zion M, et al. Effects of short-term cerivastatin on bone turnover [abstract]. *J Bone Miner Res* 2001, 16: S29.
50. Bauer DC. HMG CoA reductase inhibitors and the skeleton: a comprehensive review. *Osteoporos Int* 2003, 4: 273-282.
51. Early healing pattern of statin-induced osteogenesis . *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* , Volume 43 , Issue 1 , Pages 46 - 50 R . Wong , A Rabie
52. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999, 286: 1546-1549

53. Garrett IR, Gutierrez G, Chen D et al. Statins stimulate bone formation by enhancing eNOS expression [abstract]. *J Bone Miner Res* 2001, 16: S141.
54. LaCroix AZ, Cauley JA, Pettinger M, Hsia J, Bauer DC, McGowan J. Statin use, clinical fracture, and bone mineral density in postmenopausal women: Results from the women's health initiative observational study. *Ann Int Med* 2003, 139: 97-104.
55. AO Manual of Fracture Management: Internal Fixators: Concepts and Cases using LCP/LISS (Ao Manual of Fracture Management Series)
56. Campbell's Operative Orthopaedics, by Tery Canale, 10th edition
57. Rockwood fracture's solutions, Lippincott Williams & Wilkins; 6th edition
58. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin.North Am* 1987; 18: 213-25.
59. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, Friedlaender GE. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res* 1991; 9: 383e90.
60. Claes L, Willie B. The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2006; 1-15 Review.
61. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, Fox CW. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 and hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res*. 1999; 17: 607-14
62. Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM, et al. A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg* 2003; 85A: 1425-35
63. Kirker CA, Gerhart TN, Armstrong N, Schelling SH, Carmel LA. Healing bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2 and copolymer. *Clin Orthop Relat Res*. 1998; 349: 205-17

64. Laaksonen R, Davidson R, Van Coster R, Lütjohann D, Laakso J et al. High-dose statins and skeletal muscle metabolism in humans: A randomized, controlled trial. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* (2005) 78, 60–68

65. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999; Vol. 286, 1946 – 1949

66. HMG-CoA Reductase Inhibitors and the Risk of Fractures. Meier CR, Schlienger G, Kraenzlin E, Schlegel B, Jick H, *JAMA*. 2000; 283: 3205-3210.

67. Cummings and Bauer . Do Statins Prevent Both Cardiovascular Disease and Fracture? *JAMA*.2000; 283: 3255-3257