

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ-BB  
SALINIMI YAPAN, BİYOLOJİK YIKILABİLİR  
POLİ(HİDROKSİBÜTİRAT-CO-3-HİDROKSİVALERAT)  
ÇUBUKLAR:  
KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehmet YALÇINOZAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**KIRIKKALE  
2012**

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ-BB  
SALINIMI YAPAN, BİYOLOJİK YIKILABİLİR  
POLİ(HİDROKSİBÜTİRAT-CO-3-HİDROKSİVALERAT)  
ÇUBUKLAR:  
KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mehmet YALÇINOZAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yard. Doç. Dr. Mehmet TÜRKER**

**KIRIKKALE**

**2012**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB Salınımı Yapan, Biyolojik Yıkılabilir poli(Hidroksibütirat-Co-3-Hidroksivalerat) Çubuklar: Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisi” isimli çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/06/2012

İmza

Doç. Dr. Bülent DAĞLAR  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji AD  
Jüri Başkanı

İmza

Yard. Doç. Dr. Mehmet TÜRKER  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji AD  
Üye

İmza

Yard. Doç. Dr. Meriç ÇIRPAR  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji AD  
Üye

## TEŞEKKÜR

Kliniğimizin kurucusu, saygıdeğer hocam, Prof. Dr. M. Murad USLU'ya ve klinik eğitimimde edindiğim bilgi ve becerimin artmasına katkıları olan, asistanlarıyla ilişkilerinde her zaman bir baba otoritesi ve şefkatini taşıyan, gerek tıbbi gerek diğer konulardaki bilgi, beceri ve tecrübelerini bana aktararak, değerli hocam, kendisiyle çalıştığım için onur duyduğum sayın Prof. Dr. Fatih EKŞİOĞLU'na, asistanı olarak çalıştığım süre boyunca otorite ve disiplin duygusuna hayran kaldığım, klinik bilgi ve yetenekleri kadar yöneticilik vasfından da bilgi ve tecrübe edindiğim, sayın hocam Doç. Dr. Özgür ÇETİK'e bana katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim

Kısa süre önce kendisiyle çalışmaya başladığım, fakat kısa sürede de olsa bilgi, beceri ve tecrübelerinden faydalandığım, Ortopedi ve Travmatoloji A.D. Başkanı sayın Doç. Dr. Bülent DAĞLAR'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitiminin başladığı günden itibaren kendisiyle çalıştığım zaman boyunca gerek tıbbi, gerek hayata dair birçok konuda bilgi, fikir ve tecrübelerinden yararlandığım, kendisini asistanlarının ağabeyi gibi hissettiren ve hiçbir koşulda bu yaklaşımını değiştirmeyen sayın Yrd. Doç. Meriç ÇIRPAR'a teşekkür ederim.

Özellikle tıbbi, bununla beraber tüm diğer konularda, bilgi ve tecrübelerini asistanlarına karşılıksız aktarmaktan çekinmeyen, bilimsel desteğini esirgemeyen, cerrahi bilgi ve tecrübelerinden çokça yararlandığım, birçok konuda beni doğru yönlendiren, beraber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet TÜRKER'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca ameliyathane koşullarında bizi hep destekleyen ve eğitimimiz için çabalayan, uzmanlık sınav jürime katılmayı kabul ederek bana yardımcı olan Anestezi ve Reanimasyon A.D Başkanı sayın Prof. Dr. Alpaslan APAN'a teşekkür ederim.

Klinikte kendileriyle çalışmaktan büyük zevk aldığım, beraber ağlayıp beraber gülmeyi bilen, her zaman takım ruhuyla çalışan, takdirlerimi kazandıkları kadar azarlarıma da göğüs geren, iyi birer ortopedist olacaklarına inandığım sevgili meslektaşlarım Dr. Arif ASLAN, Dr. Serhat DURUSOY, Dr. Hüseyin Fatih SEVİNÇ'e ve kendileriyle çok kısa süre çalıştığım sevgili meslektaşlarım Dr. Mustafa ALTINTAŞ ve Dr. Yasin KÖKER'e, ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca klinikte beraber çalışmış olduğum tüm meslektaşlarım ve hastanemizde görev yapan tüm hekim arkadaşlarım ve diğer yardımcı sağlık personeline teşekkür ederim.

Hayatımdaki her konuda benden desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve tez çalışmamda olduğu kadar tezimin yazım aşamasında da büyük katkısı olan, dört mevsimimi de bahara çeviren sevgili eşim Dr. Eda TUNA YALÇINOZAN'a, doğduğum

günden beri tüm sıkıntılara katlanan, bana iyi bir yaşam ve eğitim sağlamak için çabalayan, her konuda kendisine fikir danışmaktan ve tartışmaktan büyük keyif aldığım, birçok konuda engin bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalanmayı kendime şans saydığım babam Kaan YALÇINOZAN'a, küçüklüğümde beri her türlü sıkıntıda yanımda olan, düşmeyeyim diye hep elimi tutan, beni cesaretlendiren ve her zaman şımartan biricik ablam Elif YALÇINOZAN'a ve bana hayat veren, sevgi ve ilgisiyle büyüten, kendime hayatın her alanında örnek aldığım, hayatıma dair herşey için kendisine minnettar olduğum, özlemle hep yanımda hissettiğim canım annem Rezan ALEMDAR YALÇINOZAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

## ÖZET

**Yalçınnozan, M, Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü-BB Emdirilmiş, Biyolojik Yıkılabilir Poli(Hidroksibütirat-Co-3-Hidroksivalerat) Çubuklar: Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisi Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2012.**

Bu çalışmanın amacı kırık kemik sahasında, lokal trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) salınımının kırık iyileşmesine faydasını ve cerrahi tedavide uygulanan implantların aynı zamanda kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla sürekli salınım sistemi olarak kullanılabilceğini göstermektir.

Çalışmada kullanılan biyoyıkılabilir çubukların hammaddesi olarak poli-β-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat (PHBV), salınacak madde olarak ise rekombinant rat PDGF-BB'si kullanılmıştır. Çalışmada ağırlıkları 300-350 gr olan toplam 35 erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanılmıştır. Çalışma grupları; kırık modeli oluşturulup herhangi bir tedavi almamış ratlar Grup A (n=10), tedavi olarak PDGF-BB içermeyen implant uygulanmış ratlar Grup B (n=10), tedavi olarak 600 ng PDGF-BB içeren implant uygulanmış ratlar Grup C (n=10) ve sağlıklı ratlar Grup D (n=5) olacak şekilde düzenlenmiştir. Tüm ratların sağ tibialarına genel anestezi altında implantların içerisine yerleştirilecekleri, çaplarına uygun delikler açılarak, Grup A ratlar bu haliyle kapatılmış; Grup B ve Grup C ratların tibialarına implant yerleştirilerek kapatılmıştır. Ratlar farklı kafeslerde normal diyetle beslenirken aktivite kısıtlamasına gidilmemiştir. İmplant yerleştirilen ratlar sakrifiye edilmeden önce aldıkları bakımın ardından 30. gün sakrifiye edilip çalışma tamamlanmıştır. Tüm ratların postoperatif 0. ve 30. günlerde direkt grafileri çekilmiş ve tibialar sakrifikasyon sonrası rezeke edilmiştir. Tüm grupların çalışma sonunda çekilen X-Ray grafileri radyolojik iyileşme açısından değerlendirilerek karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda grupların makroskopik olarak anteroposterior (AP) ve mediolateral (ML) kallus çapları ölçülmüştür. Mekanik testlerde maksimum burulma mukavemet gücü ve burulma sertlikleri hesaplanmıştır. Her gruptan rastgele seçilen ikişer adet tibia ise kallus içerikleri açısından histolojik olarak karşılaştırılmıştır.

Çalışma sonuçları SPSS 17.0 (SPSS Inc, IL, U.S.A.) istatistik yazılımı ile

değerlendirilmiştir. İstatistik incelemede kantitatif değerlerin karşılaştırılması için Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi, kalitatif değerlerin karşılaştırılması için ise ki-kare testi kullanılmıştır. p değerinin  $< 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistik analiz sonucunda PDGF-BB içeren implant yerleştirilmiş olan Grup C ile tedavisiz bırakılmış ve boş implant uygulanmış grupların tibiaları arasında maksimum burulma mukavemet güçleri bakımından diğer üç gruba göre istatistiksel olarak anlamlı üstünlük bulunmuştur. Grup A, B'nin birbirleriyle karşılaştırmasında gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Burulma sertliği açısından Grup C ile Grup A ve B arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş, Grup C ve Grup D arasında ise maksimum burulma mukavemet güçleri ve burulma sertlikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Yapılmış olan çalışmanın istatistik sonuçları incelendiğinde sürekli PDGF-BB salınımı yapan biyolojik olarak yıkılabilir implantlarla uygulanan tedavinin, diğer tedaviler ve tedavisiz bırakmaya göre anlamlı bir şekilde kırık iyileşmesini uyararak 1. ayın sonunda normale yakın yük taşıma kapasitesine ulaşılmasını sağladığı anlaşılmıştır. Çalışmamız kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla, bu faktörlerden biri olan trombosit kaynaklı büyüme faktörünün biyoyıkılabilir implantlar yardımıyla oluşturulan sürekli salınım sisteminden lokal olarak salınmasının kırık iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. İnanıyoruz ki ileriki dönemlerde bu şekilde hazırlanmış olan sistemlerle uygulanacak olan tedavilerle hastaların kırık nedeniyle olan tedavi süreleri kısalarak hem maddi, hem manevi yönden daha iyi sonuçlar alınmasını sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Kırık iyileşmesi, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, poli- $\beta$ -hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat, biyoyıkılabilir plastik, implant, ortopedik cerrahi, PHBV, PDGF.

## ABSTRACT

**Yalçınazan M, Platelet Derived Growth Factor Releasing Poly- $\beta$ -hydroxybutirate-co-3-hydroxyvalerate Based Biodegradable Implants: The Effect on Fracture Healing, University of KIRIKKALE, Faculty of Medicine, Department of Orthopaedics and Traumatology, Resident Thesis, KIRIKKALE, 2012.**

The aim of this study is to show that local release of PDGF on fracture site is useful at fracture healing and by the way an implant used at orthopaedic surgery can also be used as a continuous release system to get a faster fracture healing.

The implants used in our study were made of poly- $\beta$ -hydroxybutirate-co-3-hydroxyvalerate, and for growth factor release recombinant rat PDGF-BB was used. The study was carried out on 35 male Sprague-Dawley rats which weights were between 300 and 350 grams. Study groups were determined as; no treatment given group was named as Group A (n=10), an empty implant applied group was named as Group B (n=10), a fracture model was made and an implant carrying 600 ng's (20 ng's per day) of PDGF-BB group was named Grup C (n=10) and a healthy rat group named Group D (n=5). At all of the rats, right tibias were drilled 3 mm holes, Group A rats incisions were sutured after drilling, Group B and C rats suturing was performed after placing implants in the holes. The rats were fed on seperate cages and no activity restriction was performed. The rats get 30 days nursing before sacrifice. At postoperative days 0 and 30 all rats' X-Rays were achieved and the tibias were harvested after sacrifice. The anteroposterior and mediolateral diameters of all calluses at their thickest site were measured. The harvested tibias rotational resistance and rotational stiffness were measured and the groups were compared statistically. Two samples of Group A, B and C were evaluated and compared histologically for their callus contents.

The results were evaluated at SPSS 17.0 (SPSS Inc, IL, U.S.A.) statistics software. To compare quantitative values one way ANOVA posthoc Tukey test was used. And qualitative values were compared by chi-square test. P values being <0.05



accepted as statistically significant. Results showed statistically significant difference for mechanical and radiological tests between Group C and other treatment groups; but no significance was found between Group C and healthy rats.

After the analyse of the statistical results of the study we concluded that the treatment with continous PDGF releasing biodegradable implants is significantly stimulating fracture healing and reaching safely weight bearing capacity at the fractured bone as compared to other applied treatments at the end of 1st month postoperatively. The difference between the group acquiring our described treatment and the healthy rats group can be happened with the positive effect of the callus, but advanced studies should be performed to prove this theory.

Our study showed the efficiency of the local platelet derived growth factor release from biodegradable implants which is used as continous release systems at the aim for accelerating fracture healing. We believe that treatments using these systems will provide better moral for patients and economic results by decreasing the treatment time caused by fractures.

**Key words:** Fracture healing, platelet derived growth factor, poly- $\beta$ -hydroxybutirate-co-3-hydroxyvalerate, biodegradable plastics, implants, orthopaedic surgery, PHBV, PDGF.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik	3
2.1.1. Anatomisi	3
2.1.2. Yapısı	4
2.1.3. Histolojisi	4
2.1.4. Gelişimi	6
2.2. Kırık İyileşmesi	7
2.3. Biyomateryaller	13
2.4. Biyoyıkılabilir Plastikler	15
2.4.1. Tanım ve Tarihçe	16
2.4.2. Genel Özellikler	17
2.4.3. Sentezi	18
2.4.4. Yıkım	19
2.4.5. Mekanik Özellikleri	21
2.4.6. Klinik Kullanım	21
2.4.6.1. Pinler	21
2.4.6.2. İnterferans Vidaları	22
2.4.6.3. Biyoyıkılabilir Vidalar	23
2.4.6.4. Membranlar	24
2.4.6.5. Menisküs Tamir Cihazları	25
2.4.6.6. Özel Dikişler	26

3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Grupların Belirlenmesi	28
3.2. İmplantların Hazırlanması	28
3.3. Cerrahi Prosedür	31
3.4. Radyolojik Değerlendirme	36
3.5. Makroskopik Değerlendirme	36
3.6. Mekanik Test	37
3.7. Histolojik İnceleme	40
3.8. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
4.1. Radyolojik İnceleme	42
4.2. Makroskopik Değerlendirme	45
4.3. Mekanik Test	47
4.4. Histolojik İnceleme	50
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	70
EKLER	
<b>Ek-1:</b> Goldberg skorları	75
<b>Ek-2:</b> AP ve ML kallus kalınlıkları	76
<b>Ek-3:</b> Maksimum burulma mukavemet güçleri ve maksimum burulma açıları	77
<b>Ek-3:</b> Burulma sertlikleri	78

**SİMGELER ve KISALTMALAR**  
**(Metin içindeki geçiş sırasına göre yazılmıştır)**

PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PHBV	Poli-B-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat
AP	Anteroposterior
ML	Mediolateral
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
DBM	Demineralize kemik matriksi
BMP	Kemik matriks proteinleri
TGF- $\beta$	Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$
IL	İnterlökin
PGE	Prostaglandin-E
a-FGF	Asidik fibroblastik büyüme faktörü
b-FGF	Bazik fibroblastik büyüme faktörü
ECM	Ekstrasellüler matriks
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
CDK	Siklin bağımlı kinaz
rhPDGF	Rekombinant insan trombosit kaynaklı büyüme faktörü
b-TCP	Beta trikalsiyum fosfat
TiAl	Titanyum-alüminyum
CrCo	Krom-kobalt
PMMA	Polimetilmetakrilat
PHB	Polihidroksibütirik asit
PLA	Polilaktikasit
PGA	Poliglikolik asit
PDS	Polidioksanon
POE	Poliortoester
PHA	Polihidroksialkanoat
ICI	Imperial Kimya Endüstrisi
Ort:	Ortalama
SS:	Standart Sapma
Med:	Median
Min:	Minimum
Maks:	Maksimum
DVT	Derin ven trombozu
RSD	Refleks sempatik distrofi

## ŞEKİLLER

<b>2.1:</b> Kortikal ve Spongioz Kemiklerin Yapıları	5
<b>2.2:</b> Lameller Kemik Yapısı	6
<b>2.3:</b> PDGF Altgrupları	10
<b>2.4:</b> PHBV'nin Formülü	17
<b>2.5:</b> PHBV Sentezi	18
<b>2.6:</b> PHBV'nin Yıkımı	20
<b>2.7:</b> Değişik Çaplarda Biyoyıkılabilir Pinler	22
<b>2.8:</b> Değişik Firmaların Üretimleri Olan Biyoyıkılabilir İnterferans Vidası	23
<b>2.9:</b> Biyoyıkılabilir Kortikal Vida	24
<b>2.10:</b> Biyoyıkılabilir Pin İle Beraber Başsız Vida	24
<b>2.11:</b> Biyoyıkılabilir Membran Yapısı	25
<b>2.12:</b> Biyoyıkılabilir Menisküs Tamir Cihazları	26
<b>3.1.A:</b> PHBV	27
<b>3.1.B:</b> PDGF	27
<b>3.2:</b> Cam Havan Ve İçinde Hazırlanmak Üzere Konmuş PHBV	29
<b>3.3:</b> Cam Havanda Eterle Muamele Edilerek Macun Haline Getirilmiş PHBV	29
<b>3.4:</b> İmplantların Hazırladığı Kalıp	30
<b>3.5:</b> İmplantların İşlenme Süreci	30
<b>3.6:</b> Hazırlanan İmplantların Çap Ölçümleri	31
<b>3.7.A:</b> Cerrahi Saha Temizliği	32
<b>3.7.B:</b> Ekstremitenin Steril Örtülmesi	32
<b>3.8.A:</b> Cilt İnsizyonu	32
<b>3.8.B:</b> Tibia Anterior Kenarından Medial Kortekse Ulaşılması	32
<b>3.9.A:</b> Delme İşleminin Gerçekleştirilmesi	33
<b>3.9.B:</b> Delik Açılmış Tibia	33
<b>3.10:</b> Tibiaya İmplantın Yerleştirilmesi	34
<b>3.11:</b> Tibiaya Yerleştirilmiş İmplant	34
<b>3.12:</b> Kapatılmış İnsizyon	35
<b>3.13:</b> Dijital Kumpas	36
<b>3.14:</b> Instron 55mt2 Düşük Kapasiteli Burma Test Sistemi	38
<b>3.15:</b> Partner Burulma Testi Grafiği	38
<b>3.16:</b> Burma Test Sistemine Uygun Olarak İşlenmiş Tibialar	39
<b>3.17:</b> Asansör Sistemi	39

<b>3.18:</b> Burulma Sertliği (k) Hesaplanması	40
<b>4.1:</b> Kırık Modeli Oluşturulmuş ve PDGF salınımı yapan implant uygulanmış 5 Numaralı Rat	42
<b>4.2:</b> Kırık Modeli Oluşturulmuş ve Tedavi Almamış 3 Numaralı Rat	43
<b>4.3:</b> Kırık Modeli Oluşturulmuş ve Boş implant uygulanmış 6 Numaralı Rat	43
<b>4.4:</b> Grupların Ortalama Goldberg Radyolojik İyileşme Skorları	44
<b>4.5:</b> Grupların Ortalama Anteroposterior Kallus çapları	45
<b>4.6:</b> Grupların Ortalama Mediolateral Kallus çapları	46
<b>4.7:</b> Grupların Ortalama Maksimum Burulma Mukavemet Gçleri	48
<b>4.8:</b> Grupların Ortalama Burulma Sertlikleri	49
<b>4.9:</b> Kırık Uçları Arasında Kollagenz Kallus İle İmmatür rgl Kemik Dokusunun, X40 Büyütmede Hematoksilen Eosin İle Boyalı Kesiti	51
<b>4.10:</b> Kemik Uçları Arasında Kprleşen rgl Kemik Dokusu Trabekülleri, X40 Büyütmede Hematoksilen Eosin İle Boyalı Kesiti	52
<b>4.11:</b> Periosteal İmmatür Mezenşimal Hücreler İle rgl Kemik Gelişimi, X100 Büyütmede Hematoksilen Eosin İle Boyalı Kesiti	53
<b>4.12:</b> Kist Medialinde Dizorganize Kemik Dokusundan Oluşan Trabeküller Ve Rezidü İmplant Kalıntısı İçeren Kistik Lakn, X40 Büyütmede Hematoksilen Eosin İle Boyalı Kesiti	54
<b>4.13:</b> Kist Periferinde Matür Lameller Kemik Trabekülleri İle Arada Konjesyone Damar Yapıları, X40 Büyütmede Hematoksilen Eosin İle Boyalı Kesiti	55
<b>4.14:</b> Yoğun Matür Lameller Kemik Dokusu Ve Sağ Yanda Kortikal Kemik, X100 Büyütmede Hematoksilen Eosin İle Boyalı Kesiti	56

**TABLolar**

<b>2.1:</b> PDGF Üretim Yeteneği Olan Hücre Tipleri Ve Üretebildikleri PDGF Altgrupları	11
<b>3.1:</b> Çalışma Gruplarının Dağılımı	28
<b>3.2:</b> Goldberg'in Radyolojik Kırık İyileşmesi Skorlama Sistemi	36
<b>3.3:</b> Huo Ve Arkadaşlarının Histolojik Kırık İyileşmesi Skorlaması	40
<b>4.1:</b> Goldberg Sınıflamasına Göre Postoperatif 30. Günde Değerlendirme Skorları	44
<b>4.2:</b> Anteroposterior Çaplara Göre Çalışmanın 30. Günündeki Kallus Kalınlıkları	46
<b>4.3:</b> Mediolateral Çaplara Göre Çalışmanın 30. Günündeki Kallus Kalınlıkları	47
<b>4.4:</b> Tüm Grupların Çalışmanın 30. Gününde Ölçülen Maksimum Burulma Mukavemet Güçleri	48
<b>4.5:</b> Tüm Grupların Ölçülen Maksimum Burulma Mukavemet Gücü Test Sonuçları Ve Maksimum Burulma Açısı Değerlerinden Hesaplanan Burulma Sertlikleri	50
<b>4.6:</b> Histolojik Olarak Değerlendirilen Örneklerin Skorları	50

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günlük çalışmada Ortopedi ve Travmatoloji kliniklerini en çok meşgul eden sorunların başında travmaya bağımlı veya bağımsız meydana gelen kırıklar yer almaktadır [1, 2]. İster travmatik ister patolojik olsun kırık ve komplikasyonları hasta için hem maddi hem manevi kayıplara neden olduğu gibi sosyal güvenlik kurumları ve işverenler için de esas olarak işgücü kaybı olmak üzere tedavi ve bakım masrafları gibi maddi külfetleri de beraberinde getirmektedir. Ülkemizde uygulanan implant ameliyatları ile ilgili elimizde şimdilik yeterli veri olmasa da Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 11 milyon, Almanya'da ise yılda 2,5 milyon hastaya en az bir medikal implant uygulandığı bilinmektedir [3]. Tüm kırıkların komplikasyonsuz ve tam olarak kaynamasının sağlanması çoğu ortopedistin ideali olmakla beraber, burada unutulmaması gereken bir konu vardır. Bu da biz hekimlerin ilahi bir güçle sağlık dağıtan şifacılar değil, her an hızlanarak artan bilgi denizinden kendine yarayan bilgiyi anlayıp çıkararak ve bunu hastasının iyileşmesine yardımcı olmak amacıyla doğru şekilde kullanan bilim insanları olduğumuzdur. Özellikle fizyolojik olarak vasküler desteği çok gelişmemiş olan kemiklerin kırık komplikasyonları olarak görülen, gecikmiş kaynama veya kaynamama gibi problemler ortopedistlerin sıkça karşılaştığı ve üstesinden gelmek zorunda kaldığı durumlardır. Kırık iyileşmesinin hızlandırılması ve tedavinin kolaylaştırılması yönünde mevcut bilgilerin harmanlanması ve üzerine yeni bilgilerin eklenmesi, hastanın daha erken dönemde ve daha az komplikasyonla kırık öncesi haline en yakın sağlık durumuna kavuşabilmesi için hastaya karşı başlıca sorumluluklarımızdan biridir. İşte bu nedenlerden dolayı özellikle son iki dekatta ortopedik cerrahide kullanılan implantların geliştirilmesi için yapılan çalışmalar, çıkartılması için ikinci bir operasyon gerektirmeyecek biyoyıkılabilir plastiklerden üretilen implantların geliştirilmesi yönünde hızlanmıştır [4]. Biyoyıkılabilir plastikler birçok yönden günümüzde halen implant yapımında kullanılan malzemelere üstünlük sağlamaktadır. Bu malzemenin avantajları arasında daha yüksek biyoyuymuluk, daha düşük üretim ve uygulama maliyetleri ve kontrollü salınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri gelmektedir.



Biyoyıkılabilir plastiklerden köken alan ve aynı zamanda kontrollü salınım sistemi olarak kullanılan implantlardan, günümüzde özellikle kronik osteomyelit tedavisinde antibiyotik yüklenmiş boncuklar veya çubuklar şeklinde yararlanılmaktadır [5]. Biyoyıkılabilir implantların ve biyoaktif faktörlerin bu şekilde kullanımı gelecek vadede bir uygulamadır [5-7].

Aynı zamanda kırık iyileşmesine yardımcı olmak ve iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla günümüzde oto-, allo-, xenogreftler, mezenşimal kök hücre enjeksiyonları, demineralize kemik matriksi (DBM), kemik matriks proteinleri (BMP), kalsiyum fosfat bazlı çimentolar vb. gerek sentetik, gerek doğal birçok faktör kullanılmaktadır [8-18]. Bu faktörlerin hepsinin birbirlerinden farklı osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri mevcuttur [18-20]. Bu nedenle hepsi farklı endikasyonlarla kullanılmaktadır [7, 18, 20-23]. Bunlara ek olarak şimdiye kadar yapılan araştırmalar ışığında literatürde lokal ve sistemik etkileriyle kemik büyümesi ve özellikle kırık iyileşmesinde rol oynayan birçok faktör tanımlanmıştır [17, 19, 20, 24-26]. Bu faktörlerden birisi de trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür (Platelet derived growth factor, PDGF) [17, 25, 26]. PDGF mezenşimal kökenli hücrelerin güçlü bir uyarandır. Bu uyarı sonucunda kemik gelişimi ve kırık iyileşmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiş bu protein ailesinin bir üyesidir. PDGF, osteoblast öncülleri ve osteoblastlar için kemotaksik ve mitojenik olup bu etkisiyle osteoprogenitör hücrelerin kırık bölgesine kemotaksisini uyarıp mitojenik yeteneklerini arttırarak kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır [27].

Bu çalışmanın amacı; ratlarda oluşturulan kemik kırık modelinde PDGF'nin poli- $\beta$ -hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat polimerinden lokal salınımının kırık iyileşmesine etkilerinin araştırılmasıdır. Bu sayede ortopedik cerrahide kullanılan implantların sürekli salınım sistemi şeklinde kullanımını tanımlamaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Kemik**

İskelet sistemi bünyesindeki kemikler eşsiz yapıları sayesinde vücuda mekanik destek sağlamak, organ sistemlerini korumak, mineral dengesini kurmak ve kemik iliği hücrelerini barındırmak gibi önemli rolleri üstlenmektedir. İskelet sistemini meydana getiren kemikler anatomik olarak uzun ve yassı kemikler olarak, histolojik olarak ise kortikal ve spongioz olarak ayrılabilir. Kırık iyileşmesini anlamak ve kırık tedavisinde geliştirilecek yöntemleri planlamak için kemik yapısının, en az kırık iyileşmesinin fizyolojisi kadar iyi bilinmesi gerekmektedir.

#### **2.1.1 Anatomisi**

Uzun kemiklerin yapıları olarak epifiz, metafiz ve diafiz olmak üzere üç kısma ayrılarak incelenebilir.

a. Epifiz: Uzun kemiklerin aynı zamanda eklemleri de oluşturan uç kısımlarıdır. Trabeküler kemiği saran ince bir kortikal kemik tabakası tarafından oluşturulur. Eklem yüzleri eklem kıkırdağı ile kaplıdır.

b. Metafiz: Epifiz ile diafiz arası mesafeyi oluşturur. Geçiş bölgesi gibi davranır. Epifiz gibi trabeküler kemiğin etrafında ince bir kortikal kemik tabakası mevcuttur. Epifiz ile arasında fizis ya da büyüme kıkırdağı mevcuttur.

c. Diafiz: Tübüler yapıda kalın kortikal kemik ve içerisini dolduran trabeküler kemik ile karakterizedir. Bu tübüler yapının merkezi intramedüller kanal olarak adlandırılır. Kortikal kemiğin iç yüzeyi endosteal, dış yüzeyi ise periosteal yüzey olarak adlandırılır.

Yassı kemiklerde ise bu şekilde bir anatomik yapı düzeni mevcut değildir.

### 2.1.2 Yapısı

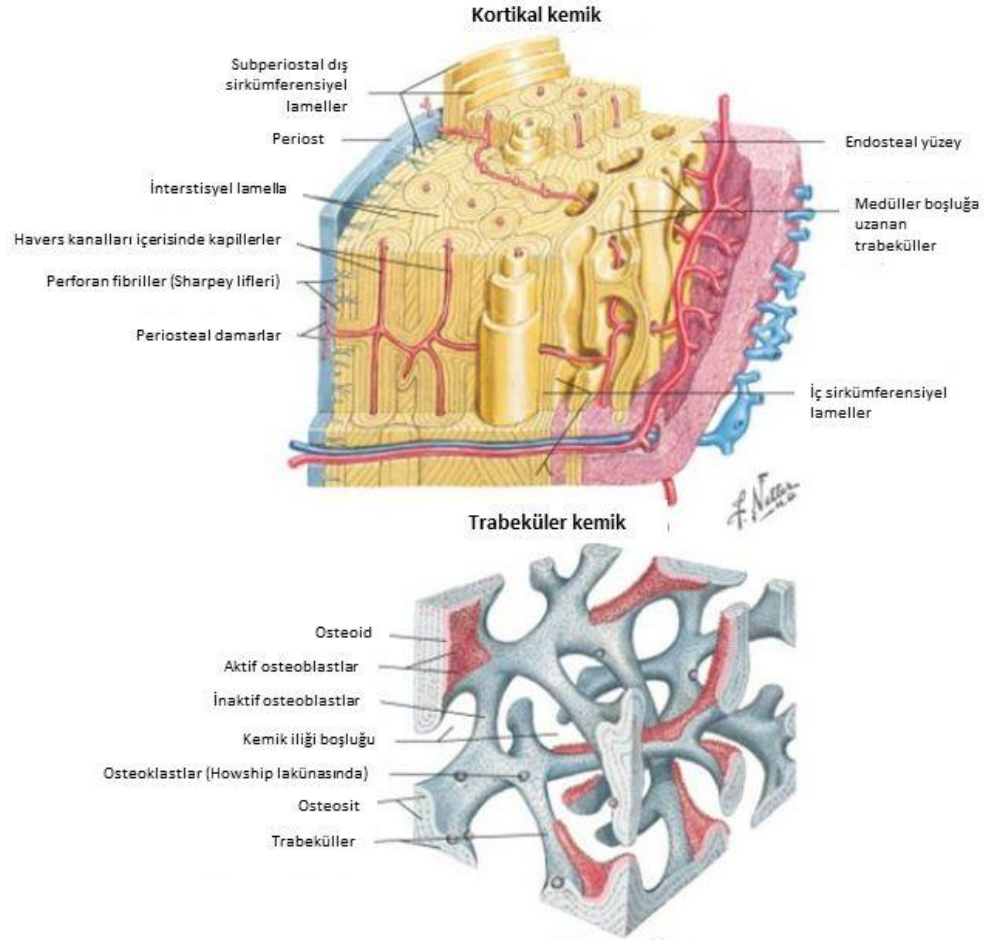
Ortopedi ve Travmatolojinin ilgi alanına giren kemikler sıklıkla uzun kemik yapısına sahiptir. Bu yapı en dışta periost ile örtülü kortikal kemik tarafından çevrelenmiş spongioz kemik olarak tanımlanabilir. Kırık iyileşmesinin anlaşılabilmesi için öncelikle bu yapıların her birinin yapısal ve histolojik özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir.

### 2.1.3 Histolojisi

Kemik doku yapısında başlıca dört çeşit hücre mevcuttur. Bunlar diğer tüm hücre tiplerinin öncülü olan progenitör hücreler, esas olarak kemik doku yapımından sorumlu olan osteoblastlar, kemik yıkımından sorumlu olan osteoklastlar ve kemik dokunun dinlenme fazındaki hücreleri olan osteositlerdir. Osteoblastlar kemik doku yapım süreci içerisinde görevlerini yerine getirdikten sonra ya apoptoza (programlanmış hücre ölümü) uğrarlar, ya da osteositlere dönüşerek bekleme fazına girerler. Bu şekilde uzun süre bekleme fazında kalma kapasitesine sahip olan osteositler ihtiyaç halinde tekrar osteoblastik aktivite kazanabilmektedirler.

- a) **Periost:** Diafizer kemiklerin kırıkta kaplı alanları ve tendon yapışma bölgeleri hariç tüm yüzeyini saran yapıdır. Periost kemiğin a) beslenme, b) büyüme, c) iyileşmesinde büyük rol oynamaktadır. Fibröz tabaka ve kambiyum tabakası olarak adlandırılan iki katmanı olan bu yapı Sharpey lifleri aracılığıyla kemiğe sıkıca tutunur. Dış katman olan fibröz tabaka esas olarak kasların yapışması için zemin hazırlamakta, iç katman olan kambiyum tabakası kemik büyüme ve iyileşmesi için gerekli olan progenitör hücreler ile osteoblast ve osteoklastları içermektedir. Kanlanma her iki katmanda mevcut olan damarlar vasıtasıyla olmaktadır.
- b) **Kemik:** Matür kemik dokusu lameller yapıya sahip olmakla beraber yapısal olarak kortikal (kompakt) ve spongioz (trabeküler) kemik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2)Yapı, yüklenme doğrultusunda uzanan kemik lamelleri halinde düzenlenmiştir. Bu düzenlenme, normal kemik

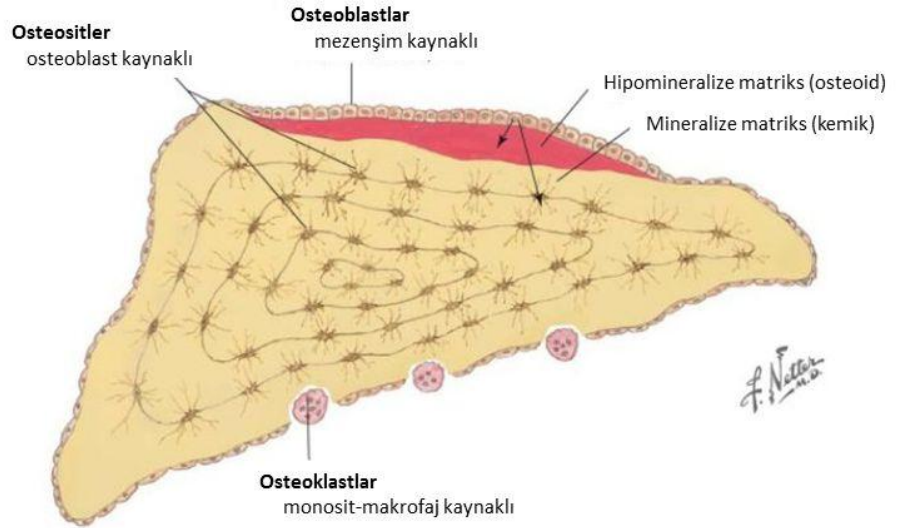
dokusunun yük taşıma kapasitesini sağlamaktadır. İmmatür ve patolojik kemik dokusu ise örgülü yapıya sahiptir. Bu örgülü kemik yapısının lameller yapıya göre yük taşıma kapasitesinin daha az olduğu bilinmektedir.



**Şekil 2.1:** Kortikal ve spongioz kemiklerin yapıları (Netter's Orthopaedics, Copyright © 2008 Elsevier Inc.)

1. Kortikal kemik: İskelet sisteminin yaklaşık  $\frac{3}{4}$ 'ünü oluşturan kortikal kemik yapısı Volkmann kanalları olarak adlandırılan köprüler yardımıyla birbirleriyle bağlantılı olan ve kemiğin uzun aksına paralel uzanan osteonlardan meydana gelmektedir. Aralarında interstisyel lameller mevcut olan osteonlar kemik dokusunu oluşturan en küçük birim olmakla beraber, yapısı içerisinde santral arteriyol ve venülleri, sinir ve lenfatik dokuları barındırmaktadır. Kortikal kemik bu kompakt yapısı nedeniyle

spongioz kemiğe oranla daha düşük yapım-yıkım hızına; fakat özellikle burucu ve eğici kuvvetlere karşı daha yüksek yük taşıma kapasitesine sahiptir.



**Şekil 2.2:** Lameller kemik yapısı (Netter's Orthopaedics, Copyright © 2008 Elsevier Inc.)

2. Spongioz kemik: Düzenli bir osteon dizilimi, yani Havers sistemi, olmayan trabeküler kemik, sünger gibi gözenekli yapısı nedeniyle spongioz kemik olarak adlandırılmaktadır. Yapım-yıkım hızı yüksek olan spongioz kemik yapısı nedeniyle kortikal kemiğe göre daha düşük yük taşıma kapasitesine sahiptir [28].

#### 2.1.4 Gelişimi

Matür kemik gelişimi iki farklı yolla olmaktadır.

a. Endokondral kemikleşme: Uzun kemiklerin büyüme plaklarından aksiyel büyümesi ve kırığın kallus ile iyileşmesi sırasında meydana gelir. Osteoblastik aktiviteyle mevcut kondral çerçevenin yerine kemikleşme olur [29]. Buradaki mekanizmanın işleyişi 1) Kondrosit proliferasyonu, 2) Kondrositlerin hipertrofisi, 3)

Matriks mineralizasyonu, 4) Apoptoz, 5) Vasküler invazyon, 6) Ossifikasyon ve 7) Lameller kemik yeniden şekillenmesidir [30].

b. İntramembranöz kemikleşme: Esas olarak kafatası ve skapula gibi yassı kemiklerin büyümesindeki mekanizmayı oluşturur. Osteoblastik aktivite ile meydana gelir, fakat endokondral kemikleşmeden farklı olarak burada kırıkta bir çerçeve mevcut değildir [30]. İntramembranöz kemikleşme aynı zamanda uzun kemiklerin enine büyümesinde de rol almaktadır.

Her ne şekilde olursa olsun sonuçta oluşan kemik doku incelendiğinde yapısal olarak birbirinden farklı olmadığı görülmektedir.

## 2.2 Kırık İyileşmesi

Klasik olarak kemiğin kortikomedüller yapısının anatomik bütünlüğünün bozulması şeklinde tanımlanan kırık günümüzde değişken ciddiyette yumuşak doku hasarının eşlik ettiği kemik doku yaralanması olarak tekrar tanımlanmıştır. Bu tanımlama ile beraber kırık, saf kemik doku patolojisi yerine kompleks kas-iskelet sistemi patolojisi olarak kabul edilmeye başlanmıştır. Kırık oluşumunda travma sıklıkla rol oynasa da travma mevcut olmadan da kırık meydana gelebilmektedir. Herhangi bir şekilde kırık gelişimi sırasında kemiğin maruz kaldığı ve herhangi bir yöndeki taşıma kapasitesini aşan yükler kemik doku yaralanmasına, yani kırığa neden olurken yumuşak dokuda da doğrudan veya dolaylı yoldan değişken derecelerde yaralanmaya neden olmaktadır.

İnsan vücudundaki en karmaşık ve eşsiz mekanizmalardan biri de kırık iyileşmesidir. Esasen, sonucu birçok dış ve iç etkene bağımlı olan kırık iyileşmesi eşsizliğini vücutta skar oluşturmadan iyileşen tek doku olmasına borçludur. Kemik dokusunda iyileşme iki yolla olabilmektedir. Kırığın stabil ve kırık hattının hareketsiz olması direkt kırık iyileşmesini getirir ki burada kallus dokusu oluşmaksızın (intramembranöz kemikleşme) kemik dokuyla onarım olmaktadır. Bununla beraber kırık hattındaki hareketler kallus oluşumuyla karakterize (endokondral kemikleşme) iyileşmeye yol açar ki bu şekilde iyileşme indirekt kırık iyileşmesi diye

adlandırılmıştır. Bir kırık genellikle hem endokondral hem intramembranöz yolların ikisini de içeren bir şekilde iyileşmekle beraber tam iyileşme sonucunda kırık bölgesinde skar dokusu içermeyen orijinal kemik dokusu varlığı gözlenmektedir.

Kırık oluştuğunda kemiğin mimarisi ile beraber vasküler desteği de bozulur. Bunun sonucunda gelişen mekanik instabiliteye, lokal oksijenizasyonda azalma ve lokal olarak çeşitli faktörlerin salınımı eşlik eder. Takip eden süreçte enflamatuvar yanıt oluşur ve kırık bölgesini makrofaj ve trombositler infiltre ederler. Bu hücrelerden PDGF, TGF- $\beta$  (transforming growth factor-  $\beta$ ), interlökin 1 (IL-1) ve 6 (IL-6) prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) salınımı olur. Bu faktörler kemik iliği, periost ve kırık hematomundaki çeşitli hücreler üzerine değişik etkiler göstererek kırık iyileşmesini aktive etmektedirler [30].

Kırık sonrası erken dönemde periosteal preosteoblastlar ve yerel osteokalsin salınımı ile karakterize osteoblastlar, yeni kemiği farklılaştırırlar. Asidik fibroblast büyüme faktörü (a-FGF veya FGF-1) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (b-FGF veya FGF-2) ile ilişkili olarak mezenşimal hücre proliferasyonunda bir artış olur. Bu faktörlerin endotelial hücreler üzerinde anjiyogenik etkisi olduğu kadar, fibroblast, kondrosit ve osteoblastlar üzerinde de mitojenik etkileri mevcuttur. Erken yeni kemik oluşumuyla eşzamanlı olarak mezenşimal hücreler ve fibroblastlar proliferasyon olarak kırık hematomunun yerini almaya başlar. İlkel mezenşimal ve osteoprogenitör hücreler ayrıca TGF-  $\beta$  ailesinin bir alt grubuna ait olan ve hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozis (programlanmış hücre ölümü) mekanizmalarında kilit rol oynayan birçok BMP salar. Kök hücreleri olasılıkla, kemik iliği de dâhil olmak üzere periost, lokal kas ve yumuşak dokular ve damar dokularından köken almaktadır. Kırık hematomu olgunlaştıkça, iyileşmekte olan kallus dokusu içerisine doğru yeni oluşan bir damar ağı büyümektedir. Yeni kan damarları, mezenşimal hücrelerin farklılaşmasını etkileyen progenitör hücrelerin ve büyüme faktörlerinin kaynağını oluşturmaktadır. Kırık hematomu TGF- $\beta$ , PDGF, b-FGF ve alıcı hücrelere BMP gibi sitokinlerin salınması için önemli olabilecek çeşitli kollajen izotipleri ile karakterize bir kollajenöz matris oluşturur. Mezenşimal hücrelerin bir kısmı tamirin yumuşak kallus aşamasında kondrositlere dönüşerek kırığın stabilizasyonunu sağlayan kartilajinöz kallusun oluşumunu sağlarlar. Kısa bir süre sonra kondrositler olgunlaşıp

hipertrofiye olmaya başladıklarında, tip X kollajen üretimiyle beraber ekstrasellüler matriks (ECM)'in yıkımında rol oynayan proteazların salınımına başlarlar. Hipertrofik kondrositler aynı zamanda osteokalsin ve osteopontin başta olmak üzere içlerinde runx2 proteininin de bulunduğu bir grup ECM proteinini düzenleyerek kemikleşme için gerekli hücre farklılaşmasını uyaran faktörleri de salgırlarlar.

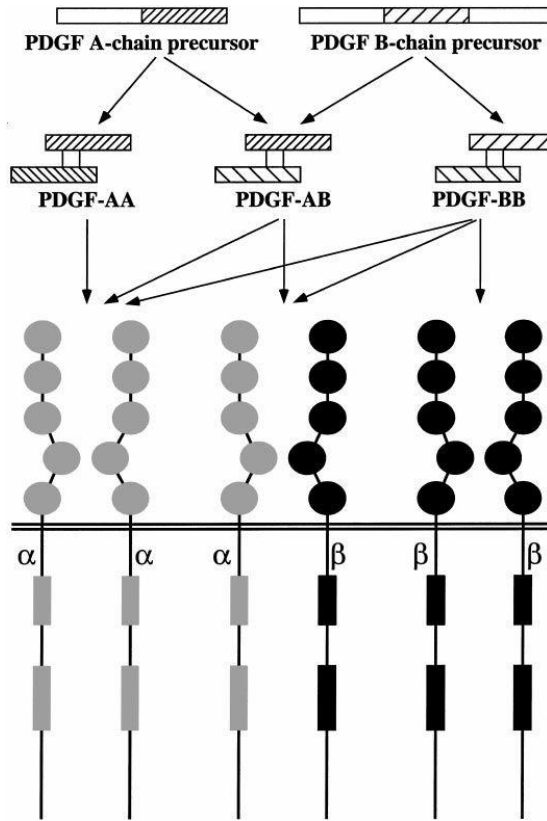
Hipertrofik kırıkdağın kemiğe dönüşümü; terminal kondrosit farklılaşmasının düzenlenmesini, apoptozisi, ECM yıkımını, angiogenesis ve osteogenesisi içeren kompleks organize bir fenomendir. Hipertrofik kondrositler terminal olarak farklılaştıkça kırıkdağ, olgunlaşan kemik-kırıkdağ bileşiminde ve yeni oluşmuş örgülü kemikte kalsifiye olur. Hipertrofik kondrosit bir defa terminal differansiyasyona ulaştığında hücreler apoptoza ve ECM yıkıma uğrayarak, yeni kan damarları arayüzü sarar. Hipertrofik kondrosit apoptozu ve vasküler invazyon olayı sıkıca içiçe geçmiş olarak görünür.

Hipertrofik kırıkdağ kemik ile yer değiştirirken çeşitli osteoblast (TGF- $\beta$ , BMP, IGF ve osteokalsin) ve kollajen (Tip I, V ve XI) bağımlı genler kallusta yaygın bir şekilde açığa çıkar. Yeni oluşan örgülü kemik sonunda organize osteoblastik ve osteoklastik aktiviteyle yeniden şekillenir (Yeniden şekillenme - remodelizasyon safhası). Sonunda matür kemik etrafındaki kemikten ayırt edilemez ve TGF- $\beta$ , BMP, insülin benzeri büyüme faktörünü (insulin-like growth factor, IGF) de içeren büyüme faktörleri için ev sahipliği yapar [30].

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet-derived growth factor, PDGF) parakrin ve endokrin etkili bir sitokin olup trombositlerin alfa granülleri içinde bulunur. 32000 dalton ağırlığında bir glikoprotein olan PDGF; PDGF-AA, PDGF-AB, and PDGF-BB altgruplarını içeren ve kırık bölgesine gelen trombositlerden salınarak kırık iyileşmesinde mezenşimal kökenli hücreleri güçlü bir şekilde uyararak önemli rol oynayan bir protein ailesidir [31]. (Şekil 2.3) PDGF'in kırık iyileşmesindeki rolü birçok araştırmacı tarafından incelenip tanımlanmıştır [27, 32-34]. Kırık iyileşmesinin ilk fazı doku hasarına karşı enflamatuar reaksiyon gelişimi ve bu sırada kan pıhtısındaki trombositlerden ve etraf enflamatuar hücrelerden PDGF salınımıdır [35]. PDGF-BB osteoblast öncülleri ve osteoblastlar için kemotaksik ve



mitojenik olup böylece kırık iyileşmesini osteoprogenitör hücrelerin kırık bölgesine kemotaksisini uyarıp mitojenik yeteneklerini artırarak hızlandırmaktadır [31]. PDGF'e cevap olarak kemik iliğindeki mezenşimal kök hücreler kondrositleri oluşturmak üzere aktive olurlar. Sonuçta oluşan kırıkta yeni kemik oluşumu için bir çerçeve oluşturur ki bu endokondral ossifikasyon olarak bilinmektedir [35]. Mezenşimal kök hücreler direkt olarak osteoblastlara da farklılaşabilirler [31, 36]. Aynı zamanda osteoklast sayısını artırarak kemik rezorpsiyonunu uyarır ve kemiğin yeniden şekillenmesini hızlandırır [37]. PDGF-BB kemik rejenerasyonunda anahtar role sahip olan anjiyojenik vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) salınımını da arttırmaktadır [27] bu özelliğiyle anjiogenezisin stimülasyonundan da sorumludur [38], bu aşamada osteoprotegerin (OPG) de rol oynamaktadır [39].



**Şekil 2.3:** PDGF altgrupları

Tümörler, endotel hücreler, makrofajlar ve düz kas hücreleri de PDGF benzeri büyüme faktörleri salgırlarlar[40]. İnsan vücudunda PDGF üretme yeteneği olan hücreler ve ürettikleri PDGF altgrupları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Hücre Tipi	PDGF-A	PDGF-B
Fibroblast	+	+
Keratinosit	+	+
Plasental sitotrofoblast	+	+
Leydig hücresi	+	+
Böbrek mezangial hücresi	+	+
Myoblast	+	
Damar düz kas hücresi	+	+
Damarsal endotel hücresi	+	+
Astrosit	+	
Nöron	+	+
Schwann hücresi	+	+
Oosit, blastokist	+	
Endometrium/ myometrium	+	+
Meme epitel hücresi	+	+
Retinal pigment epitel hücresi	+	+
Makrofaj	+	+
Trombosit/ megakaryosit	+	+

**Tablo 2.1:** PDGF üretim yeteneği olan hücre tipleri ve üretebildikleri PDGF altgrupları

PDGF; makrofajlar ve polimorfonükleer lökositlerin kemotaksisini uyarır [40]. 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 arttırır [41]. Hücrelerin PDGF'e bir kaç dakika maruz kalması fos ve myc proto-onkogenlerini aktive etmektedir. Bu genler transkripsiyon faktörü olan c-fos ve c-myc proteinlerini kodlar. Bu proteinler hücre bölünmesini kontrol eden diğer G1 cyclinleri ve siklin bağımlı kinazların (CDK) ifadesine yol açar [42]. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır [41].

İnsan rekombinant PDGF-BB'nin (rhPDGF-BB) lokal uygulanması tavşan osteotomi modellerinde kırık iyileşmesini hızlandırmış [33], rhPDGF-BB'nin sistemik uygulanması ise osteoporotik rat modelinde kemik yoğunluğu ve biyomekanik gücü arttırmıştır [43]. Ek olarak, insan çalışmalarında rhPDGF-BB'nin lokal olarak beta-trikalsiyum fosfat (b-TCP) ile beraber 1.0 mg/ml ve 0.3 mg/ml dozlarında uygulanması belirgin olarak kemik oluşumunu arttırmıştır [44]. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, hayvan modellerinde, etkili bir yara iyileşmesi destekleyicisi olarak da gösterilmiştir. Tavşan kulağı modelinde epitelizasyon hızını arttırdığı saptanmıştır. Farelere yerleştirilen subkütan spançlara hergün PDGF beta enjekte edilmiş ve enjeksiyon yapılmayanlara oranla, yapılanlarda, tedavinin 7. gününde hücre miktarında ve kollajen içeriğinde artma saptanmıştır. Farelerdeki insizyonel yaralanmalara kollajen vezikül içinde PDGF-BB uygulandığında, 7 hafta sonunda, kontrollere oranla, yara iyileşmesi daha belirgin olarak saptanmıştır. Diabetik farelerde eksizyonel yaralar, PDGF'nin topikal uygulanımı ile desteklendiğinde daha hızlı kapanmıştır [40].

Başarılı kemik ve kıkırdak doku iyileşmesinin üç bileşeni düzenleyici sinyaller, hücreler ve ekstrasellüler matrikstir. Hücresel ve moleküler biyolojide büyüme ve farklılaşma faktörleri açısından güncel gelişmeler biyoteknoloji ve biyomateryaller açısından yeni bir dönem başlatmıştır. BMP, PDGF ve IGF-I gibi büyüme faktörlerinin saflaştırılması ve kopyalanması mezenşimal kök hücrelerin kemik ve kıkırdak hücreleri üretmesini sağlayacak sinyallerin optimum kombinasyonunu elde etmeye yarayacaktır [26].

## 2.3 Biyomateryaller

İnsan vücudunda hasarlı organ ve dokuları tamir etmek ve/veya bunlara destek sağlamak amacıyla iatrojenik olarak hastaların vücuduna yerleştirilen cihazlara implant; bu amaçla kullanılan malzemelerin tümüne biyomateryal denilmektedir [3]. Neredeyse vücudun her yerine değişik amaçlarla yerleştirilebilen implantlar; ortopedik cerrahide en sık olarak kırıkların osteosentezinde tespit amaçlı, osteoartrit cerrahi tedavisinde ise eklem yüzey replasmanı amacıyla kullanılmaktadır. Biyomateryaller sıklıkla silikon ve polietilen türevleri, seramik, cerrahi çelik, TiAl (titanyum-alüminyum), CrCo (krom-kobalt) v.b. alaşımlar ve biyoyıkılabilir plastik gibi sentetik ya da doğal yollarla elde edilmiş çok çeşitli materyallerden üretilmektedir. İmplantlar kullanım yeri ve amaçlarına göre geçici süreli veya kalıcı olarak uygulanabilmektedir.

### Ortopedik cerrahide sıklıkla kullanılan materyaller

#### A. Metaller

- a. Cerrahi paslanmaz çelik
- b. Kobalt alaşımları
- c. Titanyum ve alaşımları
- d. Tantal

#### B. Polimerler

- a. Polimetilmetaakrilat (PMMA)
- b. Polietilen
- c. Biyoyıkılabilir polimerler
- d. Hidrojeller

#### C. Seramikler

- a. Alumina seramikler
- b. Zirkonyum seramikler

Biyomateryallerin görevini ideal olarak yerine getirmesi için sağlaması gereken bazı özellikler mevcuttur. Buna göre ortopedik cerrahide kullanılacak bir biyomateryal;

- 1) Fizyolojik olarak inert olmalı,
- 2) Toksik olmamalı,
- 3) Kırılmaya ve aşınmaya karşı koyabilmeli,
- 4) Yıpranmaya (korozyona) ve materyal özelliğine göre yıkılmaya (degradasyon) karşı koyabilmeli,
- 5) Vücut içerisinde kaldığı sürece görevini yerine getirebilmelidir [29].

Bir biyomateryalin inert olması vücutta konak yanıtı oluşturmaması veya minimum yanıt oluşturmaması demektir. Biyomateryalin kırılma ve aşınmaya dayanıklılığı en azından fizyolojik yüklerle karşı koyabilecek düzeyde olmalıdır. Günümüzde kullanılan biyomateryallerin bir kısmı biyoyıkılabilir olduğu için materyalin degradasyona karşı koyabilmesi şartı mutlak olmamakla birlikte korozyona karşı dayanıklı olması tüm materyallerden beklenen bir özelliktir. İnsan vücudu yeryüzündeki en korozif ortamlardan biridir [29, 45]. Bu nedenle herhangi bir endikasyonla insan vücuduna implant yerleştirilmesi halinde zamanla ortama aşınma ürünleri salınmakta ve takiben meydana gelen enflamatuar cevap ile doku yıkımına bağlı etkiler sonucunda kullanılan malzemenin biyoyumluluğunu azaltmaktadır [29]. İnsan vücudu içerisinde meydana gelen yıpranmanın çeşitli tipleri mevcuttur. Bunlar kısaca [29, 45]:

- 1) Galvanic etkiler: İmplant olarak kullanılan iki farklı metal arasındaki etkileşime bağlı,
- 2) Crevice yıpranma: İmplant yüzeyindeki defektlerin içi ve dışı arasındaki oksijen yoğunluğu farkı ve buna bağlı elektrolit ve pH farklılığına bağlı yıpranma,
- 3) Fretting yıpranma: Modüler implantların komponentleri arasındaki mikrohareketlere bağlı yıpranma,
- 4) Pitting yıpranma: Metal yüzeylerde lokalize çukur oluşumuyla karakterize yıpranmadır.

Korozyon ve bununla ilgili meydana gelebilecek komplikasyonlar metallere özgü olup polimerler ve seramiklerde korozyon meydana gelmemektedir. Polimerler ve seramiklerin biyouyumluluğunu azaltan esas sorun yüzey aşınması ve buna bağlı komplikasyonlardır. Aşınmaya bağlı komplikasyonlardan esas sorumlu çevre dokuda partikül birikimi ve buna bağlı doku reaksiyonudur. Bu noktada ise aşınmayla beraber çevre dokuda partikül birikimi yapmayan ve doku reaksiyonu oluşturmayan biyoyıkılabilir plastikler diğer tüm materyallerden ayrılmaktadır.

## **2.4 Biyoyıkılabilir Plastikler**

Biyoyıkılabilir plastikler Ortopedi ve Travmatoloji bilimindeki süregelen gelişme ve buna bağlı artan ihtiyaçlar dolayısıyla klinik kullanım amacıyla geliştirilmeye başlanmıştır. Günlük uygulamada son iki dekatta kullanıma girmeye başlayan ve halen geliştirilmekte olan biyoemilebilir plastikler çeşitli avantajlarıyla gelecek vadeden malzemelerden biridir. Gerek antibiyotik ve büyüme faktörleri gibi birçok ilaçla kombine kullanılabilmesi, gerek üretim ve uygulama maliyetlerinin düşük olması aynı zamanda da biyouyumluluğunun mükemmelere yakın olması bu malzemeyi diğerlerine göre daha avantajlı hale getirmektedir.

Günümüzde tıbbi kullanımda da yer alan ve kısaca biyoplastik olarak da adlandırılan polihidroksialkanoatlar özellikle 1970'lerdeki petrol fiyatlarının artışına bağlı olarak petrol kökenli polimerlere alternatif yaratmak amacıyla araştırılmaya başlanmıştır.[46] Bu arayışta ilk tanımlanan biyoplastik olan PHB'nin yeri büyük olmakla beraber bunun ardından değişik yapılarda 40 civarı polimer tanımlanmıştır.[47]

Bazı önemli biyoyıkılabilir polimerler:

1. Polihidroksibütirik asit (PHB)
2. Polilaktik asit (PLA)
3. Poliglikolik asit (PGA)
4. Polidioksanon (PDS)
5. Poliortoester (POE)
6. Laktik asit ve glikolik asit kopolimerleri

Özellikle PGA, PLA ve PDS keşiflerinin ardından tıpta özellikle dikiş materyali olarak geniş kullanım alanı bulmuştur.

#### 2.4.1 Tanım ve tarihçe

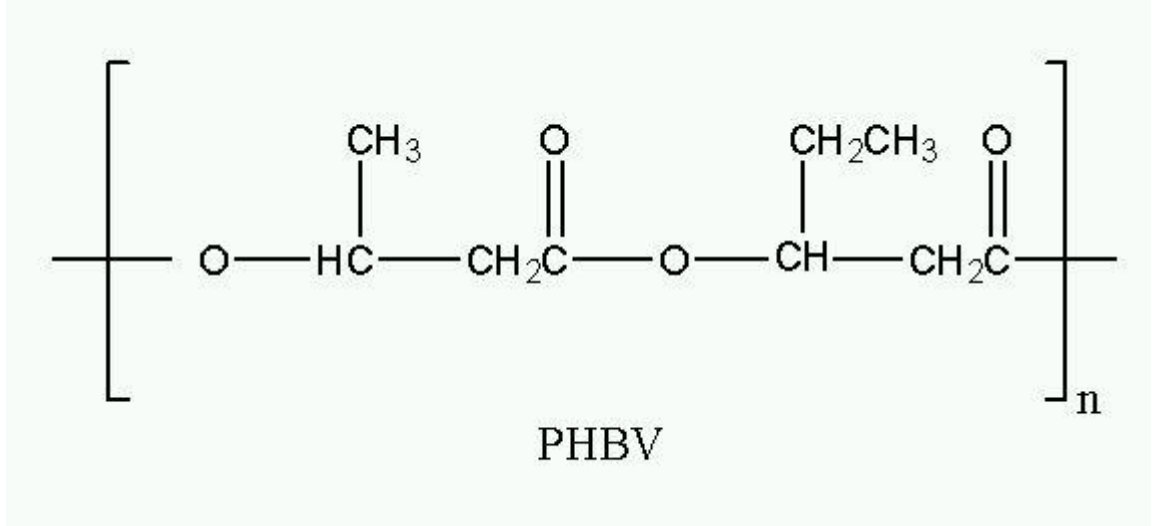
Biyoyıkılabilir plastik veya biyoplastik diye de adlandırılabilen polihidroksialkanoat (PHA) türevleri yaygın olarak kullanılan ve ekolojik kirliliğe yol açan petrol kökenli plastiklere alternatif olarak geliştirilmiş ve günümüzde kendine giderek yaygınlaşan kullanım alanı bulmuş polimerlerdir.

Polihidroksialkanoatların birçok çeşidi olmakla beraber bunların tümü doğal yıkım yollarıyla tamamen karbondioksit ve suya kadar yıkılabilmektedir. Yani ne üretim ne de kullanım ve yıkım süreçleri hiçbir negatif ekolojik etkiye yol açmamaktadır [48]. Aynı sebepten dolayı biyoyuymumluluğu mükemmele yakın olan biyoplastikler insan vücudunda implant olarak kullanıma diğer materyallere göre daha uygundur.

Bir polihidroksialkanoat türevi olan poli- $\beta$ -hidroksibütirat (PHB) ilk olarak Lemoigne tarafından 1926 yılında Paris'teki Pasteur Enstitüsünde *Bacillus megaterium* bakterisinden izole edilerek tanımlanmıştır [49]. Böylece ilk tanımlanmış biyoplastik olan PHB ve daha sonra tanımlanan polihidroksialkanoatlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda araştırmacılar bu molekülün aynen memelilerin yağ depolamaları gibi bakteri hücrelerinde enerji depolama amacıyla kullanıldığını göstermişlerdir [49]. Uzun süre ticari merak uyandırmayan PHB, 60'lı yılların başında tekrar ilgi alanı haline gelmiştir. 70'li yıllarda Imperial Kimya Endüstrisi (ICI)'nin ilgisini çeken ve tekrar araştırılmaya başlanan PHB'lerin ticari kullanımıyla ilgili olarak enstitü birçok patent almıştır. Üzerinde en çok çalışma yapılmış olan PHB, bu polimer sınıfına ticari ilgiyi uyandıran molekül olmuştur. Şirket 80'lerin sonuna doğru uluslararası olarak Biopol<sup>®</sup> ticari adıyla PHB pazarlamaya başlamıştır. 90'lı yıllarda birkaç defa el değiştiren Biopol<sup>®</sup>'ün geliştirme ve satış çalışmaları 1998 yılında tamamen durmuştur [49, 50]. PHB'nin kırılabilirliği kullanım alanını kısıtlamışsa da, kopolimeri olan poli- $\beta$ -hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) daha esnek olması nedeniyle kendine daha rahat bir şekilde kullanım alanı bulmuştur [49].

## 2.4.2 Genel özellikler

Poli-β-hidroksialkanoatlar birçok Gr(-) ve Gr(+) bakteri tarafından sentezlenen yapısal olarak basit makromoleküllerdir [50]. PHB polihidroksialkanoatların en yaygın tipi olup, 3-hidroksivalerat ve 4-hidroksibütirat monomerlerinin yapıya eklenmesiyle kopolimerleri oluşturulabilmektedir. Bakteri hücrelerinde hücre içi depo granülü şeklinde sentezlenen ve biriktirilen PHB hücre içinde sıvı fazda, amorf olarak bulunmakta, hücre dışına çıktığında ise kristalize olarak katı hale geçmektedir [46, 50]. İn vitro ortamda polipropilen gibi yaygın plastiklerin materyal özelliklerini göstermektedir [50]. PHB'nin genel formülü  $(C_4H_6O_2)_n$  şeklinde olup (n) sayısı sentezleyen bakteriye ve ortam özelliklerine göre değişim göstermektedir [46]. (Şekil 2.4) Molekül ağırlığı da değişken olmakla beraber genellikle 50,000 ile 1,000,000 Da arasındadır. PHB'nin erime sıcaklığı olan 170°C molekül yapısının termal olarak hasar gördüğü sıcaklığa çok yakındır. Bu durum molekülün işlenebilirliğini kısıtlamaktadır [50]. PHB'nin yapıya 3-hidroksivalerat eklenmesiyle oluşturulan bir kopolimeri olan poli-β-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat öncülüne göre daha esnek oluşu ve daha düşük ısılarda işlenebilme özelliğiyle kullanımda tercih edilir olmuştur.



**Şekil 2.4:** PHBV'nin formülü

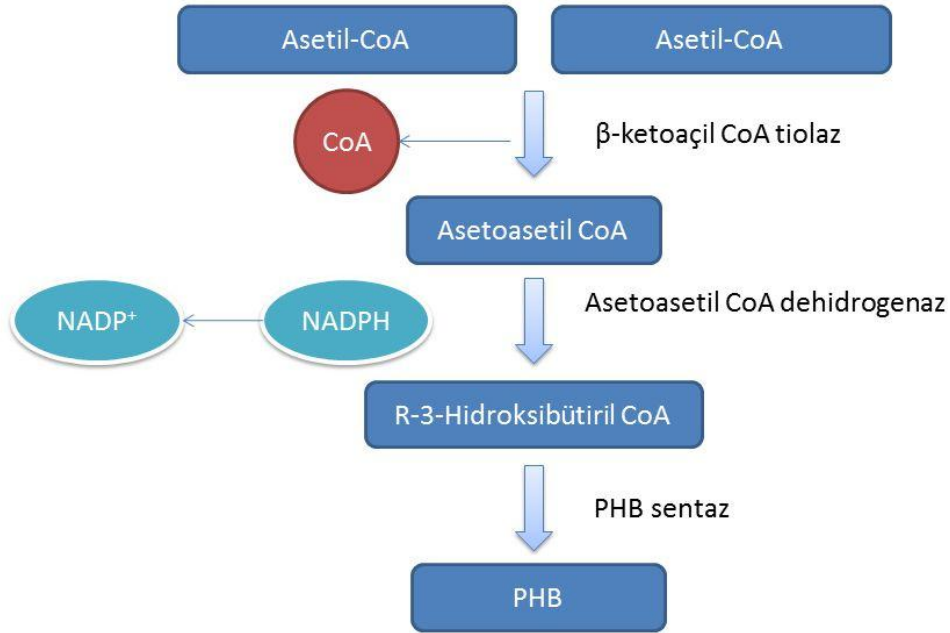
Bakteri hücresi içerisinde PHB sentezi ve depolanması özellikle karbon konsantrasyonunun yüksek, fakat azot, oksijen ve eser element konsantrasyonlarının



düşük olduğu hücre büyüme ve çoğalması için elverişsiz ortamlarda artmaktadır [46, 50, 51].

### 2.4.3 Sentezi

Polimerin biyosentezi, monomerlerin oluşumu ve birleştirilmesi gibi iki enzimatik aşama gerektirir. Hücre içinde polimer birikiminin artması için, yüksek NADP-H, yüksek asetil-CoA ve düşük serbest CoA düzeyinin olması gerekmektedir. En kapsamlı karakterize edilen polimer olan PHB'nin biyosentezi, üç değişik enzim tarafından katalize edilen, üç enzimatik reaksiyondan oluşmaktadır. İlk reaksiyon, iki asetil-CoA molekülünün  $\beta$ -ketoaçil CoA tiolaz tarafından asetoasetil-CoA'ya dönüştürülmesini içermektedir. İkinci reaksiyon, asetoasetil-CoA'nın NADP-H bağlı bir asetoasetil-CoA dehidrogenaz tarafından R-3hidroksibütiril-CoA'ya indirgenmesidir. Son olarak R-3hidroksibütiril-CoA monomerleri PHB sentaz tarafından PHB'e polimerize olmaktadır. (Şekil 2.5) Asetil-CoA ve 3hidroksibütiril-CoA, PHB sentezindeki ara araçlardır. Asetat ve PHB asetil-CoA'nın konsantrasyonunu arttırabilir ve hücrede 3hidroksibütiril-CoA ve 3H'nin sentezini bundan dolayı kolaylaştırır [50].



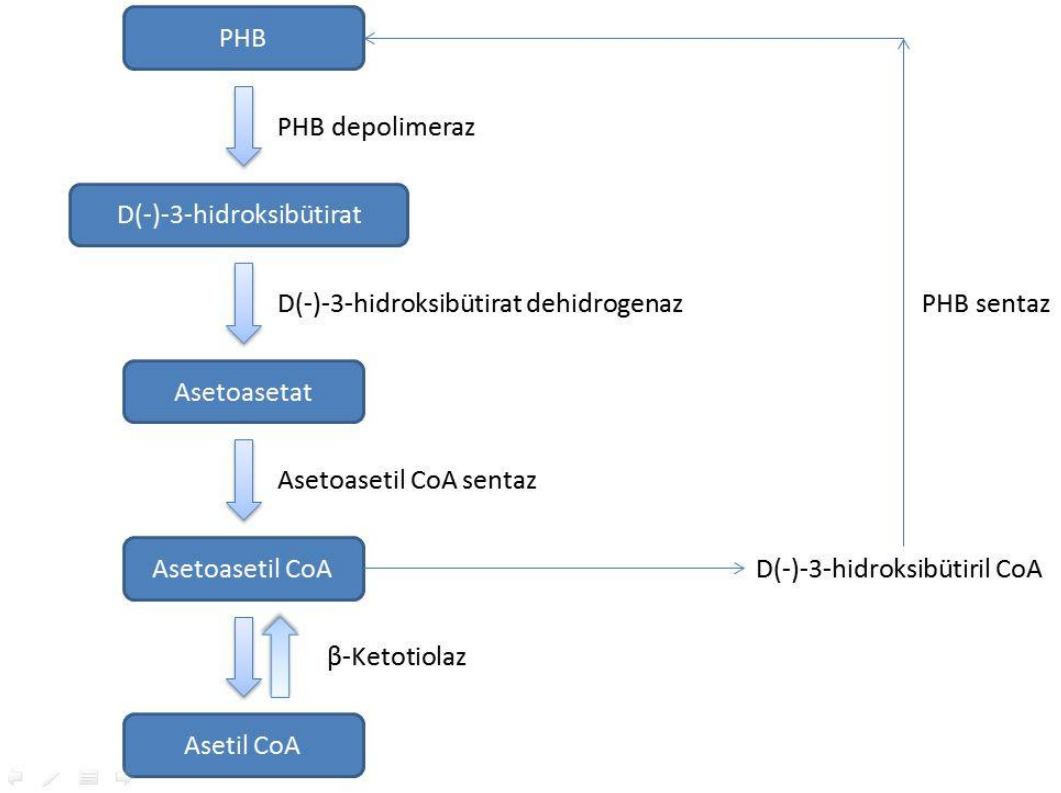
Şekil 2.5: PHB sentezi

PHB oluşumunda ilk basamağı katalizleyen,  $\beta$ -ketoaçil CoA tiolaz, açilCoA + asetil CoA daki substratların tiolitik ayrılmasını içeren enzim ailesinin bir üyesidir. Yüksek ökaryotlardan, mayalara ve prokaryotlara kadar doğal olarak bulunurlar [50].

Sınırlı karbonlu ortamda gelişme sırasında sentaz enzimi çözünmüş formda oluşmaktadır. Azot azlığında ise PHB sentaz oluşmaktadır. Çözünmüş sentazın bu şartlar altında hızla tükenmesi PHB granülleri ile ilişkilidir [51].

#### **2.4.4 Yıkımı**

PHA'ların kullanım avantajı sağlayan en önemli özelliklerinden biri de biyoyıkılabilir oluşlarıdır. PHB biyolojik parçalanabilirliği nedeniyle bir kez kullanıp atılan eşyaların üretiminde büyük avantaj sağlar [50]. PHB'nin yıkım süreci PHB depolimeraz enzimi aracılığıyla başlamaktadır. (Şekil 2.6) İnsan vücudu PHB depolimeraz enzimi içermemesi dolayısıyla PHB'nin vücut içinde biyolojik parçalanması yavaştır. Aynı zamanda parçalanma süresini belirleyen diğer faktörler polimer kompozisyonu, fiziksel formu, yapının boyutları ve ortam koşullarıdır. Bu faktörlere bağlı olarak yıkım birkaç aydan yıllara kadar uzayabilmektedir. Yıkım süreci içerisinde tamamen CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya kadar parçalanabilen polimer böylece yenilenebilir karaktere sahiptir.



**Şekil 2.6:** PHBV'nin yıkımı

Özellikle paketleme malzemelerinin yapımında kullanılan PHA'lar giderek hızlanan bir şekilde petrol ürünü kullanımını azaltmaktadır. Bebek bezi üretiminde ve yapışkan sanayiinde de kullanılmakla beraber latex olarak da kullanımı mevcuttur. PLA, PGA ve PDS tıp alanında özellikle 4-8 haftalık kısa yıkılma süreleri nedeniyle dikiş materyalleri olarak kullanılmaktadır [4]. PHB'nin yüksek biyoyumluluk ve uzun yıkılma süresi, geçici stent, ortopedik plak-vida ve çivi üretimlerinde kullanılmalarına olanak sağlamıştır. Biyoyumlu olan PHB monomerleri insan vücudunda bulunan doğal metabolit olmaları nedeniyle, vücutta sadece çok hafif bir immünolojik cevap oluşmasına neden olur [52].

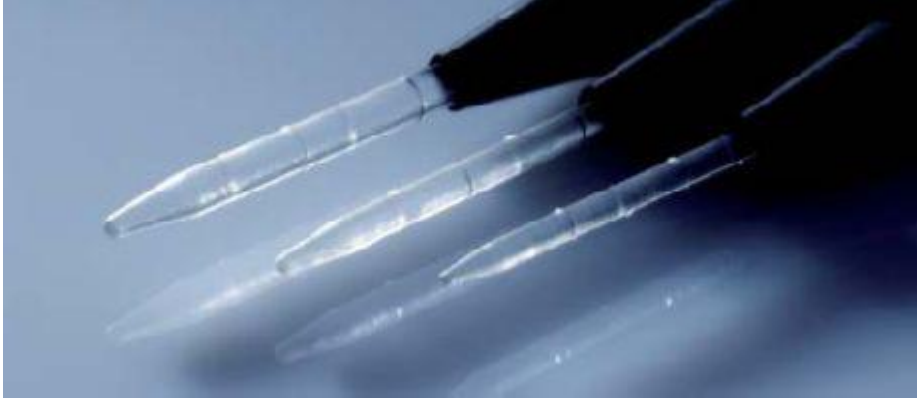
## 2.4.5 Mekanik özellikleri

PHA'ların dayanıklılıkları polimer yapılarıyla yüksek oranda ilgilidir. Bu bağlamda PGA'nın 100 MPa, PLA'nın 72 MPa, PHB'nin 40 MPa, PDS ve POE'nin ise 30 MPa'lık mukavemete erişebildikleri gösterilmiştir [53]. Materyal dayanıklılığının artırılmasını amaçlayan bir çalışmada örgülü polimer ipliklerin birbirine PGA ve PLA aracılığıyla yapıştırılmasıyla oluşan çubukların bükülme mukavemetleri 415 MPa değerine kadar çıkarılabildiği, ki bu değer çeliğe ait 280 MPa'lık değer yaklaşık 1,5 katıdır [4]. Buna rağmen materyalin makaslama kuvvetlerine karşı mukavemeti (27 GPa), çeliğinkine (200 GPa) göre çok zayıf kalmaktadır. Bu durum polimerin kullanımını bir miktar kısıtlamıştır.

## 2.4.6 Klinik kullanım

### 2.4.6.1 Pinler

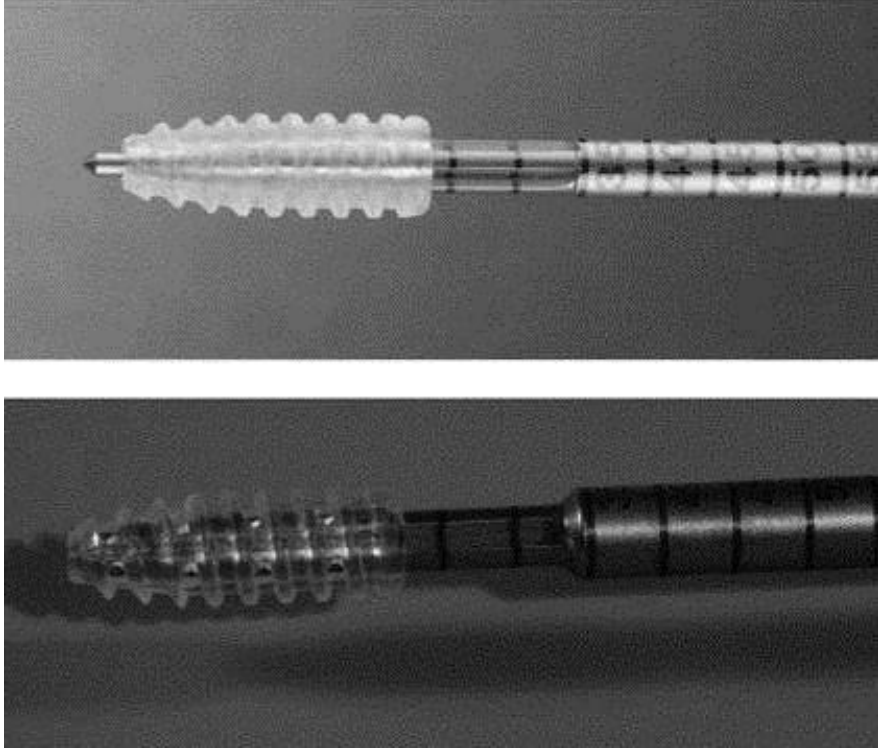
Biyoyıkılabilir plastiklerin implant olarak kullanımının en başarılı örneklerinden biri ortopedik cerrahide osteosentez amaçlı kullanılan pinlerin üretimidir. Hali hazırda piyasada PDS (Ethin®) ve PGA (Biofix®) polimerlerinden üretilmiş pinler bulunmaktadır. (Şekil 2.7) PDS kökenli pinler dayanıklılığının %50'sini 6 hafta sonra hala taşıyor iken bu seviyeye PGA kökenli pinler 10. günde inmektedir [4]. Bu pinler özellikle küçük kemik, radius başı gibi kırıklarda, ve eklemi ilgilendiren osteokondral kırıklarda tespit amaçlı kullanılmaktadır. Literatürde bildirilen klinik sonuçlar oldukça yüz güldürücüdür. Radius başı kırıklarının tespitinde titanyum ve polimer pinleri karşılaştıran bir çalışma da iki materyal arasında fonksiyonel ve klinik olarak anlamlı bir fark bulamamıştır [54].



**Şekil 2.7:** Değişik çaplarda biyoyıkılabilir pinler

#### **2.4.6.2 İnterferans vidaları**

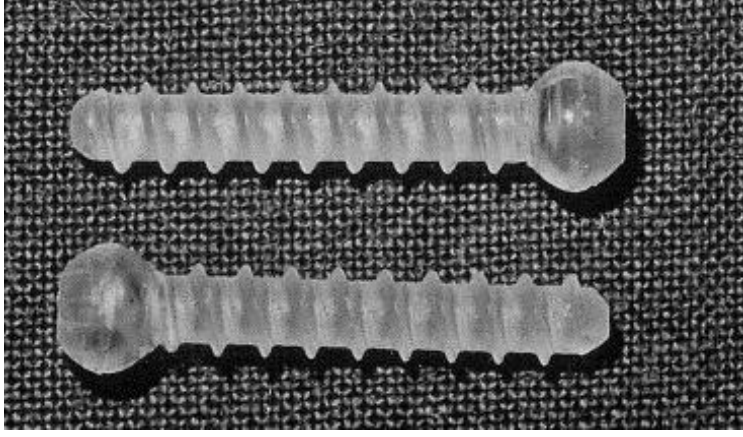
Çapraz bağ cerrahisinde kullanılan interferans vidalarının da uzun zamandır polimerlerden üretimleri yapılmakta ve kullanılmaktadır. (Şekil 2.8) Kullanılan polimerin değiştirilerek vidaların yumuşatılması veya vida şeklinde çeşitli düzenlemeler yapılması metal vidalara göre transplant hasarını minimal seviyelere çekmiş ve komplikasyon oranını azaltmıştır. Titanyum vidalar ile polimer kaynaklı vidaların karşılaştırıldığı bir çalışmada polimer vidaların tespit açısından üstünlüğü gösterilmiştir [55].



**Şekil 2.8:** Değişik firmaların üretimleri olan biyoyıkılabilir interferans vidası

#### **2.4.6.3 Biyoyıkılabilir vidalar**

Ortopedik cerrahide vidalar esas olarak sindesmoz yaralanmalarında ve interfragmanter çektirme amaçlı çekme kuvvetlerinden yararlanmak amaçlı kullanılmaktadır. Bu amaçla ortopedik cerrahide kullanılmak üzere özellikle kortikal vida olmak üzere çeşitli vidaların biyoyıkılabilir polimerlerden üretimi mevcuttur. (Şekil 2.9 ve 2.10) Hali hazırda üretilmekte olan biyoyıkılabilir vidaların çekme kuvvetleri (yak. 110-190 N) metal vidalara (2.500 N) göre hayli düşük olsa da değişik materyaller üzerinde ve materyal kuvvetlendirme üzerinde yapılan çalışmalar umut vericidir [4, 56].



**Şekil 2.9:** Biyoyıkılabilir kortikal vida

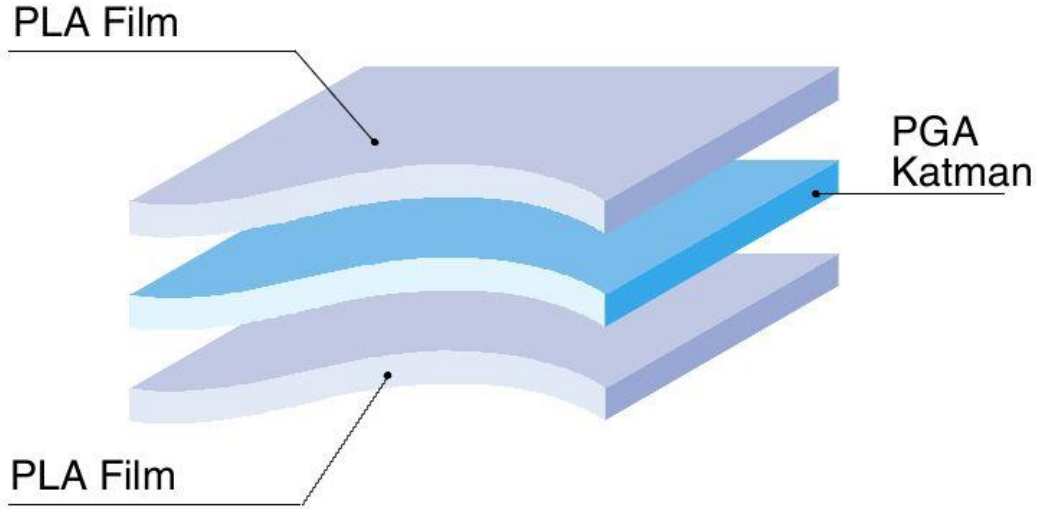


**Şekil 2.10:** Biyoyıkılabilir pin ile beraber başsız vida

#### **2.4.6.4 Membranlar**

Belli bir büyüklüğün üzerindeki kemik defektlerinin spontan iyileşmesi mümkün olmamaktadır. Bu büyüklükteki kemik defektleri fibröz dokuyla dolmakta, ossifikasyon olmadığı için ise kemik iyileşmesi eksik kalmaktadır. Bu defektlerin titanyum veya Goretex® membranlarla örtülmesi kemik dokunun fibröz doku içerisinde ilerleyerek defekti tamir etmesini mümkün kılmaktadır. Fakat bu membranların ikinci bir ameliyatla çıkartılmaları şarttır. Bu amaçla geliştirilmiş olan PDS membranlar mekanik olarak stabil olmadığından iyileşme dokusunun kollabe olmasına neden olmuşlardır. Yeni geliştirilmiş olan PLA ve PGA temelli membranlar

ise daha uzun yıkılma süreleri ve daha stabil formları nedeniyle kollapsı engelleyerek tedavi başarısını arttırmaktadır [57]. (Şekil 2.11)

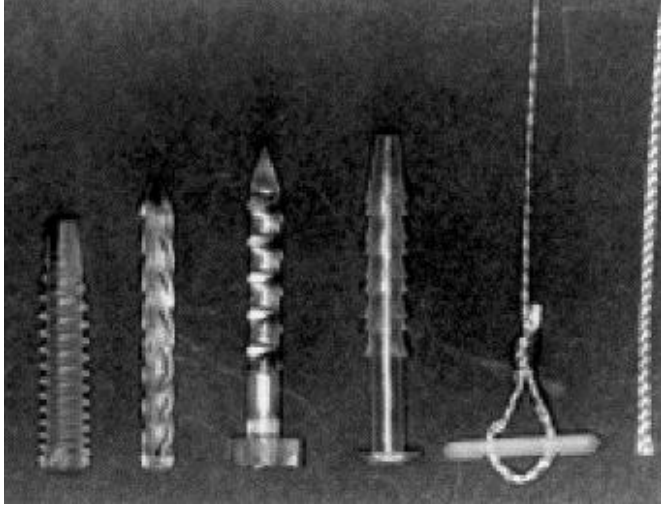


**Şekil 2.11:** Biyoyıkılabilir membran yapısı

#### 2.4.6.5 Menisküs tamir cihazları

Uzun süredir değişik düğüm teknikleriyle yapılmakta olan menisküs tamiri hem zor hem de zaman alıcı olmaktadır. Bu amaçla son yıllarda birçok biyoyıkılabilir cihazlar geliştirilmiş olmakla birlikte, (Şekil 2.12) başarıları hakkında literatürde halen yeterli araştırma mevcut değildir [4].





**Şekil 2.12:** Biyoyıkılabilir menisküs tamir cihazları

#### **2.4.6.6 Özel dikişler**

Özellikle omuz eklem instabilitesi ve rotator manşet yırtıklarında yapılan tamirlerde kullanılmak üzere geliştirilmiş PDS kaynaklı özel dikişler piyasada mevcuttur. Bu özel dikişlerin aynı amaçla kullanılan dikişlere hem komplikasyonlar, hem de mekanik özellikler açısından üstün oldukları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [58].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü bünyesinde yürütülmüştür. Biyoyıkılabilir çubukların hammaddesi olarak doğal kaynaklı poli- $\beta$ -hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat (Sigma-Aldrich Co., USA), salınacak madde olarak rekombinant rat PDGF-BB'si hidroksivalerat (Sigma-Aldrich Co., USA) kullanılmıştır. (Şekil 3.1) Çalışmada ağırlıkları 300-350 gr olan toplam 35 erkek Sprague-Dawley cinsi rat (Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş., Ankara) kullanılmıştır. Çalışma için 27/05/2009 tarih 09/05 sayılı toplanan Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 09/28 karar numarasıyla etik kurul izni alınmıştır. Çalışma sırasında ameliyatlara ve deney hayvanlarının bakımı için Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. ameliyathanesi ve bakımhanesi kullanılmıştır.



Şekil 3.1: a) PHBV, b) PDGF

### 3.1. Grupların Belirlenmesi

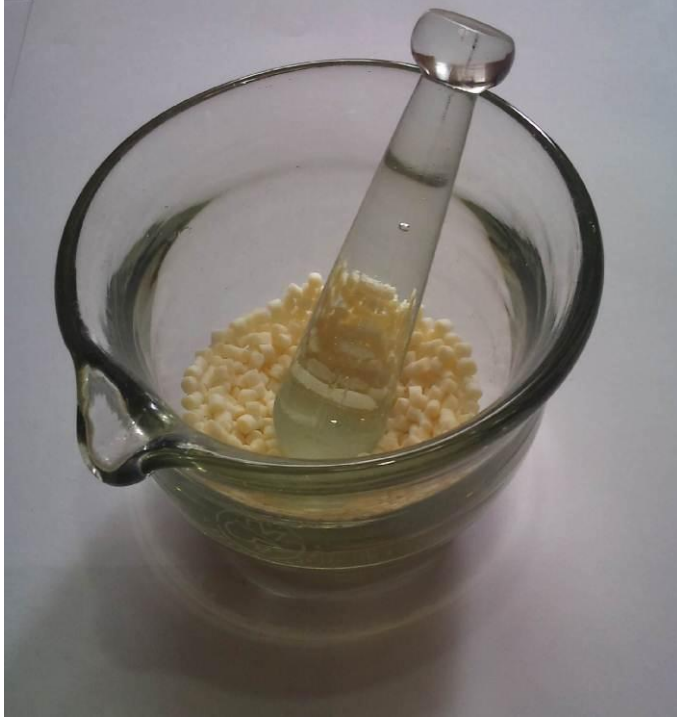
Uygulanacak çalışma için bu ratlar rastgele olarak 4 gruba ayrılmıştır. Bu gruplardan kontrol grubu olan Grup A'daki ratlara kırık modeli oluşturulup herhangi bir tedavi verilmemiştir. Tedavi gruplarından ilki olan Grup B'ye tedavide sadece biyoyıkılabilir implant uygulanmıştır. İkinci tedavi grubu olan Grup C içerisindeki her bir rata tedavi olarak çalışmanın süreceği postoperatif 30 gün boyunca günlük 20 ng salınmaya yetecek toplam 600 ng PDGF-BB yüklenmiş implant uygulanmıştır. Bu üç grup 10'ar rattan oluşturulmuştur. Grup D ise sağlıklı 5 rattan oluşacak şekilde belirlenmiştir. (Tablo 3.1)

	Grup adı	Rat Sayısı
<b>Kontrol</b>	A	10
<b>PHBV implant</b>	B	10
<b>PHBV implant + PDGF</b>	C	10
<b>Sağlam</b>	D	5

**Tablo 3.1:** Çalışma gruplarının dağılımı

### 3.2. İmplantların hazırlanması

İmplantların hazırlanması amacıyla bir miktar polimer (Şekil 3.2) yeterince kloroform içerisinde cam havanda dövülüp eritildikten sonra; elde edilen materyal homojen ve akışkan olmayan bir macun kıvamına gelene kadar havanda karıştırılmıştır [59]. (Şekil 3.3) Ardından oluşan bu macundan 42 mm uzunluk ve 3 mm çapa sahip silindir şeklinde işlenebilecek miktarı ayrılmış; içerisine 50 µg PDGF-BB'den hazırlanmış olan solüsyonun ¼'ü eklenerek homojen macun kıvamına gelene kadar seramik havan içerisinde karıştırılmıştır.



**Şekil 3.2:** Cam havan ve içinde hazırlanmak üzere konmuş PHBV

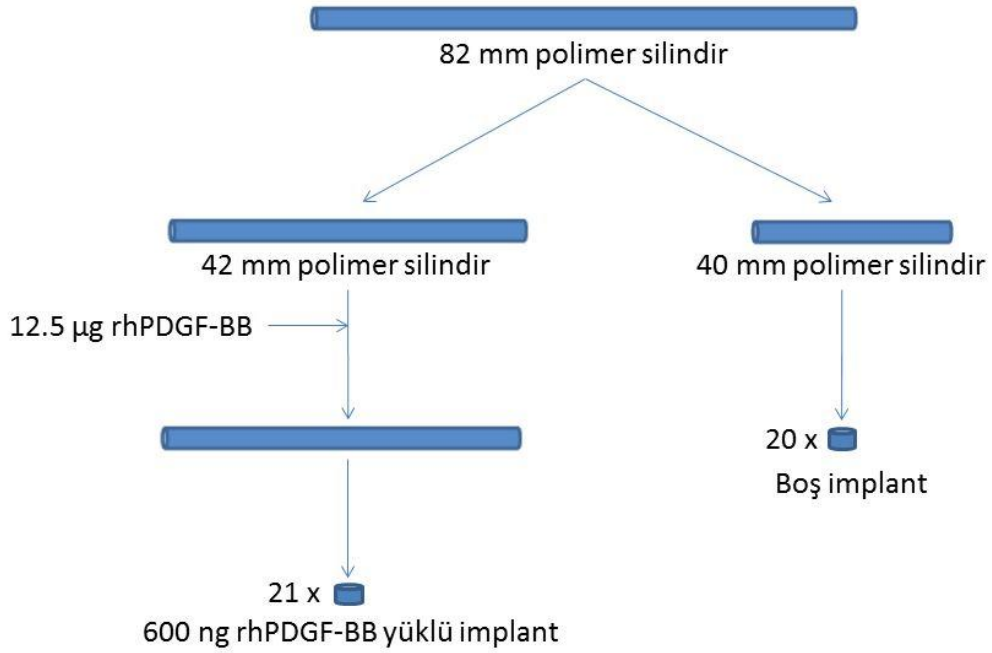


**Şekil 3.3:** Cam havanda eterle muamele edilerek macun haline getirilmiş PHBV

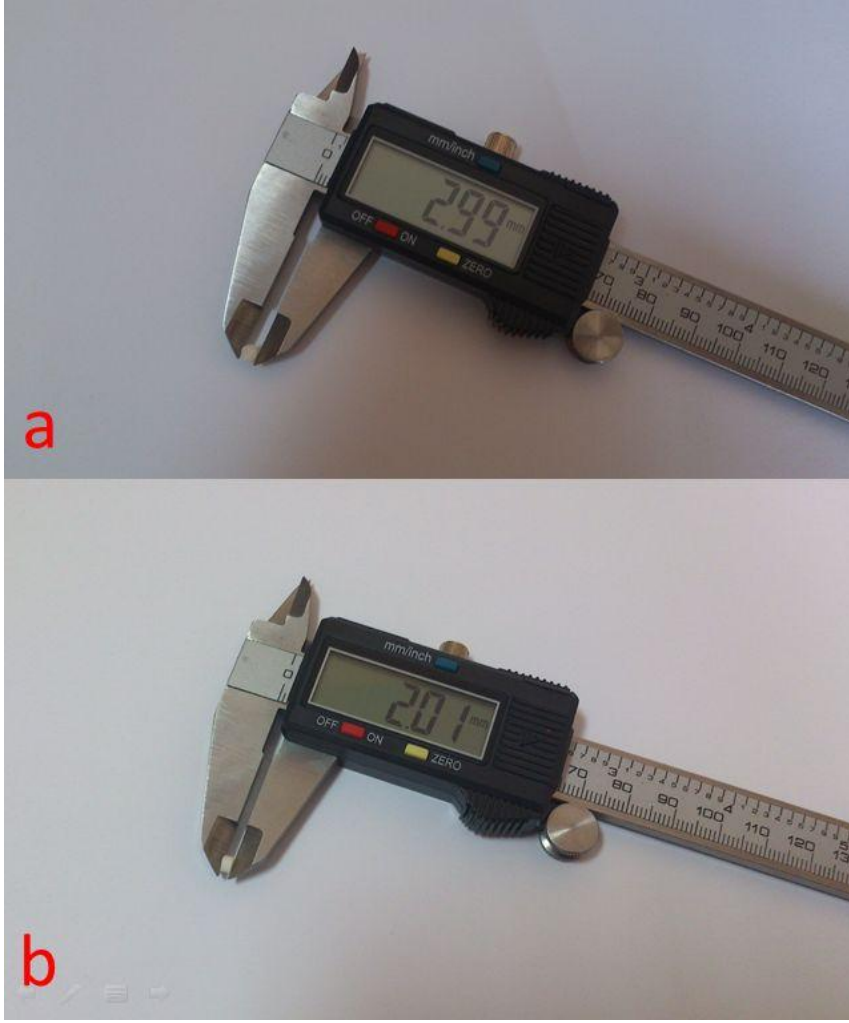
Böylece önceden hazırlanmış olan kalıba alınan (Şekil 3.4) polimer kurumayı takiben 2.0 mm yüksekliğinde kesilerek her biri 3.0 mm çaplı, 2.0 mm uzunluğunda (Şekil 3.5) ve 600 ng PDGF-BB içeren 21 adet implant elde edilmiştir. Kalan polimerden ise yine kalıpta kurutma sonrası kesim işlemini takiben 3.0 mm çaplı, 2.0 mm yüksekliğinde 20 adet boş implant elde edilmiştir. (Şekil 3.6)



Şekil 3.4: İmplantların hazırlandığı kalıp



Şekil 3.5: İmplantların işlenme süreci



**Şekil 3.6:** Hazırlanan imlantların çap ölçümleri

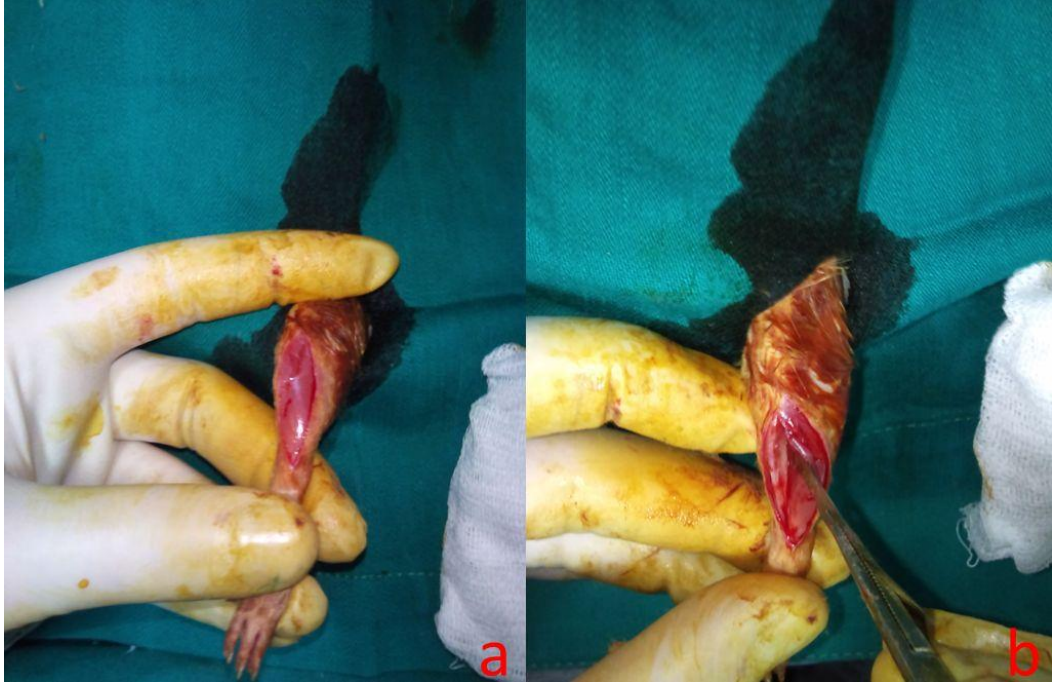
### **3.3. Cerrahi Prosedür**

Tüm ameliyathane ratların preoperatif gerekli hazırlıklarının yapılmasını takiben steril ameliyathane koşullarında ve genel anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Anestezik olarak Ketamin (Ketalar®, Pfizer, Türkiye) 50 mg/kg ve Xylazine (Rompun®, Bayer, Türkiye) 10 mg/kg kombinasyonu kullanılmıştır. Anestezik kombinasyonu intraperitoneal olarak sol kasık bölgesinden uygulanmıştır. Ameliyat öncesi ratların sağ alt ekstremiteleri temizlenerek traş edilmiş, % 7,5 povidon iyot (Batticon®, Adeka, Türkiye) çözeltisiyle uygun saha temizliğinin ardından steril örtülmüştür. (Şekil 3.7)



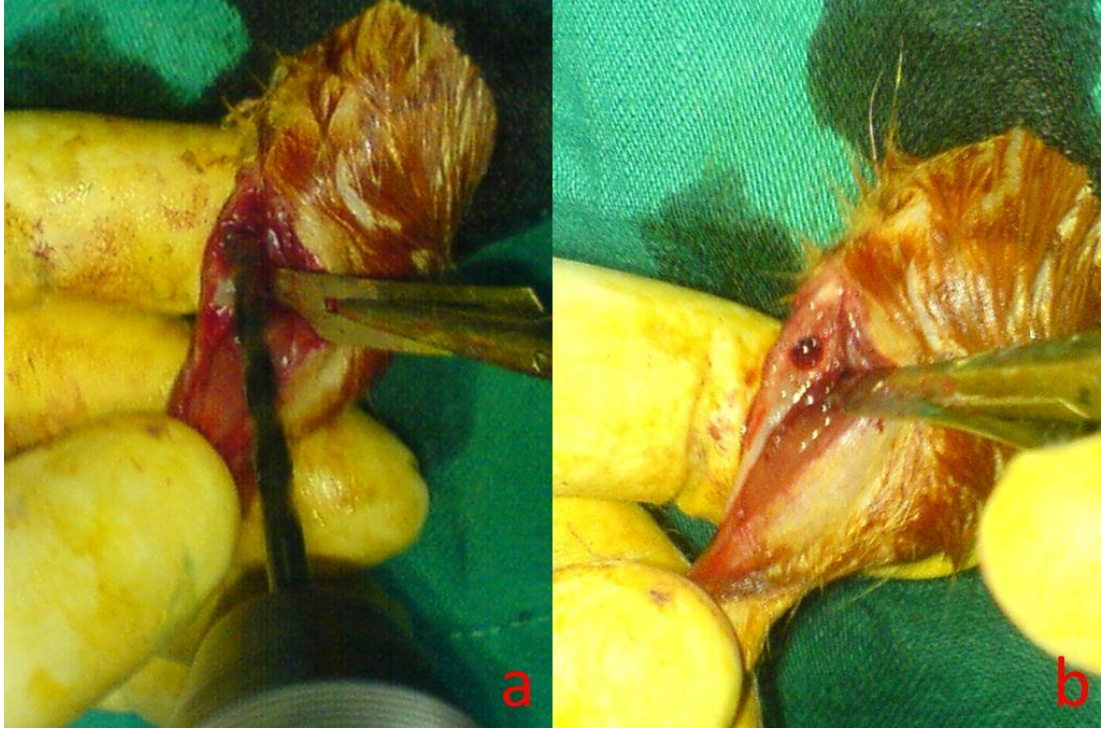
**Şekil 3.7:** a) Cerrahi saha temizliği, b) Ekstremitenin steril örtülmesi

Ardından tibia proksimal 1/3 kısım anteromedialinden yapılan yaklaşık 1 cm'lik longitudinal insizyonla girilerek ciltaltı yerleşimli kemiğe ulaşılmıştır. (Şekil 3.8)



**Şekil 3.8** a) Cilt insizyonu, b) Tibia anterior kenarından medial kortekse ulaşılması

Çalışmanın standardizasyonu açısından tüm ratların sağ tibiasında proksimal metafizodiafizer bölgede 3.0 mm çaplı, implantların içerisine yerleştirilecekleri delikler elektrikli matkap yardımıyla 1200 devir/dk hızında açılarak kırık modeli oluşturulmuştur [8, 60]. (Şekil 3.9)



**Şekil 3.9:** a) Delme işleminin gerçekleştirilmesi, b) Delik açılmış tibia

Kırık modelinin oluşturulmasının ardından Grup A ratlara herhangi ek girişim yapılmadan, Grup B ve Grup C ratlar ise kırık hattına sırasıyla PDGF içermeyen ve PDGF içeren implantların yerleştirilmesini takiben ciltleri kapatılmıştır. (Şekil 3.10 ve 3.11)





**Şekil 3.10:** Tibiaya implantın yerleştirilmesi



**Şekil 3.11:** Tibiaya yerleştirilmiş implant

Tüm ratların ciltleri 4/0 emilebilen örgülü sûtür (Vicryl Rapide, Ethicon Inc., USA) kullanılarak anatomik olarak kapatılmıştır. (Şekil 3.12)



**Şekil 3.12:** Kapatılmış insizyon

Cilt kapatılmasını takiben yaralara %7,5 povidon iyot ile pansuman yapılmış, yaraların üzeri kapatılmamıştır. Ratlar farklı kafeslerde normal diyetle beslenirken aktivite kısıtlamasına gidilmemiştir. İmplant yerleştirilen ratlar sakrifiye edilmeden önce veteriner hekim kontrolünde 30 gün bakım almışlardır. Postoperatif 30. günün tamamlanmasının ardından tüm ratlar sakrifiye edilip çalışma tamamlanmıştır. Ratların sakrifikasyonu amacıyla karbondioksite maruz bırakma yöntemi seçilmiştir. Çalışma sırasında rat ölümü olmamış, ve hiçbir ratta cerrahi bağımlı ve cerrahi bağımsız komplikasyon görülmemiştir. Tüm ratların postoperatif 0. ve 30. günlerde direkt grafileri çekilip tibialar sakrifikasyon sonrası rezeke edilmiştir. Toplanan tibialar gruplarına göre ayrılarak mekanik çalışmaya hazırlanırken %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde bekletilmiştir.

Ratların sakrifikasyonunun ardından tibialar radyolojik, makroskopik, histolojik ve mekanik olarak incelenmiştir. Radyolojik olarak 30. gündeki kırık iyileşmesi, makroskopik olarak anteroposterior ve mediolateral kallus çapları ölçülmüştür. Histolojik olarak ise kırık bölgesinde meydana gelmiş olan kallusun karakteri mikroskobik olarak incelenmiş, mekanik olarak da tibiaların maksimum burulma mukavemet güçleri ve sertlikleri ölçülmüştür.

### 3.4. Radyolojik Değerlendirme

Grup A, B ve C ratlar postopoperatif 30. günde sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyonun ardından tüm ratların kırık modeli oluşturulmuş tibialarının X-Ray grafileleri çekilerek Goldberg skorlarına bakılmıştır [61, 62]. (Tablo 3.2) Bu evreleme sistemine göre evre 0 radyolojik kaynama yokluğu, evre 1 muhtemel kaynama, evre 2 ise radyolojik kaynama olarak değerlendirilmektedir.

Skor	X-Ray Bulgusu
0	Kaynama yokluğu
1	Muhtemel kaynama
2	Tam kaynama

**Tablo 3.2:** Goldberg'in radyolojik kırık iyileşmesi skora sistemi

### 3.5. Makroskopik değerlendirme

Sakrifiye edilen ratların X-Ray grafilelerinin çekilmesinin ardından tibiaları tibiofemoral ve tibiotalar eklemlerden dezartiküle edilmiştir. Tibiaların üzerindeki tüm yumuşak dokuların sıyırılmasının ardından kallusların en geniş oldukları yerden dijital kumpas (PMS 150, Conrad Electronic GmbH., Germany) (Şekil 3.13) yardımı ile anteroposterior ve mediolateral çapları ölçülerek kaydedilmiştir.



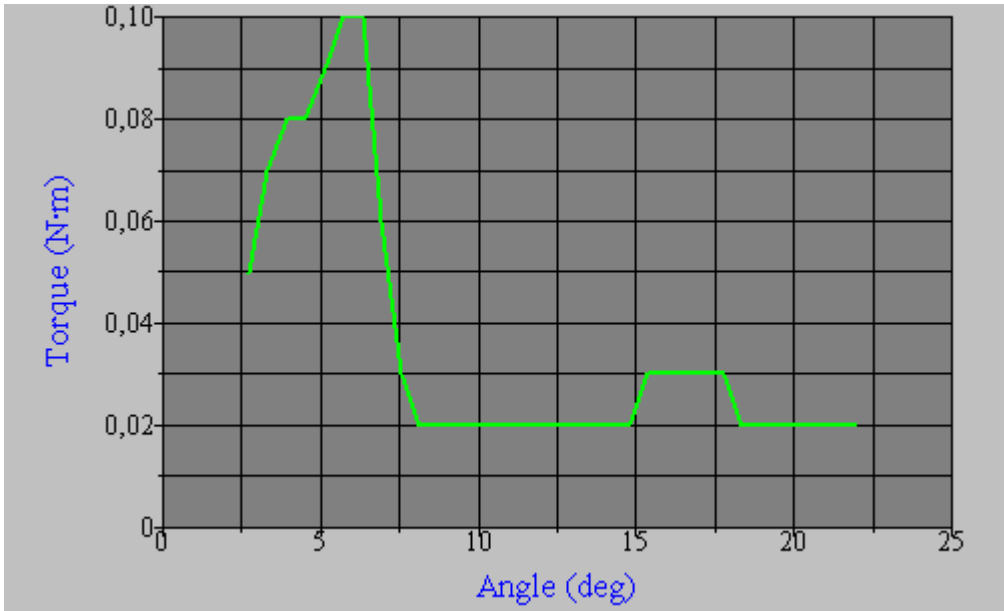
**Şekil 3.13:** Dijital kumpas

### 3.6. Mekanik test

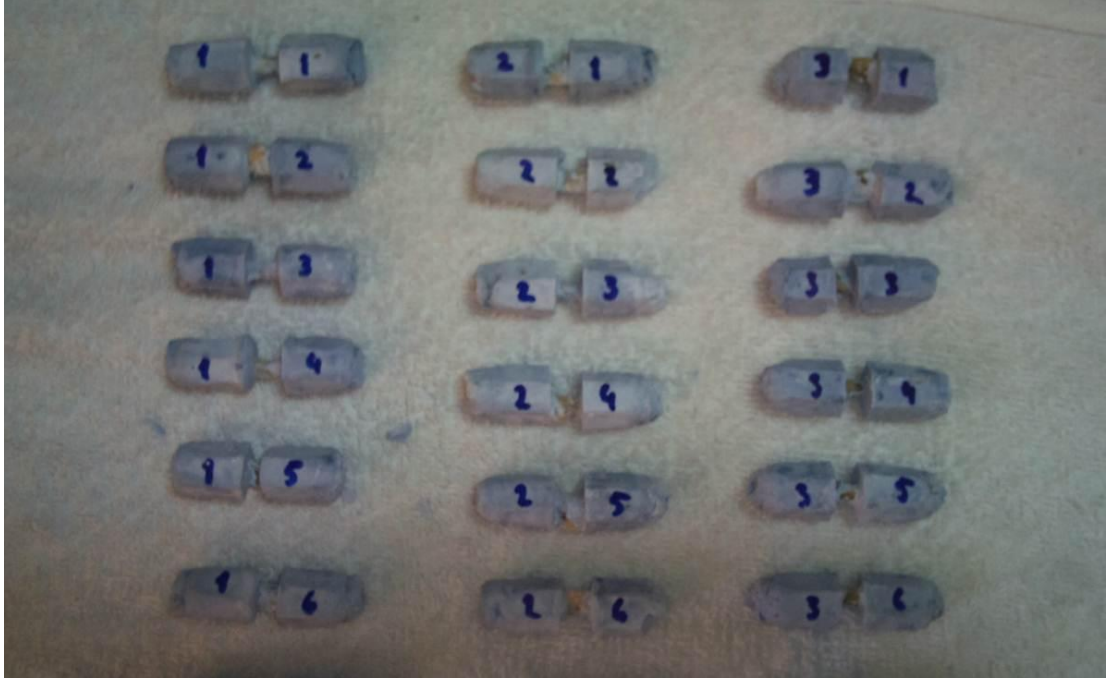
Tüm tibialara kallus çaplarının ölçülmesinin ardından düşük kapasiteli burma test sistemi (Instron 55MT2, Instron Inc., USA) (Şekil 3.14) ve özel burulma testi yazılımı ile (Partner™, Instron Inc., USA) (Şekil 3.15) burma testinde (TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Malzeme Test Laboratuvarı, Ankara) mukavemet ölçümü yapılmıştır. Cihazda tibialara ait mukavemet güçlerinin ölçümünü yapabilmek için cihazın hareketli ve sabit çenelerine uygun şekilde tibiaların proksimal ve distal uçları akrilik çimento içerisinde kalıba alınmıştır. Böylelikle tibialar test cihazının iki çenesine uyumlu hale getirilmiştir. Tibialar kalıba alınırken yalnız kallus dokusunun çimento dışında kalması, böylece kallus bölgesindeki burulma mukavemetinin ölçülmesi planlanmıştır. (Şekil 3.16) Bu amaçla tibialar cihazda teste tabi tutulurken akstaki bozukluğa bağlı gelişebilecek bending veya shear stressleri engellemek amacıyla akrilik çimentonun donması sürecinde tarafımızca yapılmış olan asansör sisteminde kalıplar sabitlenerek bekletilmiştir. (Şekil 3.17) Burulma testleri 2,5 derece/sn sabit hızda gerçekleştirilmiştir [63]. Yük-derece grafiğinde kayıt sırasında ani düşüşün olduğu yerden önceki en yüksek tork değeri maksimum burulma mukavemet gücü (N.m) olarak nitelendirilmiştir. Maksimum burulma mukavemet gücü, yani kemikte kırığa yol açan moment kuvvetinin kırık anındaki burulma açısına bölünerek burulma sertliği hesaplanmıştır (Şekil 3.18). Gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma için maksimum burulma mukavemet gücü ve burulma sertliği kullanılmıştır.



Şekil 3.14: Instron 55MT2 düşük kapasiteli burma test sistemi



Şekil 3.15: Partner burulma testi grafiği



**Şekil 3.16:** Burma test sistemine uygun olarak işlenmiş tibialar



**Şekil 3.17:** Asansör sistemi

$$k = \frac{M}{\Theta}$$

**Şekil 3.18:** Burulma sertliği (k) hesaplanması

### 3.7. Histolojik inceleme

Mekanik test sonrası Grup A, Grup B ve Grup C'ye ait tibialardan rastgele 2'şer adet seçilerek kırık iyileşmesi ve kallus histolojik olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla kemikler % 10 luk formaldehit solüsyonunda fikse edilerek % 10 luk nitrik asit/formalin çözeltisi içerisinde 1 gün bekletilip dekalsifiye edilmiştir. Rutin doku takip prosedürü uygulanan ve parafin blokları oluşturulan dokulardan 5 mikronluk seri kesitler şeklinde alınarak Hematoksilen/Eozin (HE) ile boyanan preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. Değerlendirme Huo ve arkadaşlarının tanımladığı skorlama sistemine göre yapılmıştır (Tablo 3.3) [64].

Skor	Histolojik bulgular
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz, az miktarda kıkırdak doku
3	Eşit miktarda fibröz ve kıkırdak doku
4	Kıkırdak doku
5	Ağırlıklı kıkırdak doku, az miktarda immatür (örgülü) kemik
6	Eşit miktarda kıkırdak doku ve immatür kemik
7	Ağırlıklı immatür kemik, az oranda kıkırdak
8	Tamamen immatür kemik dokusu
9	Ağırlıklı immatür, az miktarda matür kemik
10	Matür (lamellar) kemik

**Tablo 3.3:** Huo ve arkadaşlarının histolojik kırık iyileşmesi skorlaması

### **3.8. İstatistiksel Analiz**

Çalışma sonuçları SPSS 17.0 (SPSS Inc, IL, U.S.A.) istatistik yazılımı ile değerlendirilmiştir. İstatistik incelemede kantitatif değerlerin karşılaştırılması için Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi, kalitatif değerlerin karşılaştırılması için ise ki-kare testi kullanılmıştır. p değerinin  $< 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Radyolojik inceleme

Grup A, B ve C ratların sakrifikasyon sonrası çekilen X-Ray grafiplerinin Goldberg sınıflamasına göre skorları ve ortalama değerleri Ek 1’de verilmiştir.

Tüm grupların postoperatif 30. günde çekilen X-Ray grafipleri Goldberg sınıflamasına göre değerlendirilerek elde edilen radyolojik inceleme sonuçları kendi aralarında ikili karşılaştırmalar yapılarak ki-kare testi ile değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda radyolojik iyileşme bakımından PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu (şekil 4.1) ile diğer tüm gruplar arasında radyolojik iyileşme bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur ( $p = 0.001$ ). Kontrol grubu (şekil 4.2) ve büyüme faktörü salınımı yapmayan biyoyıkılabilir implant uygulanmış (şekil 4.3) tedavi grubu arasında ise radyolojik iyileşme bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ( $p = 0.293$ ). (Tablo 4.1 ve şekil 4.4)



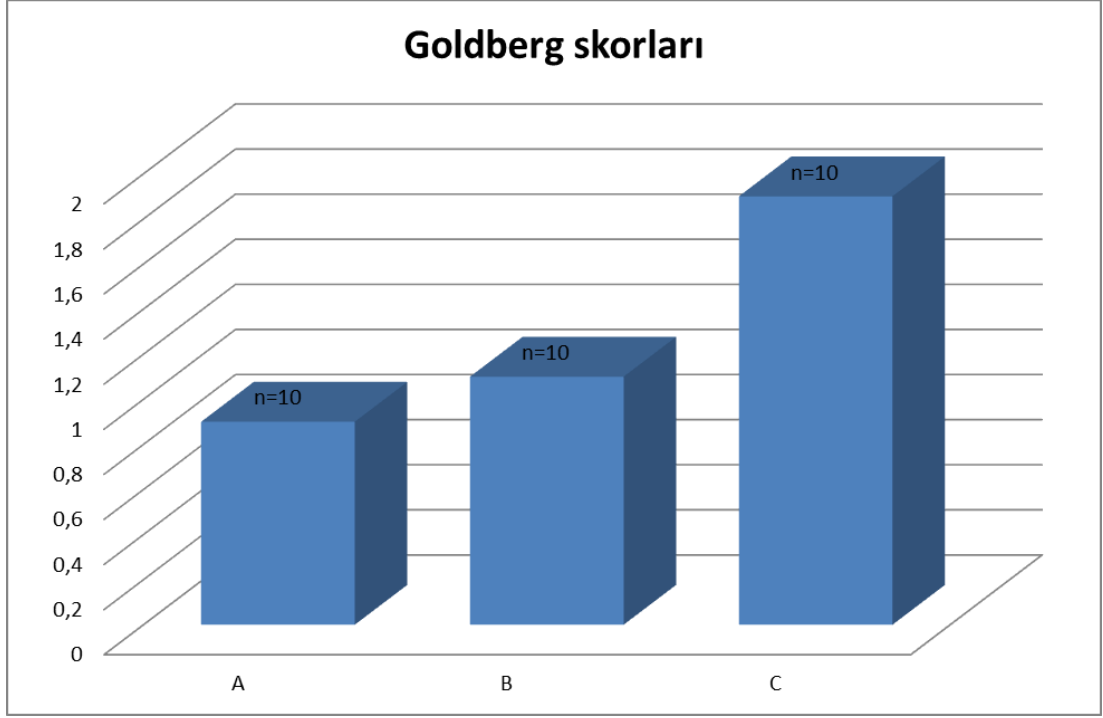
**şekil 4.1:** Kırık modeli oluşturulmuş ve PDGF salınımı yapan implant uygulanmış 5 numaralı rat



**Şekil 4.2:** Kırık modeli oluşturulmuş ve tedavi almamış 3 numaralı rat



**Şekil 4.3:** Kırık modeli oluşturulmuş ve boş implant uygulanmış 6 numaralı rat



**Şekil 4.4:** Grupların ortalama Goldberg radyolojik iyileşme skorları

**Tablo 4.1:** Goldberg sınıflamasına göre postoperatif 30. günde değerlendirme skorları

Goldberg skorları	Ort± SS	Min	Maks
<b>Grup A</b>	0.7±0.31	0	1
<b>Grup B</b>	1.4±0.56	0	2
<b>Grup C</b>	1.8±0.31	1	2
p=0.293*		p=0.001**	

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum

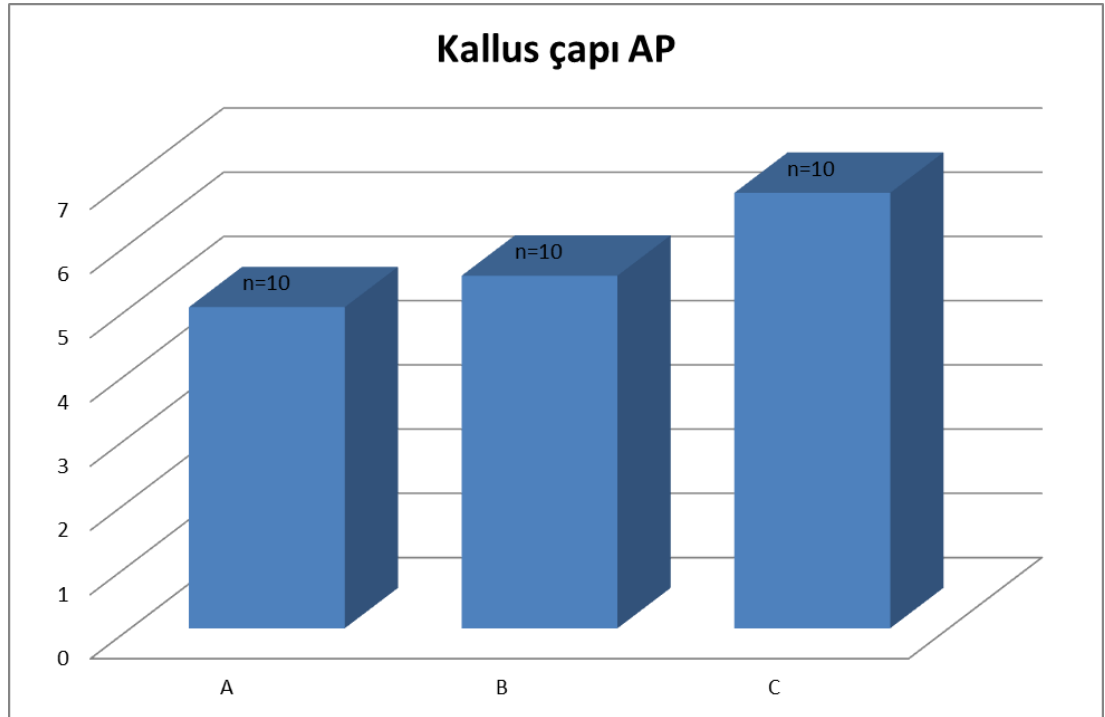
\*: Grup A ve Grup B'nin radyolojik değerlendirme sonucu kaydedilen Goldberg skorlarının ikili karşılaştırılması (ki-kare testi)

\*\* : Grup C ile Grup A ve Grup B'nin radyolojik değerlendirme sonucu kaydedilen Goldberg skorlarının ikili karşılaştırılması (ki-kare testi)

## 4.2 Makroskopik değerlendirme

Grup A, B ve C ratların sakrifikasyon sonrası tibiaların kallusların anteroposterior (AP) ve mediolateral (ML) aplarının ölçüm sonuçları, ortalama±standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Ek 2’de verilmiştir.

Tüm gruplar anterioposterior kallus çapları açısından, kendi aralarında Tukey düzeltmeli tek yönlü ANOVA testi kullanılarak karşılaştırılmış bu karşılaştırma sonucunda makroskopik olarak PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu ile diğer tüm gruplar arasında anteroposterior kallus çapları açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p = 0.02$ ). Kontrol grubu ve büyüme faktörü salınımı yapmayan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu arasında ise anteroposterior kallus çapları bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). (Tablo 4.2 ve şekil 4.5)



şekil 4.5: Grupların ortalama anteroposterior kallus çapları

**Tablo 4.2 :** Anteroposterior çaplara göre çalışmanın 30. günündeki kallus kalınlıkları

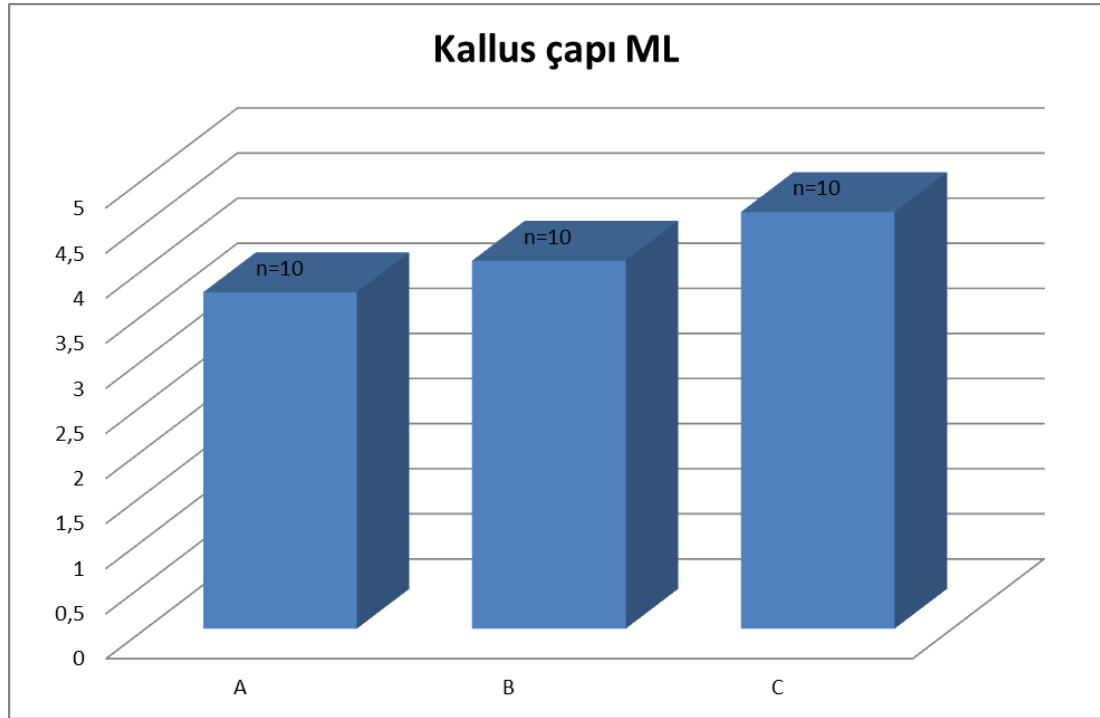
AP Kallus çapları	Ort± SS	Min	Maks
<b>Grup A</b>	5.0±1.13	3.70	6.80
<b>Grup B</b>	5.5±0.85	4.50	7.10
<b>Grup C</b>	6.8±1.09	5.40	8.70
p=0.54*		p=0.02**	

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum

\*: Grup A ve Grup B'nin makroskopik değerlendirmede ölçülen anteroposterior kallus çaplarının ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\* : Grup C ile Grup A ve Grup B'nin makroskopik değerlendirmede ölçülen anteroposterior kallus çaplarının ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi)

Tüm gruplar mediolateral kallus çapları açısından, kendi aralarında Tukey düzeltilmeli tek yönlü ANOVA testi kullanılarak karşılaştırılmış bu karşılaştırma sonucunda makroskopik olarak çalışmanın uygulandığı tüm gruplar arasında mediolateral kallus çapları açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). (Tablo 4.3 ve Şekil 4.6)



**Şekil 4.6:** Grupların ortalama mediolateral kallus çapları

**Tablo 4.3 :** Mediolateral çaplara göre çalışmanın 30. günündeki kallus kalınlıkları

ML Kallus çapları	Ort± SS	Min	Maks
<b>Grup A</b>	3.7±1.48	2.40	6.30
<b>Grup B</b>	4.0±0.75	3.30	6.10
<b>Grup C</b>	4.6±0.91	3.20	5.80
p=0.75*	p=0.52**	p=0.18***	

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum

\*: Grup A ile Grup B'nin makroskopik değerlendirmede ölçülen mediolateral kallus çaplarının ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

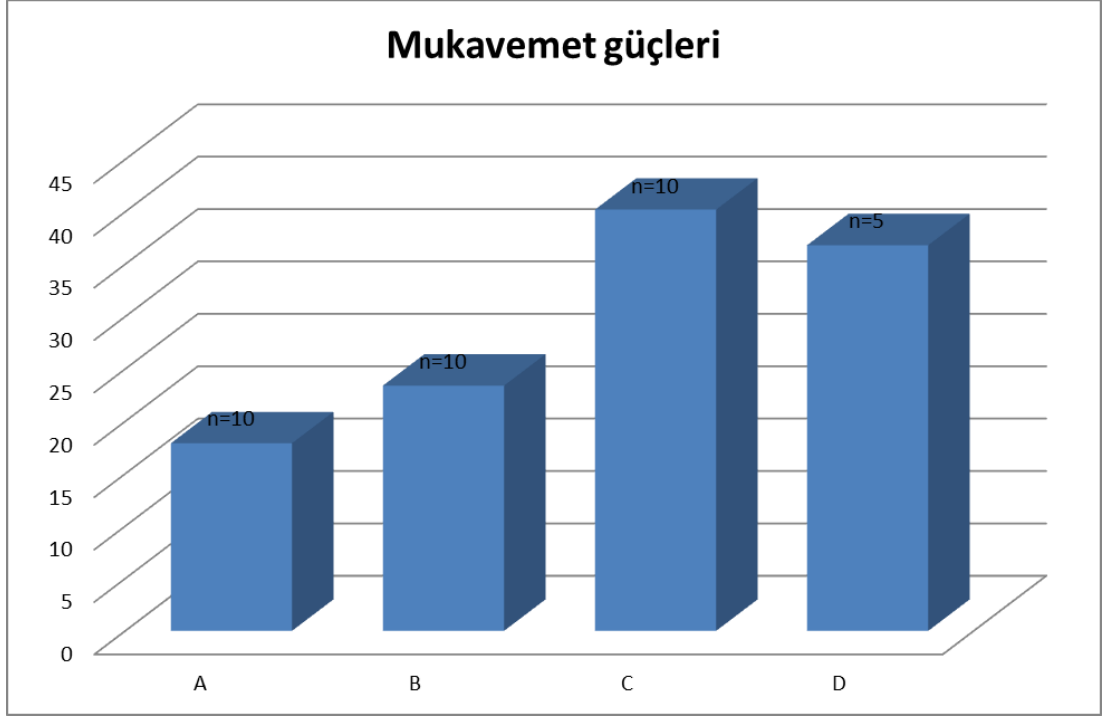
\*\* : Grup B ile Grup C'nin makroskopik değerlendirmede ölçülen mediolateral kallus çaplarının ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*: Grup C ile Grup A'nın makroskopik değerlendirmede ölçülen mediolateral kallus çaplarının ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

### 4.3 Mekanik test

Grup A, B, C ve D ratların sakrifikasyon sonrası mekanik test ile ölçülen maksimum burulma mukavemet güçleri ve maksimum burulma açıları, ortalama, minimum ve maksimum değerleri Ek 3'de verilmiştir.

Tüm gruplar maksimum burulma mukavemet güçleri açısından, kendi aralarında Tukey düzeltmeli tek yönlü ANOVA testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda mekanik olarak PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu ile kontrol grubu ve büyüme faktörü salınımı yapmayan gruplar arasında maksimum burulma mukavemet güçleri açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p = 0.001$ ). Kontrol grubu ve büyüme faktörü salınımı yapmayan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu arasında ise maksimum burulma mukavemet güçleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ( $p = 0.351$ ). PDGF salınımı yapan implant uygulanmış grup kemiklerin ortalama maksimum burulma mukavemet gücü sağlam kemiklerin ortalamasına göre daha yüksek olsa da bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ( $p = 0.831$ ) (Tablo 4.4 ve Şekil 4.7)



**Şekil 4.7:** Grupların ortalama maksimum burulma mukavemet güçleri

**Tablo 4.4:** Tüm grupların çalışmanın 30. gününde ölçülen maksimum burulma mukavemet güçleri

Mukavemet güçleri	Ort± SS	Min	Maks
<b>Grup A</b>	17.9±6.6	10.00	29.00
<b>Grup B</b>	23.4±4.6	17.00	31.00
<b>Grup C</b>	40.2±10.6	25.00	53.00
<b>Grup D</b>	36.8±3.7	31.00	41.00
p=0.351*	p=0.001**	p=0.011***	p=0.831****

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum

\*: Grup A ile Grup B'nin mekanik değerlendirmede ölçülen maksimum rotasyonel mukavemet güçlerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi)

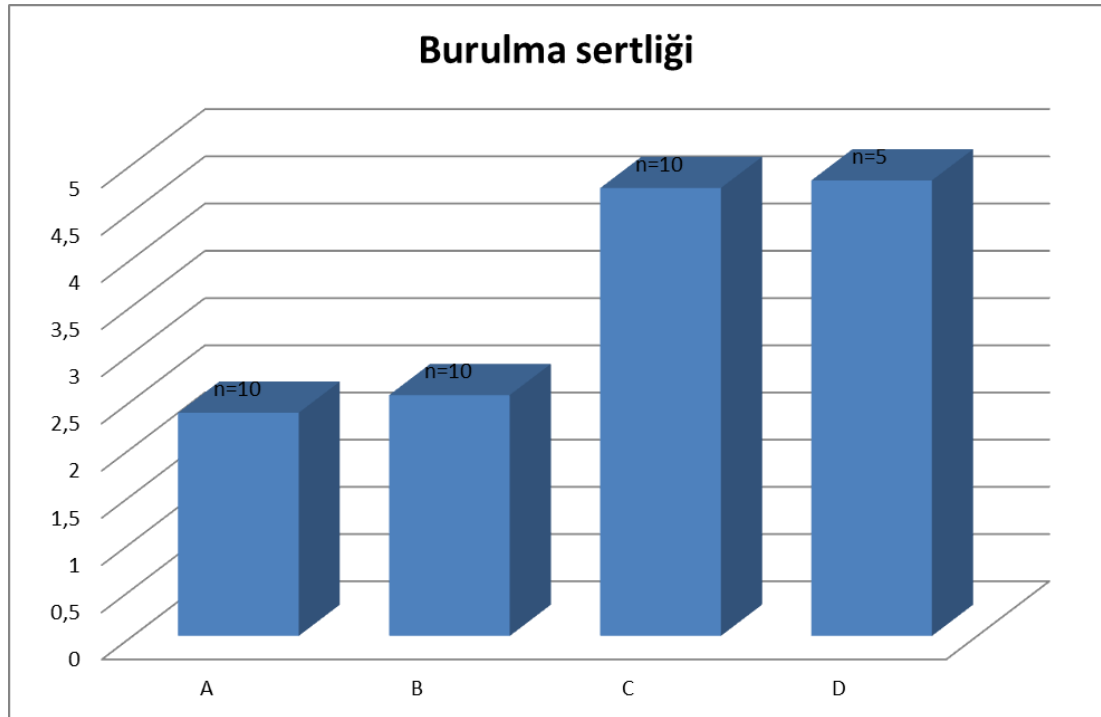
\*\* : Grup A ile Grup D'nin ve Grup C ile Grup A ve GrupB'nin mekanik değerlendirmede ölçülen maksimum rotasyonel mukavemet güçlerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*: Grup B ile Grup D'nin mekanik değerlendirmede ölçülen maksimum rotasyonel mukavemet güçlerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*\*: Grup C ile Grup D'nin mekanik değerlendirmede ölçülen maksimum rotasyonel mukavemet güçlerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltilmeli tek yönlü varyans analizi)

Grup A, B, C ve D ratların sakrifikasyon sonrası mekanik test ile ölçülen maksimum burulma mukavemet güçleri ve burulma açılarından hesaplanan burulma sertlikleri ortalama±standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Ek 4’de verilmiştir.

Tüm gruplar burulma sertlikleri açısından, kendi aralarında Tukey düzeltmeli tek yönlü ANOVA testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda mekanik olarak PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu ile tedavisiz bırakılan ( $p = 0.001$ ) ve salınım yapmayan implant uygulanan grup ( $p = 0.02$ ) arasında burulma sertliği açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmuştur. Sağlam kemik grubu ile tedavisiz bırakılan ( $p = 0.004$ ) ve salınım yapmayan implant uygulanan gruplar ( $p = 0.009$ ) arasında da burulma sertliği açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmakla beraber, PDGF tedavisi alan grup ile sağlam kemik grubu arasında burulma sertliği açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p = 0.999$ ). Kontrol grubu ve büyüme faktörü salınımı yapmayan biyoyıkılabilir implant uygulanmış tedavi grubu arasında ise burulma sertlikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır ( $p = 0.985$ ). (Tablo 4.5 ve Şekil 4.8)



**Şekil 4.8:** Grupların ortalama burulma sertlikleri



**Tablo 4.5:** Tüm grupların ölçülen maksimum burulma mukavemet gücü test sonuçları ve maksimum burulma açısı değerlerinden hesaplanan burulma sertlikleri

Burulma sertlikleri	Ort± SS	Min	Maks		
<b>Grup A</b>	2.36±0.79	1.29	3.84		
<b>Grup B</b>	2.55±1.22	1.26	4.75		
<b>Grup C</b>	4.74±1.42	3.23	7.14		
<b>Grup D</b>	4.82±2.91	2.85	6.57		
p=0.985*	p=0.004**	p=0.001***	p=0.009****	p=0.02*****	p=0.999*****

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: Minimum, Maks: Maksimum

\*: Grup A ile Grup B'nin mekanik değerlendirmede hesaplanan rotasyonel sertlikleri ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\* : Grup A ile Grup D'nin mekanik değerlendirmede hesaplanan rotasyonel sertliklerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*: Grup C ile Grup A'nın mekanik değerlendirmede hesaplanan rotasyonel sertliklerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*\*: GrupB ile Grup D'nin mekanik değerlendirmede hesaplanan rotasyonel sertliklerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*\*\*: Grup B ile Grup C'nin mekanik değerlendirmede hesaplanan rotasyonel sertliklerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

\*\*\*\*\*: Grup C ile Grup D'nin mekanik değerlendirmede hesaplanan rotasyonel sertliklerinin ikili karşılaştırılması (Tukey düzeltmeli tek yönlü varyans analizi)

#### 4.4 Histolojik inceleme

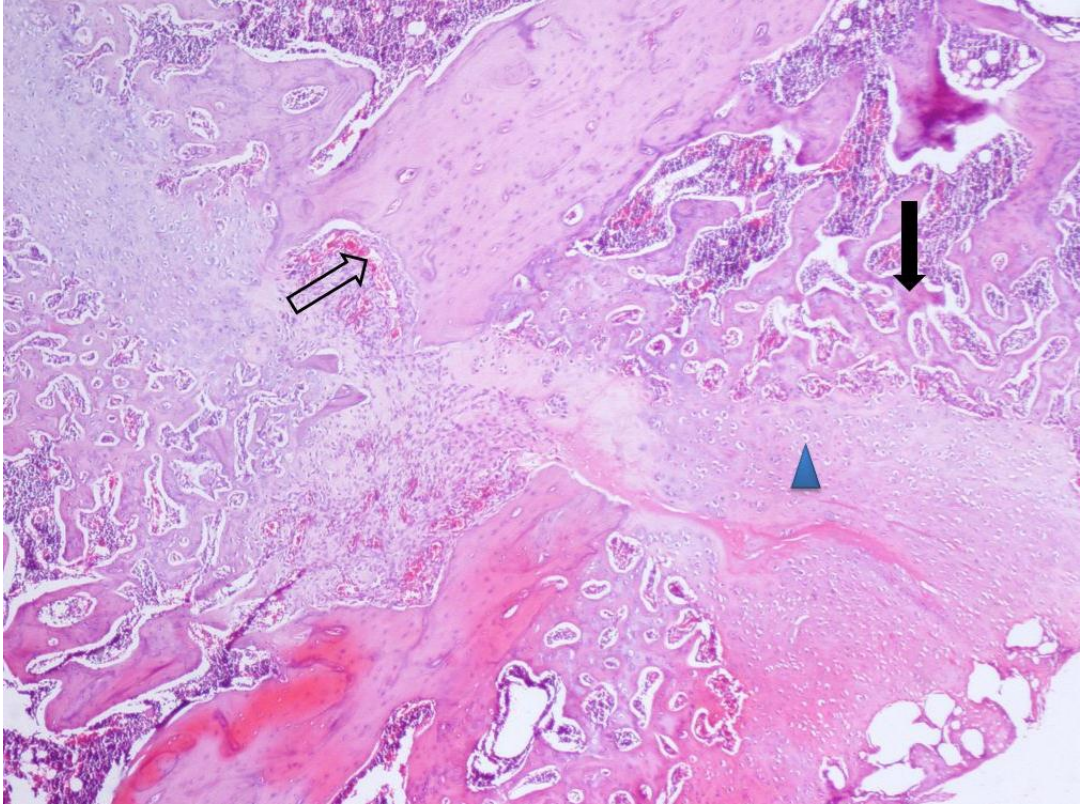
Grup A, B ve C'den rastgele seçilen 2'şer örneğin histolojik inceleme bulguları aşağıda belirtildiği gibidir. Her bir femurdan longitudinal olarak dört adet kesit alınmıştır. Huo ve arkadaşlarının tanımladığı skorlama sistemine göre değerlendirilen spesimenlerin skorları Tablo 4.6'da verilmiştir.

	Örnek 1	Örnek 2
<b>Grup A</b>	5	6
<b>Grup B</b>	7	8
<b>Grup C</b>	10	10

**Tablo 4.6:** Histolojik olarak değerlendirilen örneklerin skorları

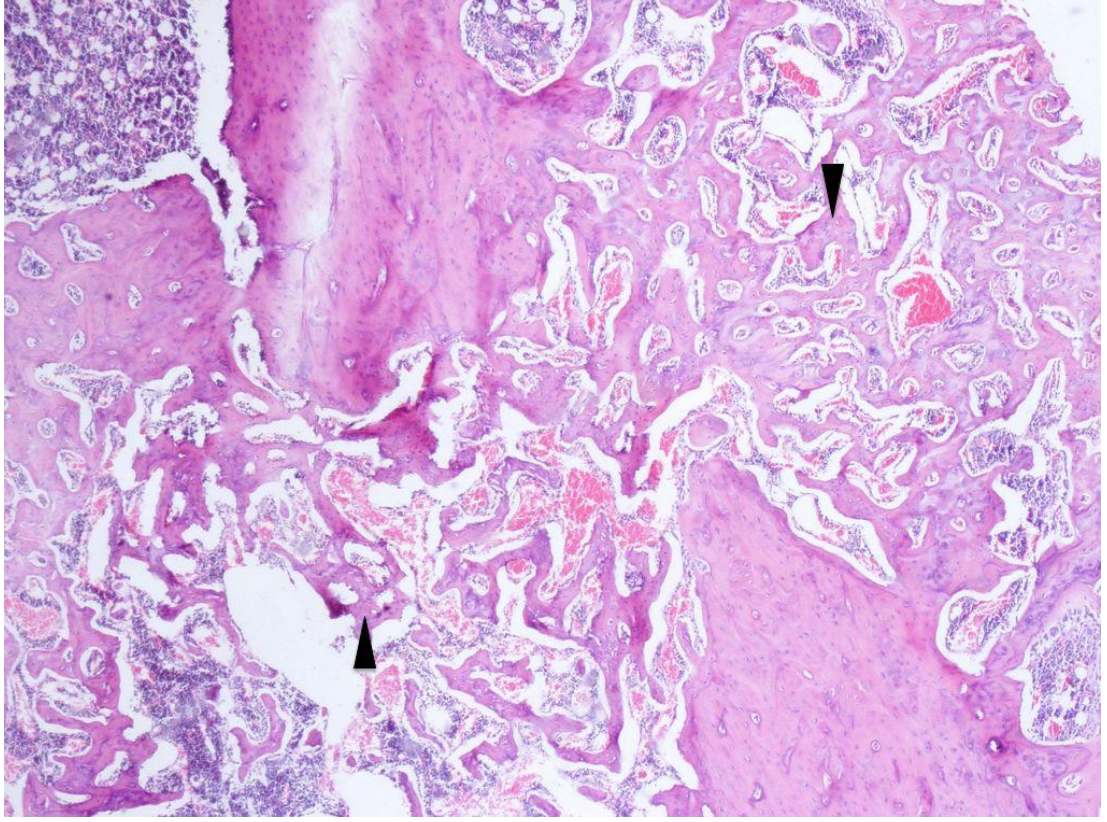
## Grup A:

**Örnek No. 1:** Kırık uçları arasında köprüleşme mevcut olup kırık hattı boyunca kırıkta kallus ile devamlılık gösteren irregüler adalar ve trabeküller halinde immatür “örgülü” kemik oluşumu ve çevresinde osteoblastik hücre proliferasyonu izlenmiş, fokal olarak kemik uçları proksimalinde indifferansiye mezenşimal hücreler ile artmış vaskülarizasyon, fokal hemoraji görülmüştür. (Şekil 4.9)



**Şekil 4.9:** Kırık uçları arasında kollagenöz kallus ile immatür örgülü kemik dokusunun, X40 büyütmede hematoksilin eosin ile boyalı kesiti (**siyah ok:** irregüler adalar ve trabeküller halinde immatür ‘örgülü’ kemik, **ok başı:** osteoblastik hücre proliferasyonu, **şeffaf ok:** artmış vaskülarizasyon)

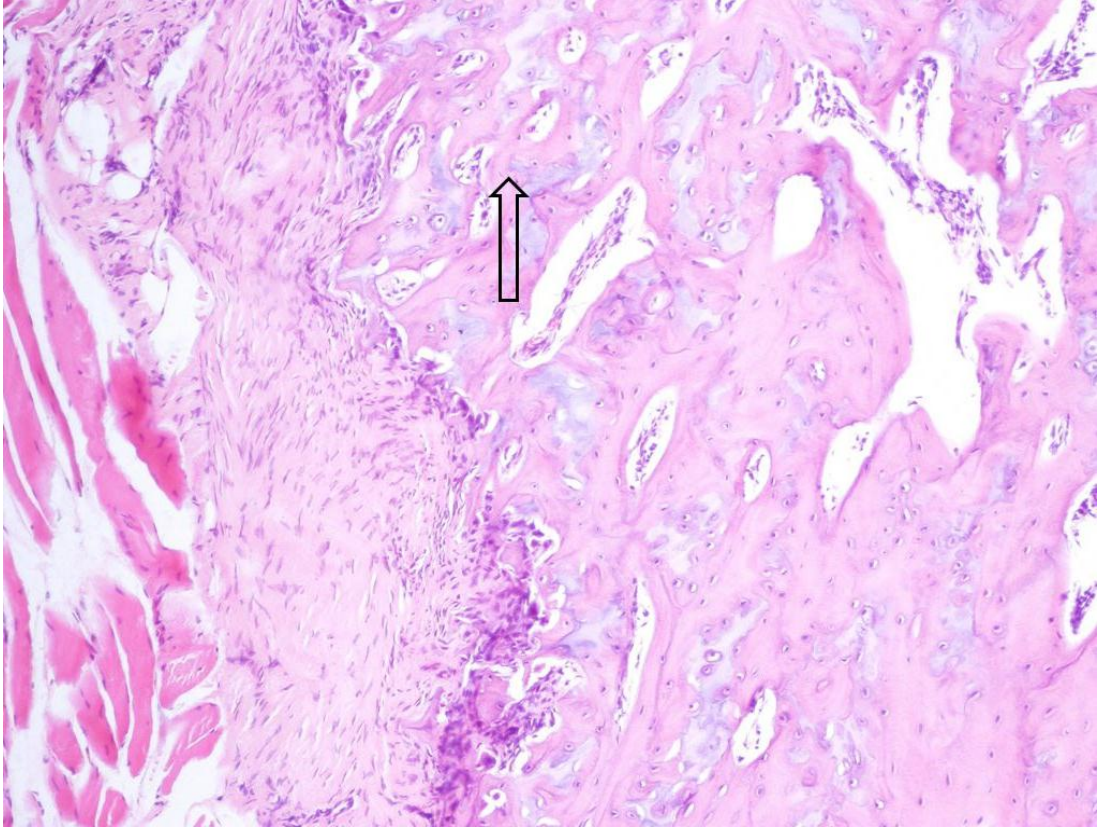
**Örnek No. 2:** Kırık uçları arasında köprüleşen, internal ve eksternal birleşmeyi sağlayan “örgülü” kemik ile arada artifisyel olduğu düşünülen hemoraji görülmüştür. Akut /kronik iltihabi proses, vaskülarizasyon izlenmemiştir. (Şekil 4.10)



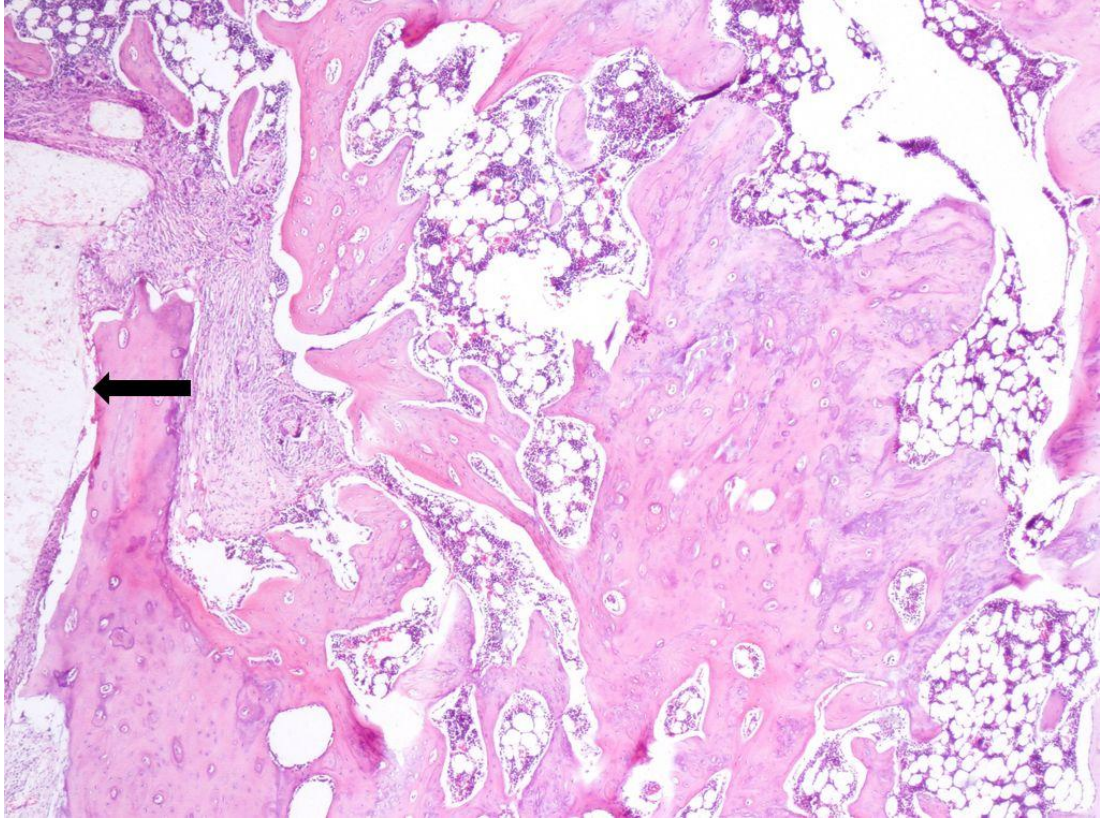
**Şekil 4.10:** Kemik uçları arasında köprüleşen örgülü kemik dokusu trabekülleri, X40 büyütmede hematoksilen eosin ile boyalı kesiti (**ok başı:** örgülü kemik)

**Grup B:**

**Örnek No. 1 ve 2:** Kesitlerde kırık hattında santralde yaklaşık 3 mm çapında, bir alanda rezidü implant olduğunu düşündüren inorganik sarı renkte materyal içeren kistik lakün izlenmiştir. Her iki örnekte kist çevresinde ve periosteal alanda örgülü kemik dokusu izlenmekle beraber, 1 numaralı örneğe ait kesitlerde kırıkta kallusun eşlik ettiği görülmüştür. (Şekil 4.11 ve 4.12)



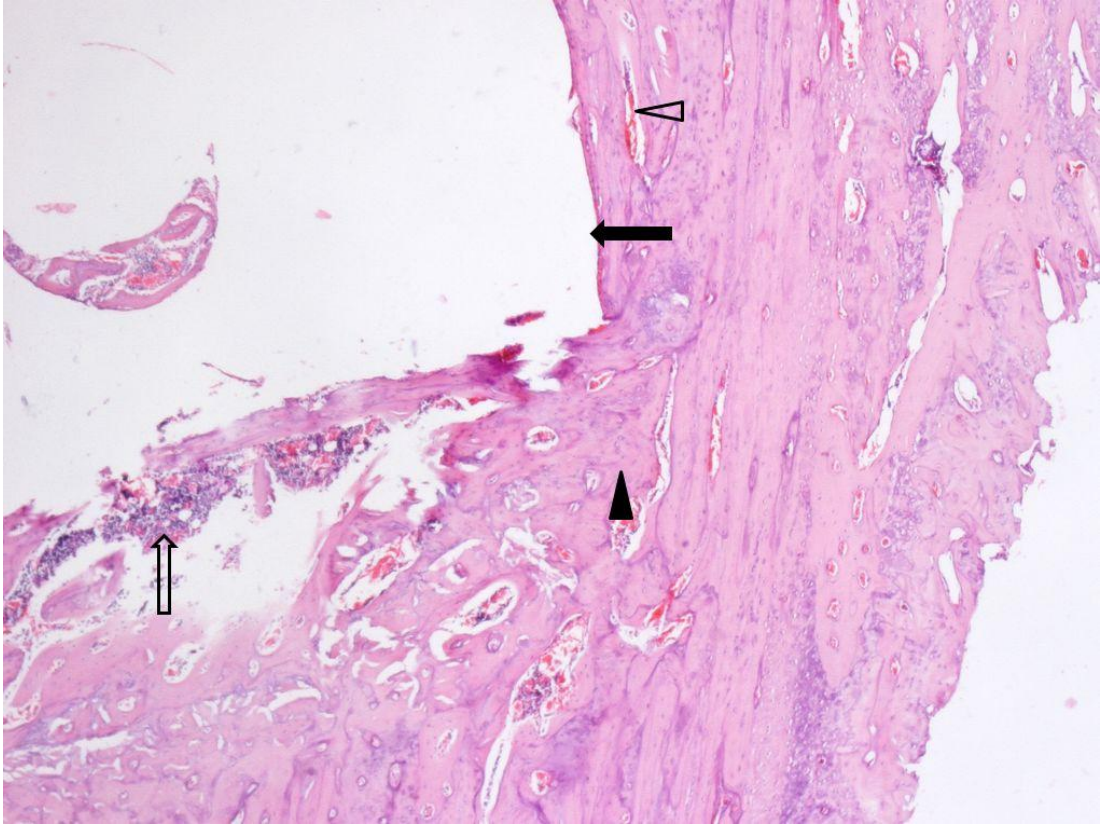
**Şekil 4.11:** Periosteal immatür mezenşimal hücreler ile örgülü kemik gelişimi, X100 büyütmede hematoksilen eosin ile boyalı kesiti (**şeffaf ok:** örgülü kemik)



**Şekil 4.12:** Kist medialinde dizorganize kemik dokusundan oluşan trabeküller ve rezidü implant kalıntısı içeren kistik lakün, X40 büyütmede hematoksilen eosin ile boyalı kesiti ( **siyah ok:** kistik lakün)

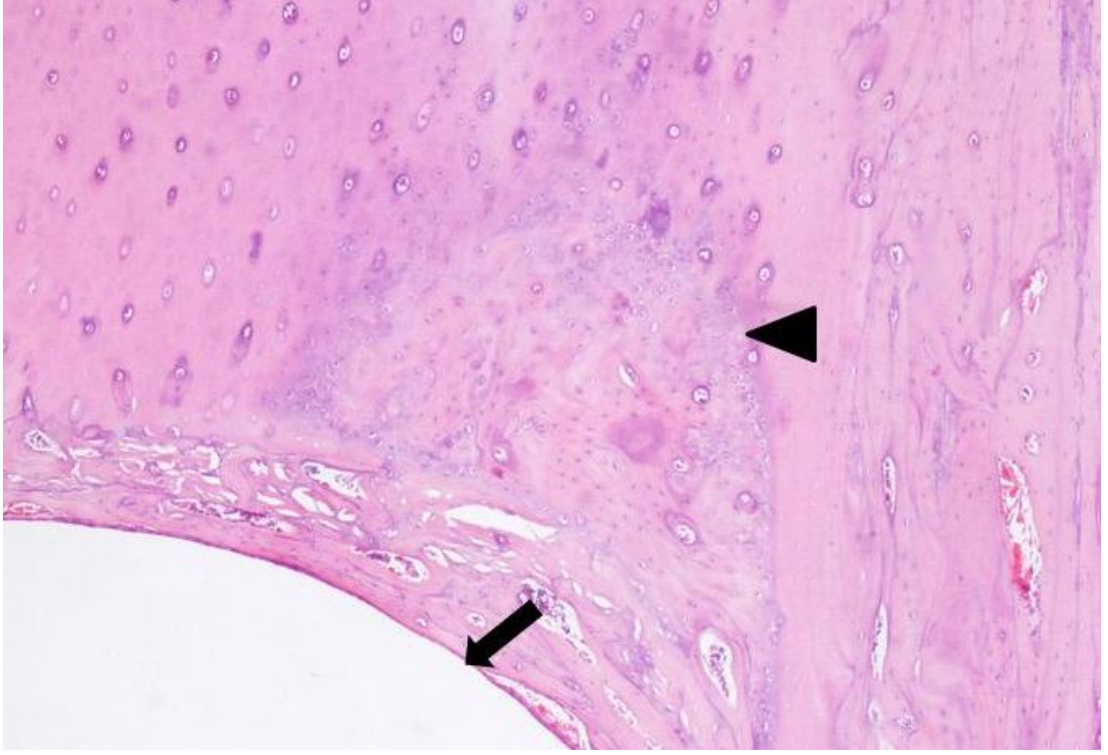
### Grup C:

**Örnek No. 1:** Kesitlerde kırık hattında yaklaşık 2 mm çaplı rezidü implant kalıntıları ile çevresinde fibrokollagenöz bağ doku artışı ve mononükleer hücre infiltrasyonu, minimal hemoraji ve artmış vaskülarizasyon görülmüştür. Belirgin periosteal indiferansiye mezenşimal hücre ve osteoblastik proliferasyon ile devamlılık gösteren lameller kemik yapısında kemik trabekülleri dikkati çekmiştir. Arada konjesyone kan damarları izlenmiştir. (Şekil 4.13)



**Şekil 4.13:** Kist periferinde matür lameller kemik trabekülleri ile arada konjesyone damar yapıları, X40 büyütmede hematoxilen eosin ile boyalı kesiti (**siyah ok:** rezidü implant kalıntısı, **şeffaf ok:** fibrokollagenöz bağ doku ve mononükleer hücre infiltrasyonu, **siyah ok başı:** lameller kemik trabekülleri, **şeffaf ok başı:** konjesyone kan damar yapısı)

**Örnek No. 2:** Kırık hattında yaklaşık 3 mm çaplı rezidü implant kalıntıları içeren kistik kavite çevresinde yoğun fibroblastik aktivite ile mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekmiştir. Arada ekstravaze implant artıkları ve bunların çevresinde hemoraji mevcuttur. (Şekil 4.14)



**Şekil 4.14:** Yoğun matür lameller kemik dokusu ve sağ yanda kortikal kemik, X100 büyütmede hematoksilen eosin ile boyalı kesiti (**siyah ok:** rezidü implant içeren kistik kavite, **siyah ok başı:** lameller kemik trabekülleri)

## 5 TARTIŞMA

Günümüzde hastaların ortopedi ve travmatoloji kırıklarına başvurma nedenlerinin başında kırıklar yer almaktadır[1]. Kırık ve komplikasyonları hasta için hem maddi hem manevi kayıplara neden olmakta, aynı zamanda sosyal güvenlik kurumları ve işverenler için de esas olarak işgücü kaybı olmak üzere tedavi ve bakım masrafları gibi maddi kayıpları da beraberinde getirmektedir. Ülkemizde tıbbi kayıtların yetersizliği nedeniyle uygulanan implant ameliyatları ile ilgili elimizde şimdilik yeterli veri olmamakla beraber, Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 11 milyon, Almanya'da ise yılda 2,5 milyon hastaya en az bir medikal implant uygulandığı bilinmektedir.[3] Genel olarak ortopedistlerin en büyük hayali karşılaştığı tüm kırıkların komplikasyonsuz ve tam olarak kaynamasıdır. Özellikle kırık komplikasyonu olarak sıkça karşılaşılan gecikmiş kaynama veya kaynamama gibi problemlerin tedavisine ortopedistler büyük mesai harcamaktadırlar. Kırık ve komplikasyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan yöntemlerin iyileşmenin hızlandırılması ve tedavinin kolaylaştırılması yönünde geliştirilmesi, hastanın daha erken dönemde ve daha az komplikasyonla kırık öncesi haline en yakın sağlık durumuna kavuşabilmesini sağlayacaktır. Bu nedenle son yıllarda ortopedik cerrahide kullanılan implantların geliştirilmesi için yapılan çalışmalar, biyoyıkılabilir plastiklerden üretilen implantların geliştirilmesini sağlamıştır.[4] Biyoyıkılabilir plastikler, günümüzde ortopedik cerrahide kullanılmakta olan metal implantlara birçok yönden üstünlük sağlamaktadır. Bu malzemenin avantajları arasında biyoyumluluğunun daha yüksek olması, üretim maliyetlerinin daha düşük, tedavi sırasında hastaya uygulanacak cerrahi sayısının daha az olması nedeniyle cerrahi uygulama masraflarının düşük olması ve kontrollü salınım sistemi olarak kullanılabilmesi gelmektedir. Biyoyıkılabilir implantların salınım sistemi olarak kullanımları gelecek vadede bir uygulamadır [5-7].

Yapılan araştırmalarla günümüzde lokal ve sistemik etkileriyle kemik büyümesi ve özellikle kırık iyileşmesinde rol oynayan birçok faktör tanımlanmıştır [17, 19, 20, 24-26]. Bu faktörlerden birisi de trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür (PDGF) [17, 25, 26]. PDGF'nin kemik gelişimi ve kırık iyileşmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. PDGF aynı zamanda osteoprogenitör hücrelerin kırık bölgesine



kemotaksisini uyarıp mitojenik yeteneklerini arttırarak kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır [27].

Şu halde kırığın cerrahi tedavisi sırasında vücuda uygulanıp, biyolojik salınım sistemi olarak kullanılabilir ve görevini tamamladıktan sonra vücutta hiçbir yan etki ve komplikasyon yaratmadan ve cerrahi olarak vücuttan uzaklaştırılması gerekmeden tamamen su ve karbondioksite kadar parçalanıp yok olabilen implantların, kırık iyileşmesini hastanın mümkün olduğunca erken dönemde kırık öncesi fonksiyonel durumuna en yakın hale gelebileceği şekilde hızlandıran PDGF'nin lokal salınımı amacıyla kullanılmaları tedavide büyük fayda sağlayacaktır. Böylece, iyileşen kemiğin erken dönemde sağlam kemikle aynı yük taşıma kapasitesine gelmesi sağlanacak, sonuç olarak tedavi daha kısa sürecektir. Aynı zamanda daha kısa sürede daha yüksek yük taşıyabilen kırık hattı elde edilmesi hastanın erken dönemde güvenli biçimde mobilizasyonuna izin verecektir. Tedavinin sonlandırılmasını takiben kırık kemiğin yük taşıma kapasitesinin eşdeğer sağlam kemikle aynı olması refraktür riskini de azaltacaktır. Hastanın kırık olan kemiğinin kısa sürede sağlam kemikle eşdeğer yük taşıma kapasitesine ulaşması tedavi sonrası rehabilitasyona erken dönemde başlanabilmesini sağlayacaktır. Böylece hastada derin ven trombozu (DVT), eklem kontraktürü ve refleks sempatik distrofi (RSD) gibi kırık tedavisine bağlı gelişen komplikasyonların insidansı azalacaktır. Ortopedik cerrahide bu şekilde salınım sistemlerinin kullanılmasıyla sağlık harcamalarında elde edilecek düşüşle sağlık bütçesinden özellikle koruyucu tıp uygulamalarına daha büyük pay ayrılabilir. Aynı zamanda hastanın fonksiyonlarını erken dönemde kazanması, çocuklar için büyüme, gelişme ve eğitim süreçlerinde oluşabilecek aksamaları engelleyecektir. Erişkin hastaların fonksiyonel kazançları ise hastaların üretime daha erken dönemde katılmasını sağlayıp, iş gücünü arttıracak, böylece finansal kayıpların önüne geçebilecektir.

Kırık bölgesinde lokal PDGF salınımının kırık iyileşmesine faydasını ve cerrahi tedavide uygulanan biyoyıkılabilir polimerden üretilmiş implantların tespiti ek olarak kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla sürekli salınım sistemi olarak kullanılabilirliğini göstermeyi amaçladığımız ve 35 rat üzerinde uyguladığımız çalışmamızda; çalışma gruplarımız 10 adet tedavisiz bırakılmış rat, 10 adet PDGF

içermeyen biyoyıkılabilir implant uygulanmış rat, 10 adet PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış rat ve 5 adet ise kırığı olmayan rat şeklinde belirlenmiştir. Çalışmada gruplar radyolojik, makroskopik ve mekanik olarak değerlendirilerek kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Bu değerlendirmelere ek olarak gruplar histolojik olarak da değerlendirilmiştir.

Makroskopik değerlendirmede gruplar arasında anteroposterior ve mediolateral kallus çapları karşılaştırılmış olup anteroposterior kallus çapları açısından tedavi olarak lokal PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant sistemi uygulanmış grupta tedavisiz bırakılmış ve boş implant uygulanmış gruplara göre anlamlı artış saptanmıştır. Mediolateral kallus çapları açısından bu üç grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. PDGF tedavisi alan grubun ölçümlerinde hem radyolojik iyileşmede, hem de mekanik değerlendirmede saptanan maksimum burulma mukavemet gücünde tedavisiz bırakılmış ve boş implant uygulanmış gruplar göre anlamlı üstünlük saptanmıştır. Burulma sertliği açısından mekanik değerlendirmede ölçülerek karşılaştırılan PDGF tedavisi alan grup ile tedavisiz bırakılmış ve boş implant uygulanmış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış, fakat PDGF tedavisi alan grup ve sağlam tibialar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Histolojik olarak incelenen kemiklerde ise kallus dokusu içeriğinde PDGF tedavisi alan grupta diğer gruplara göre daha fazla lameller kemik oluşumu görülmüştür. Tedavisiz bırakılan ve boş implant uygulanan grup kemiklerdeki kallus dokusunda ise baskın olarak örgülü kemik dokusu olduğu izlenmiştir. PDGF tedavisi alan grubun gerek maksimum burulma gücü ve burulma sertliği açısından, gerek histolojik açıdan PDGF tedavisi almayan gruplara olan üstünlüğü PDGF'nin kırık iyileşmesine olumlu etkisini göstermektedir. Aynı zamanda burulma sertlikleri açısından PDGF tedavisi alan grup tibialarla sağlam tibialar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış olması PDGF tedavisinin erken dönemde kırık modeli oluşturulan kemiklerin yük taşıma kapasitesini sağlam kemik seviyesine getirdiğini göstermektedir. Aynı sürede PDGF salınımı yapmayan implant uygulanmış tibialar histolojik olarak tedavisiz bırakılmış tibialara göre daha fazla örgülü kemik oluşumu göstermektedir. Oluşturulan kemik defekti içerisinde hacim

kaplayarak ve yabancı cisim reaksiyonu yaratarak kırık iyileşmesinde olumsuz etki yaratacağı düşünülen implant çevresinde tedavisiz bırakılan gruba göre daha yüksek oranda örgülü kemik görülmüş olması, bizce PHBV'nin yıkım sürecinde gelişen mononükleer hücre infiltrasyonu ve lokal salınan sitokinlerin osteoblastlara sınırlı etkisiyle örgülü kemik yapımını uyarmasına bağlı olabilir. Bu sonuç klinik olarak kırık tedavisinde PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmasıyla, erken dönemde hem radyolojik, hem mekanik, hem de histolojik olarak tam iyileşme sağlanabileceği, aynı zamanda rehabilitasyona daha erken başlanabileceği anlamına gelmektedir. Dolayısıyla hastanın tedavisi daha erken dönemde sonlandırılabilir ve hasta normal hayatına dönebilecektir.

Sitokinler hücreler düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Bir sitokin farklı hücreler tarafından farklı dokularda salgılanabilir, fakat her zaman aynı hedef hücreler üzerinde aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinlerin etkileri hedef hücrelerine göre üçe ayrılır:

- a) Otokrin: Salgılanan sitokin salgılayan hücre üzerine etkiliyse,
- b) Parakrin: Sitokin salgılandığı hücre yakınındaki hücreler üzerine etkiliyse,
- c) Endokrin: Sistemik dolaşıma katılıp uzak organ ya da doku yanıtı meydana getiriyorsa.

Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez ve immün sistem regülasyonu, yara iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücreler metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır. En önemli etkilerinden biri hücre bölünmesi ve farklılaşması üzerinedir. Bu proteinler doku iyileşmesi, hücreler kemotaksis, proliferasyon, differansiasyon, doku artıklarının uzaklaştırılması, anjiogenez ve ekstrasellüler matriksin gelişmesini içeren doku iyileşme evresini ortaya koyarlar [65].

PDGF bir büyüme faktörü olarak bu sitokinlerin arasında rol almaktadır [66]. Başlıca fonksiyonu bağ doku ve kemik iyileşme hücrelerinin mitogenezini uyarmaktır [67]. Osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasını ve kemik kollajeninin sentezini uyarır. Aynı zamanda osteoklast sayısını artırarak kemik rezorpsiyonunu uyarır ve kemiğin

yeniden şekillenmesini hızlandırır [67, 68]. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezenşimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır [41]. PDGF ayrıca endotelial hücreleri uyararak anjiogenezisi stimüle eder [67]. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır, yani hem parakrin hem endokrin etki göstermektedir.

PDGF'nin etkileri, bu etkilerinin mekanizması ve tedavi amacıyla çeşitli kullanımları araştırılmış ve literatürde tanımlanmıştır.[37, 69] PDGF aktive olduğu zaman hedef hücre zarındaki transmembran protein yapısındaki reseptörüne bağlanarak görevini yerine getirmektedir. Hedef hücreleri başlıca osteoblastlar ve fibroblastlar olmakla beraber hangi doku olursa olsun iyileşmede rol alan tüm hücreler üzerinde değişik etkileri mevcuttur.[70] Neredeyse tüm dokulardaki yaraların iyileşmesinde PDGF ilk olarak aktive olup göreve başlayan faktör olmaktadır.[68] PDGF'nin gerek fibroblastların proliferasyon ve migrasyonunu, gerek kollajen sentezini artırması; gerekse anjiogenezisi sağlaması nedeniyle yara iyileşmesinde kullanımı ayrıntılı olarak araştırılmış ve tanımlanmıştır [67]. Aynı zamanda PDGF epitel ve granülasyon dokusu üretimini arttırmaktadır [31, 67, 71]. PDGF'nin yara iyileşmesi üzerindeki destekleyici etkisi değişik hayvan modellerinde gösterilmiştir. Tavşan kulağı ve vajinal dermal yara modellerinde ekspresyonunun arttığı ve PDGF'nin epitelizasyon hızını arttırdığı saptanmıştır [72]. Farelerde yaratılmış cilt flaplerine subkütan uygulanan PDGF ile tedavinin 7. gününde tedavi grubunda kontrol grubuna göre hücre miktarında ve kollajen içeriğinde anlamlı artma saptanmıştır [73]. Diabetik farelerde eksizyonel yaralar, PDGF'ün topikal uygulanımı ile desteklendiğinde daha hızlı kapanmıştır [74]. PDGF ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) içerisinde kültürü yapılan keratositlerin matriks yapıları incelendiğinde mekanik özelliklerinde iyileşme olduğu gösterilmiştir [75]. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada PDGF'nin vasküler endotel hücrelerinin uyararak subkütan dokuda yer alan 3 boyutlu damar iskeleti içerisine vasküler büyümeyi hızlandırdığı gösterilmiştir [76]. PDGF lokal olarak uygulandığında sıçan osteotomilerindeki kemik iyileşmesini ve tavşan kafatasındaki defektlerin kemikleşmesini uyarabilmektedir [77]. Bu proteinin normal kemik iyileşmesinin değişik evrelerinde birçok hücre tarafından salındığı ortaya konmuştur [78]. Kemik rejenerasyonunun başlangıcı trombositlerden PDGF ve TGF $\beta$  degranülasyonu ile

olmaktadır. PDGF kemik iliği kök hücreleri ve endosteal osteoblastlarda mitogenezi uyarır [79, 80]. Literatürdeki çalışmalarda PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır [41]. Çalışmamızda, PDGF uygulamasıyla anteroposterior kallus çaplarında PDGF uygulanmayan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Histolojik olarak yaptığımız incelemede ise PDGF uygulanan grupta diğer gruplara göre kallusun yoğun olarak lameller kemikten oluştuğu izlenmiştir.

Hokugo ve arkadaşlarının tavşan kafatasında yaptıkları çalışmada kullandıkları in vivo yıkılabilir jelatin hidrojelin PRP içeriğindeki büyüme faktörlerinin salınımı için taşıyıcı olarak kullanımının etkinliğini göstermişlerdir [81]. Buna karşın Aghaloo ve arkadaşları PRP'nin radyografik ve histomorfometrik olarak kemik formasyonunda belirgin bir gelişme sağlamadığını öne sürmüşlerdir [82].

Graham ve arkadaşları MEDLINE/OVID (1950 – 2008 arası) ve EMBASE (1980 – 2008 arası) veri tabanlarında in vitro ve in vivo çalışmaları ele alarak yaptıkları literatür taramasında PDGF'nin osteoblastları hedefleyerek kemik metabolizmasında potansiyel anabolik etkiye sahip olduğunu, bu sayede osteoporoz ve kırık iyileşmesinde tedavi amaçlı kullanımının mümkün olduğunu, fakat PDGF'nin bu etkisine yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir [34].

Bouletreau ve arkadaşları 2002 yılında yayınladıkları çalışmada fare kafatası osteoblast hücre kültüründe rhPDGF-BB ve hipoksinin, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) mRNA ekspresyonunu arttırıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir. In vivo olarak bu mekanizmanın iskelet yaralanmasında neovaskülarizasyonu indükleyerek kırık iyileşmesini destekleyici etkiye sahip olabileceğini belirtmişlerdir [83].

Mitlak ve arkadaşları 1996 yılında yayınladıkları çalışmada osteoporotik sıçan modelinde sistemik PDGF-BB uygulamasının uzun kemikler ve vertebraların biyomekanik dayanıklılığını arttırdığını göstermişler, ve DEXA'da kemik mineral dansitesinde düzelmeye katkıda bulunabileceğini savunmuşlardır [43]. Mitlak ve arkadaşları bu etkiye ulaşmak için sistemik uygulamayı birden fazla tekrar etmişlerdir, buna karşılık Hollinger ve arkadaşları ise lokal olarak tek doz uygulamayla klinik olarak bir avantaj sağladığını belirtmiştir. Bizim çalışmamız sonucunda da tedavinin 4. haftasının sonunda uyguladığımız mekanik testlerde lokal

PDGF-BB uygulanan ratların tibialarında diğer gruplara göre maksimum burulma mukavemet gücünde ve burulma sertliklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptadık. Bulgularımız ışığında, kısa sürede hedeflenen etkinliğin sağlanması için lokal PDGF uygulamasının tekrar gerektirmemesi nedeniyle sistemik uygulamaya üstün olacağını düşünmekteyiz [84]. Kırık tedavisinde kullanılmak için ideal salınım sistemi osteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri içermelidir. Ancak bu şekilde etrafındaki yeni kemik oluşumu için yeterli bir iskelet (osteokondüksiyon) sağlayabilir ve hücresel uyarım sayesinde proliferasyon ve diferansiasyonu stimüle ederek kırık iyileşmesini hızlandırıcı etki gösterebilir. Salınım sistemi bioaktif büyüme faktörünün zaman ve doz kontrollü salınımını sağlamalı, faktörlerin hücresel bağlanmasını desteklemeli, hücre migrasyonu ve anjiogenez için boş alan sağlama görevlerini yerine getirmelidir. Taşıyıcı ortam için ek koşullar yüksek biyouyumluluk, yeterli biyoyıkılabilirlik, mekanik uygunluk, düşük toksisite, işlenebilirlik, kolay üretilebilirlik ve kosteffektif olmasıdır [85]. Salınım sisteminin implantasyonu için; cerrahi müdahalenin uygulanacağı bölgenin anatomik lokalizasyonu, komşu kemiğin ve etraf yumuşak dokunun canlılığı ve çevresel mekanik stres göz önünde bulundurulmalıdır. Optimal salınım sistemini geliştirirken karşımıza çıkabilecek zorluklardan biri, özellikle yük taşıyan kemikler için, hücre büyümesi ve anjiogenezisi için ortam hazırlarken aynı zamanda mekanik implant stabilitesini de sağlayabilmektir. Ek olarak taşıyıcı sistem normal iyileşme sürecine minimal müdahale için birkaç hafta veya ay içinde yıkılabilir olmalı, fakat kırığın yeterli iyileşmesi sağlanana kadar da büyüme faktör salınımını sağlayabilmelidir [84]. Açıkça tüm patolojiler veya büyüme faktörleri için ideal taşıyıcı veya salınım sistemi yoktur.

2007 yılında Hollinger ve arkadaşları değişik dozlarda rhPDGF-BB içeren salınım sistemlerinin geriatrik, osteoporotik ratlarda oluşturulan kırıkların iyileşmesine etkisini değerlendirmeye yönelik yaptıkları çalışmada kırık sonrası 3. haftada tüm tedavi gruplarında kırık oluşturulan tibiaların kontralateral sağlam tibialara göre mekanik olarak daha zayıf olduğunu göstermişlerdir. Çalışma toplam 80 osteoporotik rat üzerinde yapılmış olup 40 rat tedavinin 3. haftasında, diğer 40 rat ise 5. haftasında değerlendirilmiştir. Her iki grup rat tekrar 4 gruba ayrılmış ve birinci grup tedavi verilmemiş kontrol grubu (n=10) olarak belirlenmiştir. İkinci kontrol grubuna PDGF

içermeyen boş salınım sistemi uygulanmış (n=10), diğer iki grup ise sırasıyla düşük doz (n=10) ve yüksek doz (n=10) PDGF içeren salınım sistemlerinin uygulandığı tedavi grupları olarak belirlenmiştir. Tüm gruplardan 2'şer ratın tibialarında mikroBT ve histolojik değerlendirme, 8'er ratın tibialarında ise biomekanik testler uygulanmıştır. 5. haftada tedavi verilmemiş grubun osteotomi uygulanmış tibiaları kontrolateral tibialarına göre zayıf olmakla beraber diğer grupların osteotomize edilen tibiaları ile kontralateral sağlam tibialar arasında mekanik fark olmadığını saptamışlardır. 3. ve 5. haftalarda kontrol gruplarında histolojik olarak kırık çevresinde sınırlı miktarda kallus gelişimi gözlenmiş olmakla beraber, tedavi gruplarında belirgin kallus oluşumu gözlenmiştir [27]. Biz de 4 gruba ayırdığımız 35 rat üzerinde yaptığımız çalışmamızda 4. haftada yapılan ölçümlerde PDGF uygulanan ratların tibialarındaki kallusların anteroposterior çaplarında belirgin artış saptamamıza rağmen, mediolateral çaplarda tüm gruplar arasında anlamlı bir fark saptayamadık. Çalışma gruplarımız Grup A tedavisiz bırakılmış (n=10), Grup B PDGF içermeyen biyoyıkılabilir implant uygulanmış (n=10), Grup C PDGF salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış (n=10) ve Grup D ise kırığı olmayan (n=5) ratlardan oluşturulmuştur. Hollinger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde PDGF tedavisi alan grubun ölçümlerinde mekanik değerlendirmede kontrol grubu ve boş implant uygulanan gruba göre maksimum burulma mukavemet gücünde anlamlı üstünlük saptanmıştır. Aynı zamanda çalışmamızda PDGF tedavisi alan grup ile bu tedaviyi almayan gruplar arasında burulma sertliği açısından anlamlı istatistiksel fark saptadık. PDGF alan grup kemiklerin burulma sertliklerinin diğer tedavi gruplarına göre yüksek olması ve bu değerlerin sağlam kemiklerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması sonucunda anlamlı istatistiksel fark saptanmamış olması PDGF'nin biyoyıkılabilir salınım sisteminden lokal olarak salınımının kırık iyileşmesindeki olumlu etkisini göstermektedir. Hollinger ve arkadaşları çalışmalarında PDGF tedavisi alan grup tibiaları kontralateral sağlam tibialara göre daha zayıf bulmuş olmakla beraber, bu farklılık Mitlak ve arkadaşlarının da belirtmiş olduğu PDGF'nin osteoporozda kemik mineral dansitesini artırıcı sistemik etkisi nedeniyle olabilir [43]. Bizim çalışmamızda PDGF tedavisi alan grup tibiaların sağlam tibialarla karşılaştırılmasında burulma sertliği açısından farklılık saptanmamasının nedeni ise hızlanmış kırık iyileşmesi, kırık hattının etrafındaki

artmış olgun kallus dokusu ve bunlara ek olarak sağlam tibialarda PDGF'nin etki göstereceği osteoporozun mevcut olmaması olabilir.

Al-Zube ve arkadaşları, Hollinger ve arkadaşlarının çalışmasına benzer bir çalışmada değişik dozlarda rhPDGF-BB içeren salınım sistemlerinin diabetik ratlarda oluşturulan kırık iyileşmesine etkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışma toplam 110 rat üzerinde yapılmış olup bunların 26'sında hücre proliferasyonu ölçülmüş, 18'inde histomorfometrik ölçümler, 66'sında ise biomekanik testler yapılmıştır. Çalışmaya alınan ratlar 4 gruba ayrılmış, birinci grup tedavi verilmemiş kontrol grubu olarak belirlenmiştir. İkinci kontrol grubuna PDGF içermeyen boş salınım sistemi uygulanmış, diğer iki grup ise sırasıyla düşük ve yüksek doz PDGF içeren salınım sistemlerinin uygulandığı tedavi grubu olarak belirlenmiştir. Burulma mukavemet değerlendirmesi için gruplar birinci kontrol grubu 8, ikinci kontrol grubu 10, düşük doz ve yüksek doz tedavi alan gruplar ise 7 rattan oluşacak şekilde belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada histomorfometrik değerlendirme amacıyla kontrol grupları 5'er tedavi grupları ise 4'er rat olacak şekilde belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kırık sonrası 4. günde kallus bölgesindeki hücresel proliferasyonun rhPDGF-BB uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Fakat rhPDGF-BB'nin değişik dozlarda uygulanması anlamlı bir fark yaratmamıştır. Kırık sonrası 6. haftada tedavi gruplarında kallusun biyomekanik özelliklerinde fark bulunmamış, fakat 8. haftada düşük doz rhPDGF-BB uygulanan grup ile kontrol grupları arasında biyomekanik değerlendirmede anlamlı fark bulunmuştur .[86]. 12 haftada yapılan histomorfometrik değerlendirmede ise rhPDGF-BB uygulanan gruplarda artmış kemik köprüleşmesi görülmekle beraber kontrol grupları kırık doku devamlılığı ve artmış fibröz doku ile karakterize kaynama gecikmesi göstermişlerdir [86]. Benzer şekilde histolojik incelemelerimizde PDGF tedavisi uyguladığımız grupta kallus içeriğinde daha yoğun lameller kemik oluşumu diğer gruplarda ise kallus içeriğinde yoğun fibrotik doku ile beraber örgülü kemik varlığı izledik.

Nash ve arkadaşları tavşan tibialarında yapılan osteotomi sonrası uygulanan ekzojen PDGF-BB 'nin etkilerine yönelik yaptıkları çalışmada 2. ve 4. haftalarda PDGF verilen tavşanlarda radyolojik olarak kallus yoğunluğu ve hacminde belirgin artış



saptamışlardır. Aynı zamanda PDGF uygulanan tavşanların tibialarının mekanik çalışmada kontralateral sağlam tibialara göre kuvvet farkı bulunmazken, kontrol grubunda osteotomili tibialar kontralateral tibialara göre anlamlı şekilde zayıf bulunmuştur. Çalışma sonucunda ekzojen PDGF-BB uygulanmasının kırık iyileşmesinde radyografik, mekanik ve histopatolojik olarak uyarıcı etkisi olduğunu savunmuşlardır [33]. Biz de çalışmamız sonucunda salınım sistemi olarak kullanılan biyoyıkılabilir implantlardan lokal olarak salınan PDGF'nin kırık iyileşmesinde radyografik, mekanik ve histolojik olarak olumlu etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Terzioğlu ve arkadaşları 35 ratta yaptıkları çalışmada ratları Grup 1 ve 2'de onbeş rat, Grup 3'de (kontrol) beş rat olacak şekilde gruplara ayırmış; ratların her iki tibia ön yüzlerine elektrikli dril kullanarak burr hole açmış, sol tibialara TGFβ-1 içermeyen, sağ tibialara da Grup 1 için 5ng, Grup 2 için 20ng TGFβ-1 içeren implantlar yerleştirmişlerdir. Grup 3 ratların tibialarına sadece delik açılmış, 1 ay sonunda direkt grafi ve histopatolojik inceleme yapılmıştır. Sonuçta Grup 1'deki ratların tibialarında yeni oluşan kemik lamellerinin ve fibrokartilajinöz kallus miktarının, Grup 2'ye göre daha fazla olduğu görülmüştür. Ancak Grup 2 spesimenlerin belirgin derecede daha matür kemik lamelleri içerdiği bulunmuştur. Grup 3'deki defektler en kötü histopatolojik iyileşmeye sahiptir. Radyolojik bulgularda ise en kötü iyileşme kontrol grubunda olmak üzere Grup 2'de, Grup 1'e göre daha hızlı bir iyileşme olduğu görülmüştür [87]. PDGF'nin lokal salınımının kırık iyileşmesine etkisini incelediğimiz çalışmamızda Terzioğlu ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde lokal büyüme faktörü salınımının kırık iyileşmesinde histolojik olarak lameller kemik oluşumunu artırarak olumlu etki gösterdiğini saptadık. Radyolojik iyileşme açısından da lokal PDGF salınımı diğer gruplara göre üstünlük sağlamıştır. Ek olarak yaptığımız mekanik değerlendirmede PDGF tedavisi verilen grupta diğer tedavi gruplarına göre maksimum burulma mukavemet gücü ve burulma sertliği açısından anlamlı üstünlük mevcuttur.

Yaptığımız çalışmada PDGF-BB salınımı yapan biyoyıkılabilir implant uygulanmış ratların tibiaları ile kontrol gruplarının tibiaları 30 günlük tedavi süresinin sonunda mekanik, makroskopik, radyolojik ve histolojik olarak karşılaştırılmıştır. Tanımladığımız tedaviyi alan ratlar ve kontrol grupları arasında radyolojik iyileşme

açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Histolojik olarak da PDGF tedavisi uygulanan grupta matür kemik oluşumu açısından diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı üstünlük mevcuttur. Mekanik olarak gruplar maksimum burulma mukavemet güçleri ve burulma sertlikleri açısından karşılaştırılmıştır. Sonuçların istatistiksel analizi ile lokal PDGF salınım sistemi uygulanan grupta maksimum burulma mukavemet güçleri açısından tedavisiz grup ve boş implant uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı üstünlük mevcuttur. Burulma sertliği açısından ise PDGF uygulanan grup ile sağlam grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken, diğer tedavi grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı üstünlük bulunmuştur. Makroskopik olarak karşılaştırıldıkları anteroposterior kallus çapları açısından tanımladığımız tedaviyi alan grup ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmakla beraber mediolateral çaplar açısından tüm gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Biz yaptığımız çalışma bulgularına dayanarak lokal PDGF uygulamasının hem kallus miktarında, hem radyolojik iyileşmede artış sağladığını düşünmekteyiz. Lokal PDGF salınımı kırık hattında matür kemik oluşumunu hızlandırmakla beraber kemiğin maruz kaldığı burucu kuvvetlere karşı koyabilirliğini de arttırmıştır. Böylece kırık ve komplikasyonlarının tedavisine eklenecek lokal PDGF uygulaması kemiğin iyileşme hızını arttıracaktır. Dolayısıyla tedavi süresi hastanın daha erken dönemde kırık öncesi fonksiyonlarına yaklaşmasını sağlayacak, hastanın rehabilitasyonu daha erken başlanabilecek ve tedavi daha erken dönemde sonlandırılabilir. Günümüzde kırık tedavisinin başarıya ulaşması için bilinen bir gerçek kırık hattına mümkün olan en erken dönemde yük verilmesinin kaynama hızı ve oranını arttırdığıdır. Bu nedenle erken dönemde rehabilitasyona başlanabilmesi, kırık iyileşmesini olumlu yönde etkileyeceği gibi immobilizasyon süresinin kısalması da DVT, eklem kontraktürü ve RSD gibi komplikasyonların önüne geçilmesini de sağlayacaktır. Kabul edilmesi gereken bir gerçektir ki; kırık ve komplikasyonlarının tedavisinde başarıyı değerlendirmek için en önemli faktörlerden biri olan tedavi sonrası hasta memnuniyeti, büyük oranda tedavi sırasında ek cerrahi girişim gereksinimi ve tedavinin nihai süresine bağlıdır. Tedavi sırasında bir veya daha fazla cerrahi girişim gerekmesi hastada cerrahiye bağlı komplikasyon risklerinin artması gibi biyolojik problemlere yol açacağı gibi, tedavi süresinin uzaması beraberinde psikolojik yükleri

de getirecektir. Ayrıca hem ilk, hem beraberinde getireceği ek cerrahilerin maliyeti, hem de hastanın tedavi süresinin uzunluğu nedeniyle iş gücü kaybının uzun süreli olması tedavi maliyetlerini arttıracaktır.

Bulgularımız ışığında tedavi sırasında implant nedeniyle ek cerrahi girişim gerektirmeyecek biyoyıkılabilir implantların, lokal PDGF-BB salınım sistemi olarak kullanılmasının kırık iyileşmesinde hem kalitatif, hem kantitatif yönden olumlu etkiye sahip olduğunu savunmaktayız. Gelecekte ortopedik travma cerrahisinde tespit amaçlı kullanılan implantların, PDGF gibi kırık iyileşmesini hızlandırıcı etkiye sahip büyüme faktörü salınımı yapan biyoyıkılabilir polimer bazlı üretimi ve bunların gündelik kullanımda yaygınlaşmasıyla beraber kırık iyileşme oranları artacak, kaynamada gecikme ve kaynama yokluğu gibi kırığa bağlı, DVT, eklem kontraktürü ve RSD gibi tedaviye bağlı komplikasyon oranları belirgin şekilde azalacaktır. Bu etkenlere bağlı olarak nihai tedavi süresi ve tedavi maliyetleri azalacaktır. Tedavi süresinin kısılması hasta memnuniyetini birçok yönden arttıracaktır. Aynı zamanda hem ek tedavi masraflarının azalması, hem tedavi amacıyla kullanılan implantların maliyetinin hali hazırda kullanılan metal implantlara göre düşük olması gibi sebeplerle sağlık harcamalarında düşüş sağlayacak; hem de hastanın kırık öncesi fonksiyonlarına en yakın duruma daha erken dönmesi ve erişkin hastalar için işgücü kaybının azaltılması, çocuk hastalar için ise eğitim sürecinde aksamaların en kısa süreye indirilmesi gibi faydaları olacaktır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. PHBV polimerinin yüksek biyouyumluluğu, tamamen biyoyıkılabilir olması, üretim ve uygulama maliyetlerinin düşüklüğü ve işleme kolaylığı nedeniyle ortopedik cerrahide implant olarak kullanım için iyi bir materyal olduğu kanaatine varılmıştır.
2. Kırık hattında lokal PDGF uygulanmasının kırık tedavisinde kallus oluşumu ve matürasyonunu arttırarak mekanik, radyolojik ve histolojik iyileşmeyi olumlu yönde etkilediği ve tedavi sırasında kırık iyileşmesini hızlandırarak erken dönemde sağlam kemiklerle eşdeğer yük taşıma kapasitesine ulaşılmasını sağladığı gözlenmiştir.
3. PHBV polimerinden üretilen ve üretim sürecinde kırık iyileşmesini hızlandırmak amacıyla büyüme faktörlerinin eklendiği biyoyıkılabilir implantların, salınım sistemi olarak tedavide kullanılmaya uygun bir seçenek olduğu saptanmıştır.
4. Kırık tedavisinde kullanılan biyoyıkılabilir implantların lokal PDGF salınım sistemi olarak kullanılması iyileşmeyi destekleyerek kaynama yokluğu veya gecikmiş kaynama gibi kırık komplikasyonları ile karşılaşılma riskini azaltacaktır. Bu sayede tedavinin kısa sürede sonlandırılarak ekstremitenin immobilizasyon süresi azalacak ve rehabilitasyona erken dönemde başlanabilecektir. Bu durumun kırık tedavisine bağlı DVT, eklem kontraktürü ve RSD gibi komplikasyonların insidansını düşüreceği göz önünde bulundurulmalıdır.
5. Kırık tedavisinde tanımladığımız lokal PDGF salınım sistemi olarak kullanılan biyoyıkılabilir implantların uygulanmasının tedavi süresini kısaltacağı ve tedavi sonucunda oluşan maliyetleri düşüreceği fikri edinilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Apley, A.G. and L. Solomon, *Concise system of orthopaedics and fractures*. 2nd ed1994, Oxford ; Boston: Butterworth-Heinemann. xi, 352 p.
2. Moore, E.E., D.V. Feliciano, and K.L. Mattox, *Trauma*. 5th ed2004, New York: McGraw-Hill, Medical Pub. Division. xxix, 1469 p.
3. Ceyhan, T. and N. Köse, *Ortopedide biyomalzeme kullanımı: Genel bilgiler ve tanımlar*. Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Dergisi, 2011. **10**(2): p. 4.
4. Claes, L. and A. Ignatius, *[Development of new, biodegradable implants]*. Chirurg, 2002. **73**(10): p. 990-6.
5. Korkusuz, F., et al., *In vivo response to biodegradable controlled antibiotic release systems*. J Biomed Mater Res, 2001. **55**(2): p. 217-28.
6. Patterson, T.E., et al., *Cellular strategies for enhancement of fracture repair*. J Bone Joint Surg Am, 2008. **90 Suppl 1**: p. 111-9.
7. Dimitriou, R., et al., *Bone regeneration: current concepts and future directions*. BMC Med, 2011. **9**: p. 66.
8. Göğüş, A., et al., *Kemik Defektlerinin İyileştirilmesinde Kalsiyum Sülfat ve Kalsiyum Hidroksiapatitin Karşılaştırılması*. Hacettepe Ortopedi Dergisi, 2001. **11**(2): p. 6.
9. Liang, J., H.B. Cao, and J.Y. Xin, *[Therapeutic efficacies of bone grafting for calcaneal intra-calcaneal fractures]*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2012. **92**(3): p. 197-9.
10. Preininger, B., et al., *An experimental setup to evaluate innovative therapy options for the enhancement of bone healing using BMP as a benchmark - a pilot study*. Eur Cell Mater, 2012. **23**: p. 262-72.
11. Yin, X., et al., *Clinical assessment of calcium phosphate cement to treat tibial plateau fractures*. J Biomater Appl, 2012.
12. Myeroff, C. and M. Archdeacon, *Autogenous bone graft: donor sites and techniques*. J Bone Joint Surg Am, 2011. **93**(23): p. 2227-36.
13. Calori, G.M., et al., *Polytherapy in bone regeneration: clinical applications and preliminary considerations*. Int J Immunopathol Pharmacol, 2011. **24**(1 Suppl 2): p. 85-90.
14. Fayaz, H.C., et al., *The role of stem cells in fracture healing and nonunion*. Int Orthop, 2011. **35**(11): p. 1587-97.
15. Jones, E. and X. Yang, *Mesenchymal stem cells and bone regeneration: current status*. Injury, 2011. **42**(6): p. 562-8.
16. Meikle, M.C., *On the transplantation, regeneration and induction of bone: the path to bone morphogenetic proteins and other skeletal growth factors*. Surgeon, 2007. **5**(4): p. 232-43.
17. Lane, J.M., E. Tomin, and M.P. Bostrom, *Biosynthetic bone grafting*. Clin Orthop Relat Res, 1999(367 Suppl): p. S107-17.
18. Şimşek, A., G. Çakmak, and E. Cila, *Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler*. Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Dergisi, 2004. **3**(3-4): p. 14.
19. Calori, G.M., et al., *The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs?* Injury, 2011. **42 Suppl 2**: p. S56-63.
20. Janicki, P. and G. Schmidmaier, *What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells*. Injury, 2011. **42 Suppl 2**: p. S77-81.

21. Plachokova, A.S., et al., *Early effect of platelet-rich plasma on bone healing in combination with an osteoconductive material in rat cranial defects*. Clin Oral Implants Res, 2007. **18**(2): p. 244-51.
22. Cunin, G., et al., *Experimental vertebroplasty using osteoconductive granular material*. Spine (Phila Pa 1976), 2000. **25**(9): p. 1070-6.
23. Calori, G.M., et al., *Treatment of long bone non-unions with polytherapy: indications and clinical results*. Injury, 2011. **42**(6): p. 587-90.
24. Nauth, A., et al., *Growth factors and bone regeneration: how much bone can we expect?* Injury, 2011. **42**(6): p. 574-9.
25. Pacifici, L., F. Casella, and M. Ripari, *[The principles of tissue engineering: role of growth factors in the bone regeneration]*. Minerva Stomatol, 2002. **51**(9): p. 351-9.
26. Reddi, A.H., *Symbiosis of biotechnology and biomaterials: applications in tissue engineering of bone and cartilage*. J Cell Biochem, 1994. **56**(2): p. 192-5.
27. Hollinger, J.O., et al., *Accelerated fracture healing in the geriatric, osteoporotic rat with recombinant human platelet-derived growth factor-BB and an injectable beta-tricalcium phosphate/collagen matrix*. J Orthop Res, 2008. **26**(1): p. 83-90.
28. Miller, M.D., *Review of Orthopaedics*. 4th ed. Vol. 1. 2004, USA: Saunders.
29. *AAOS Comprehensive Orthopaedic Review 2009*, USA.
30. Buckwalter, J.A., et al., *Orthopaedic basic science : foundations of clinical practice*. 3rd ed 2007, Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons. xiv, 465 p.
31. Hollinger, J.O., et al., *Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications*. J Bone Joint Surg Am, 2008. **90 Suppl 1**: p. 48-54.
32. McCarthy, H.S., et al., *Platelet-derived growth factor stimulates osteoprotegerin production in osteoblastic cells*. J Cell Physiol, 2009. **218**(2): p. 350-4.
33. Nash, T.J., et al., *Effect of platelet-derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits*. Bone, 1994. **15**(2): p. 203-8.
34. Graham, S., et al., *Investigating the role of PDGF as a potential drug therapy in bone formation and fracture healing*. Expert Opin Investig Drugs, 2009. **18**(11): p. 1633-54.
35. K, H.W. and R. Galus, *Histological aspects of bone fracture healing*. Ortop Traumatol Rehabil, 2005. **7**(4): p. 351-60.
36. Heino, T.J. and T.A. Hentunen, *Differentiation of osteoblasts and osteocytes from mesenchymal stem cells*. Curr Stem Cell Res Ther, 2008. **3**(2): p. 131-45.
37. Nisbet, H.Ö., *Yara Sağaltımında Trombositten Zengin Plazma ve Trombositten Fakir Plazma Kullanımı*. 2007.
38. Wrotniak, M., T. Bielecki, and T.S. Gazdzik, *Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery*. Ortop Traumatol Rehabil, 2007. **9**(3): p. 227-38.
39. Collin-Osdoby, P., *Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin*. Circ Res, 2004. **95**(11): p. 1046-57.
40. Çiğer, S., *Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri; Tüm yönleriyle yara iyileşmesi*. Türk Dermatoloji Derneği, 1996: p. 8.
41. S.S., K., *Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2002. **55**(2): p. 8.
42. H, G., *Sitokinlerin Hücre Döngüsü Üzerinde Etkileri*. Tr J of Biology, 1999(23): p. 8.
43. Mitlak, B.H., et al., *The effect of systemically administered PDGF-BB on the rodent skeleton*. J Bone Miner Res, 1996. **11**(2): p. 238-47.
44. Nevins, M., et al., *Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial*. J Periodontol, 2005. **76**(12): p. 2205-15.

45. Virtanen, S., et al., *Special modes of corrosion under physiological and simulated physiological conditions*. Acta Biomater, 2008. **4**(3): p. 468-76.
46. Yılmaz, M. and Y. Beyatlı, *Biyoplastik: Poli-β-Hidroksibütirat (PHB)*. OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2003. **1**(9): p. 33.
47. Hofmann, G.O., *Biodegradable implants in orthopaedic surgery--a review on the state-of-the-art*. Clin Mater, 1992. **10**(1-2): p. 75-80.
48. Braunegg, G., G. Lefebvre, and K.F. Genser, *Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiological and engineering aspects*. J Biotechnol, 1998. **65**(2-3): p. 127-61.
49. Steinbüchel, A. and M. Hofrichter, *Biopolymers2001*, Weinheim ; Chichester: Wiley-VCH.
50. Madison, L.L. and G.W. Huisman, *Metabolic engineering of poly(3-hydroxyalkanoates): from DNA to plastic*. Microbiol Mol Biol Rev, 1999. **63**(1): p. 21-53.
51. Anderson, A.J. and E.A. Dawes, *Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates*. Microbiol Rev, 1990. **54**(4): p. 450-72.
52. Holmes, P.A., *Applications of PHB - a microbially produced biodegradable thermoplastic*. Physics in Technology, 1985. **16**: p. 5.
53. An, Y.H., S.K. Woolf, and R.J. Friedman, *Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices*. Biomaterials, 2000. **21**(24): p. 2635-52.
54. Prokop, A., et al., *[New biodegradable polylactide implants (Polypin-C) in therapy for radial head fractures]*. Chirurg, 2002. **73**(10): p. 997-1004.
55. Weiler, A., et al., *Biodegradierbare Interferenzschrauben in der Kreuzbandchirurgie*. OP Journal, 1998. **14**(3): p. 7.
56. Claes, L., S. Wolf, and A. Ignatius, *Mechanische Eigenschaften von Biodegradablen Polymeren und Keramiken*. OP Journal, 1998. **14**: p. 4.
57. Ignatius, A.A., et al., *A composite polymer/tricalcium phosphate membrane for guided bone regeneration in maxillofacial surgery*. J Biomed Mater Res, 2001. **58**(5): p. 564-9.
58. Rehm, K.E., H.J. Helling, and L.E. Claes, *Biologisch abbaubare Osteosynthesematerialien*. Jahrbuch der Chirurgie, 1998: p. 10.
59. Tağit, O., *Development and Analysis of Controlled Release Polymeric Rods Containing Vancomycin*, in *Biotechnology2005*, Middle East Technical University: Ankara. p. 95.
60. An, Y.H. and R.J. Friedman, *Animal models in orthopaedic research1999*, Boca Raton: CRC Press. 604 p.
61. Goldberg, V.M., et al., *Bone grafting: role of histocompatibility in transplantation*. J Orthop Res, 1985. **3**(4): p. 389-404.
62. Histing, T., et al., *Sildenafil accelerates fracture healing in mice*. J Orthop Res, 2011. **29**(6): p. 867-73.
63. Bonnarens, F. and T.A. Einhorn, *Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone*. J Orthop Res, 1984. **2**(1): p. 97-101.
64. Huo, M.H., et al., *The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats*. J Orthop Res, 1991. **9**(3): p. 383-90.
65. Anitua, E., et al., *Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration*. Thromb Haemost, 2004. **91**(1): p. 4-15.
66. Kindt, T.J., et al., *Kuby immunology*. 6th ed2007, New York: W.H. Freeman. xxii, 574, A-31, G-12, AN-27, I-27 p.

67. Sanchez, A.R., P.J. Sheridan, and L.I. Kupp, *Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review.* Int J Oral Maxillofac Implants, 2003. **18**(1): p. 93-103.
68. Grageda, E., *Platelet-rich plasma and bone graft materials: a review and a standardized research protocol.* Implant Dent, 2004. **13**(4): p. 301-9.
69. Rozman, P. and Z. Bolta, *Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries.* Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat, 2007. **16**(4): p. 156-65.
70. Heldin, C.H. and B. Westermark, *PDGF-like growth factors in autocrine stimulation of growth.* J Cell Physiol Suppl, 1987. **Suppl 5**: p. 31-4.
71. Schmitz, J.P. and J.O. Hollinger, *The biology of platelet-rich plasma.* J Oral Maxillofac Surg, 2001. **59**(9): p. 1119-21.
72. Abramov, Y., et al., *Expression of platelet-derived growth factor-B mRNA during vaginal vs. dermal incisional wound healing in the rabbit.* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012.
73. Li, W., et al., *Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates.* Plast Reconstr Surg, 2012. **129**(4): p. 858-66.
74. Li, H., et al., *Research of PDGF-BB gel on the wound healing of diabetic rats and its pharmacodynamics.* J Surg Res, 2008. **145**(1): p. 41-8.
75. Lakshman, N. and W.M. Petroll, *Growth factor regulation of corneal keratocyte mechanical phenotypes in 3-D collagen matrices.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012. **53**(3): p. 1077-86.
76. Davies, N.H., et al., *Sustaining neovascularization of a scaffold through staged release of vascular endothelial growth factor-A and platelet-derived growth factor-BB.* Tissue Eng Part A, 2012. **18**(1-2): p. 26-34.
77. Thoma, D.S., et al., *Impact of recombinant platelet-derived growth factor BB on bone regeneration: a study in rabbits.* Int J Periodontics Restorative Dent, 2012. **32**(2): p. 195-202.
78. Andrew, J.G., et al., *Platelet-derived growth factor expression in normally healing human fractures.* Bone, 1995. **16**(4): p. 455-60.
79. Marx, R.E., et al., *Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1998. **85**(6): p. 638-46.
80. Marx, R.E., *Platelet-rich plasma: evidence to support its use.* J Oral Maxillofac Surg, 2004. **62**(4): p. 489-96.
81. Hokugo, A., et al., *Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007. **104**(1): p. 44-8.
82. Aghaloo, T.L., P.K. Moy, and E.G. Freymiller, *Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study.* J Oral Maxillofac Surg, 2002. **60**(10): p. 1176-81.
83. Bouletreau, P.J., et al., *Factors in the fracture microenvironment induce primary osteoblast angiogenic cytokine production.* Plast Reconstr Surg, 2002. **110**(1): p. 139-48.
84. Luginbuehl, V., et al., *Localized delivery of growth factors for bone repair.* Eur J Pharm Biopharm, 2004. **58**(2): p. 197-208.
85. Li, R.H. and J.M. Wozney, *Delivering on the promise of bone morphogenetic proteins.* Trends Biotechnol, 2001. **19**(7): p. 255-65.
86. Al-Zube, L., et al., *Recombinant human platelet-derived growth factor BB (rhPDGF-BB) and beta-tricalcium phosphate/collagen matrix enhance fracture healing in a diabetic rat model.* J Orthop Res, 2009. **27**(8): p. 1074-81.



87. Terzioğlu, A., et al., *Transforming Growth Factor  $\beta$ -1 Incorporating Biodegradable Polyhydroxybutyrate-co-Hydroxyvalerate Rods: Effects of Controlled Delivery System on Bone Healing*. *Türk Plast Rekonstr Est Cer Derg*, 2005. **13**(1): p. 4.

**Ek-1: Goldberg skorları**

<b>Denek</b>	<b>Goldberg Skorları</b>		
	<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>	<b>Grup C</b>
<b>No. 1</b>	1	1	2
<b>No. 2</b>	0	1	2
<b>No. 3</b>	0	2	1
<b>No. 4</b>	0	1	2
<b>No. 5</b>	1	1	2
<b>No. 6</b>	1	2	2
<b>No. 7</b>	1	1	2
<b>No. 8</b>	1	2	2
<b>No. 9</b>	1	1	1
<b>No. 10</b>	1	2	2
<b>Ort.</b>	<b>0.7</b>	<b>1.4</b>	<b>1.8</b>

**Ek-2: AP ve ML kallus kalınlıkları**

<b>Denek</b>	<b>Kallus apları</b>					
	<b>Grup A</b>		<b>Grup B</b>		<b>Grup C</b>	
	<b>AP</b>	<b>ML</b>	<b>AP</b>	<b>ML</b>	<b>AP</b>	<b>ML</b>
<b>No. 1</b>	3.80	2.80	5.90	4.20	6.20	4.30
<b>No. 2</b>	4.90	2.90	5.00	3.90	6.30	4.30
<b>No. 3</b>	6.70	6.30	6.00	3.80	8.10	5.40
<b>No. 4</b>	6.10	5.90	6.20	3.90	7.20	5.70
<b>No. 5</b>	4.50	3.40	5.00	3.90	6.50	4.00
<b>No. 6</b>	6.80	5.20	4.50	3.90	5.70	4.30
<b>No. 7</b>	4.50	2.40	7.10	6.10	6.00	3.70
<b>No. 8</b>	4.60	2.80	4.50	3.60	5.40	3.20
<b>No. 9</b>	3.70	2.40	4.80	3.30	8.70	5.50
<b>No. 10</b>	4.40	3.20	5.90	4.20	7.70	5.80
<b>Ortalama± SS</b>	5.0±1.13	3.7±1.48	5.5±0.85	4.0±0.75	6.8±1.09	4.6±0.91
<b>Min.</b>	3.70	2.40	4.50	3.30	5.40	3.20
<b>Maks.</b>	6.80	6.30	7.10	6.10	8.70	5.80

**Ek-3:** Maksimum burulma mukavemet güçleri ve maksimum burulma açıları

Denek	Grup A		Grup B		Grup C		Grup D	
	Tork (N.m)	Açı (°)	Tork (N.m)	Açı (°)	Tork (N.m)	Açı (°)	Tork (N.m)	Açı (°)
<b>No. 1</b>	12.0	3.8	24.0	10.6	25.0	4.6	37.0	3.5
<b>No. 2</b>	17.0	13.1	23.0	11.3	4.00	6.4	41.0	5.6
<b>No. 3</b>	23.0	7.7	20.0	11.2	53.0	15.7	39.0	7.4
<b>No. 4</b>	10.0	6.3	21.0	9.4	50.0	13.5	31.0	6.3
<b>No. 5</b>	13.0	6.6	18.0	4.0	48.0	11.4	36.0	12.6
<b>No. 6</b>	25.0	6.5	27.0	15.0	52.0	13.0	-	-
<b>No. 7</b>	20.0	9.7	24.0	19.0	35.0	5.5	-	-
<b>No. 8</b>	29.0	12.4	17.0	10.9	32.0	8.5	-	-
<b>No. 9</b>	10.0	5.7	31.0	9.2	42.0	13.0	-	-
<b>No. 10</b>	20.0	7.4	29.0	6.1	25.0	3.5	-	-
<b>Ort</b>	17.9	7.9	23.4	10.6	40.2	9.5	36.8	7.0
<b>Min</b>	10.0	3.8	17.0	4	25.0	3.5	31.0	3.5
<b>Maks</b>	29.0	13.1	31.0	19	53.0	15.7	41.0	12.6

**Ek-4: Burulma sertlikleri**

<b>Denek</b>	<b>Burulma Sertlikleri</b>			
	<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>	<b>Grup C</b>	<b>Grup D</b>
<b>No. 1</b>	3.15	2.26	5.43	6.57
<b>No. 2</b>	1.29	2.03	6.25	5.32
<b>No. 3</b>	2.98	1.78	3.37	5.27
<b>No. 4</b>	1.58	2.23	3.70	4.12
<b>No. 5</b>	1.96	4.50	4.21	2.85
<b>No. 6</b>	3.84	1.80	4.00	-
<b>No. 7</b>	2.06	1.26	6.36	-
<b>No. 8</b>	2.33	1.55	3.76	-
<b>No. 9</b>	1.75	3.36	3.23	-
<b>No. 10</b>	2.70	4.75	7.14	-
<b>Ort± SS</b>	2.36±0.79	2.55±1.22	4.74±1.42	4.82±2.91
<b>Min</b>	1.29	1.26	3.23	2.85
<b>Maks</b>	3.84	4.75	7.14	6.57