



**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİZOPROSTOLÜN KIRIK İYİLEŞMESİNE ETKİSİ  
(Sıçan Tibialarında Yapılan Deneysel Çalışma)**

**Dr. MEHMET ÇOLAK  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Yrd.Doç.Dr. ABTULLAH MİLCAN**

**MERSİN-2004**

**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİZOPROSTOLÜN KIRIK İYİLEŞMESİNE ETKİSİ  
(Sıçan Tibialarında Yapılan Deneysel Çalışma)**

**Dr. MEHMET ÇOLAK  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Yrd.Doç.Dr. ABTULLAH MİLCAN**

**MERSİN-2004**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	4
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	5
TABLolar DİZİNİ.....	7
ÖZET.....	8
İNGİLİZCE ÖZET.....	9
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	10
2. GENEL BİLGİLER.....	11
2.A. Kemik Dokusu.....	11
2.B. Kırık İyileşmesi.....	16
2.C. Prostaglandinler ve Kemik Dokusu Üzerindeki Etkileri.....	22
3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	24
3.A. Araç ve Gereçler.....	24
3.B. Yöntem.....	26
4. BULGULAR.....	31
4.A. Radyolojik Bulgular.....	31
4.B. Histolojik Bulgular.....	34
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48
TEŞEKKÜR	

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>BMP</b>	Bone Morphogenic Protein (Kemik Morfojenik Proteini)
<b>BMU</b>	Basic Multicellular Unit (Temel Çok Hücreli Ünite)
<b>cAMP</b>	Cyclic Adenocin Monophosphate (Siklik Adenozin Monofosfat)
<b>FGF</b>	Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)
<b>GH</b>	Growth Hormone (Büyüme Hormonu)
<b>IGF</b>	Insulin-like Growth Factor (İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü)
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>mRNA</b>	Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>PDGF</b>	Platelet Derived Growth Hormone (Platelet Kaynaklı Büyüme Hormonu)
<b>PTH</b>	Paratiroid Hormon
<b>RAP</b>	Regional Acceleratory Phenomenon (Bölgesel Hızlanma Fenomeni)
<b>rhBMP</b>	Recombinant Human Bone Morphogenic Protein (Rekombinant İnsan Kemik Morfojenik Proteini)
<b>TGF</b>	Transforming Growth Factor (Transforme Edici Büyüme Faktörü)

## ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 (Lamellar kemik dokusu).....	12
<b>Resimler</b>	
Resim 1 (Kırık oluşturma cihazı).....	24
Resim 2 (Orogastrik besleme kanülü).....	25
Resim 3 (Kırık öncesi intramedüller hazırlık).....	26
Resim 4 (Üç nokta sistemi – kırık öncesi).....	26
Resim 5 (Üç nokta sistemi – kırık sonrası).....	27
Resim 6 (Orogastrik besleme).....	28
Resim 7 (Dördüncü haftada kırık tibia diseksiyonu).....	29
Resim 8 (İkinci haftada radyografi örneği).....	32
Resim 9 (İkinci haftada radyografi örneği).....	32
Resim 10 (Dördüncü haftada radyografi örneği).....	33
Resim 11 (İkinci hafta kontrol grubu (Toluidin Mavisi x 100)).....	34
Resim 12 (İkinci hafta kontrol grubu (Toluidin Mavisi x 200)).....	35
Resim 13 (İkinci hafta düşük doz grubu (Hematoksilen Eozin x 40)).....	35
Resim 14 (İkinci hafta düşük doz grubu (Hematoksilen Eozin x 100)).....	35
Resim 15 (İkinci hafta düşük doz grubu (Toluidin Mavisi x 40)).....	36
Resim 16 (İkinci hafta yüksek doz grubu(Hematoksilen Eozin x 40)).....	36
Resim 17 (Resim 16'daki alan (Hematoksilen Eozin x 100)).....	37
Resim 18 (İkinci hafta yüksek doz grubu (Hematoksilen Eozin x 100)).....	37
Resim 19 (Dördüncü hafta kontrol grubu (Toluidin Mavisi x 40)).....	38
Resim 20 (Dördüncü hafta kontrol grubu (Hematoksilen Eozin x 100)).....	38
Resim 21 (Dördüncü hafta düşük doz grubu (Hematoksilen Eozin x 40)).....	38
Resim 22 (Dördüncü hafta düşük doz grubu (Toluidin Mavisi x 40)).....	39

**Resim 23 (Dördüncü hafta yüksek doz grubu (Toluidin Mavisi x 40))....39**

**Resim 24 (Dördüncü hafta yüksek doz grubu (Toluidin Mavisi x 100))...40**

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablolar</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1 (Radyolojik puanlama sistemi).....</b>	<b>28</b>
<b>Tablo 2 (Histolojik puanlama sistemi).....</b>	<b>30</b>
<b>Tablo 3 (İkinci hafta radyografilerinde kallus gözlenmeyen kırık sayısının gruplara göre dağılımı).....</b>	<b>33</b>
<b>Tablo 4 (Dördüncü hafta radyografilerinde yeniden şekillenmenin başladığı kırık sayısının gruplara göre dağılımı).....</b>	<b>34</b>
<b>Tablo 5 (İkinci haftada gruplara göre histolojik puanların frekansları).....</b>	<b>41</b>
<b>Tablo 6 (Dördüncü haftada gruplara göre histolojik puanların frekansları).....</b>	<b>41</b>

## ÖZET

### **Mizoprostolün Kırık İyileşmesine Etkisi (Sıçan Tibialarında Yapılan Deneysel Çalışma)**

Prostaglandinlerin, kemik döngüsü ve kırık iyileşmesinde lokal düzenleyici etkilileri vardır. Mizoprostol, prostaglandin E1'in sentetik analogudur. Literatürde prostaglandinlerin kırık iyileşmesine etkisini araştıran çalışmalar vardır fakat mizoprostol'ün kırık iyileşmesine etkisini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmada 54 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Tüm deneklerde kapalı tibia kırığı yapıldı. Sıçanlar rastgele 3 gruba ayrıldı. Birinci gruba 100 mikrogram/kilogram/gün, ikinci gruba 300 mikrogram/kilogram/gün mizoprostol suspansiyonu orogastrik yolla 4 hafta boyunca verildi. Üçüncü gruba ilaç uygulanmadı. Bir, iki ve dördüncü haftalarda radyolojik, iki ve dördüncü haftalarda histolojik değerlendirmeler yapıldı. Kırık iyileşmesinin radyografik ve histolojik puanlamaları literatüre uygun olarak yapıldı.

İkinci hafta radyolojik incelemesinde birinci gruptan 2, ikinci gruptan 1, üçüncü gruptan 4 kırıkta iyileşme dokusu gözlenmemekteydi, diğer kırıklarda iyileşme dokusu vardı. Dördüncü hafta radyolojik incelemesinde, birinci gruptan 3, ikinci gruptan 2, üçüncü gruptan 1 grafide yeniden şekillenme başlamıştı. Grupların radyolojik puanları arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla  $p=0,270$ ,  $0,280$ ). Verilen histolojik puanlar incelendiğinde tüm grupların kendi içlerinde birbirinden farklı birçok değer aldığı gözlemlendi. Histolojik puanlar arasında, her iki inceleme haftasında da gruplar arasında fark saptanmadı (sırasıyla  $p=0,185$ ,  $0,796$ ).

Elde edilen histolojik bulgular mizoprostolün kırık iyileşmesi üzerine etkisinin varlığını desteklemiyor olsa da, radyolojik bulgular destekleyici etkinin varlığı yönünde ipuçları taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Kırık iyileşmesi, mizoprostol.



## **ABSTRACT**

### **Effect of Misoprostol on Fracture Healing (Experimental Study on Rat Tibiae)**

Prostaglandins are local mediators of bone turn-over and fracture healing. Misoprostol is a synthetic analogue of prostaglandin E1. There are studies about the effects of prostaglandins on fracture healing, but as far as we are acquainted with the literature, there is no study with regard to the effect of misoprostol.

Fiftyfour male Sprague Dawley rats were used in the study. All the tibias were fractured in closed manner. Rats were randomly separated in three groups. First and second groups received suspension of misoprostol through the orogastric route for 4 weeks, 100 and 300 micrograms/kilograms/day respectively. Third group did not receive any drug. Radiological observations on first, second and fourth weeks, histological observations on second and fourth weeks of fracture were carried out. Radiographic and histological scores, according to scoring systems found in the literature were obtained.

On radiological observations, 2 fractures from the first group, 1 fracture from the second group, and 4 fractures from the third group showed no healing tissue on roentgenograms after two weeks. The remainder of the fractures had visible healing responses. Four weeks after fracture, 3 fractures from the first group, 2 fractures from the second group, and 1 fracture from the third group showed remodeling activity. The differences of radiological scores between groups on second and fourth weeks were not significant statistically ( $p=0,270$ ,  $0,280$  respectively). When the histological findings were assessed, one could see that all the groups had varying histological scores even within themselves. The differences of histological scores between groups on second and fourth weeks were not significant statistically ( $p=0,185$ ,  $0,796$  respectively).

Although histological findings do not support any effect of misoprostol on fracture healing, radiological findings have clues about enhancement effect.

**Key words:** Fracture healing, misoprostol.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Değişik tip ve enerjideki mekanizmalarla oluşan iskelet sistemi yaralanmaları, sebep oldukları morbiditelerle birlikte, günümüz tıp literatüründe önemli yer kaplamaktadır. Travmatoloji biliminin gelişimi, insanoğlunun teknolojik alanda kat ettiği gelişmelere paralellik göstermektedir. Travmatolojinin araştırma alanlarından olan kırık iyileşmesi, hücresel ve moleküler düzeyde bir çok çalışmaya konu olmaktadır. Kemik dokusunun hücresel ve moleküler özelliklerinin ve bu özelliklerin dış etkenlere cevabının zamanla daha net anlaşılır olması, kırık iyileşmesi konusunda yapılan çalışmalara hız kazandırmıştır. Kaynama gecikmesi veya kaynamama gibi sorunların sebep olduğu iş gücü kaybı ve ekonomik zararlar, araştırmaları yine kırık iyileşmesine yöneltmiştir. Problemlili kırık iyileşmesinin önüne geçebilecek etkenlerin ortaya konup klinikte uygulanır hale getirilmeleri, hastaların bedensel ve ruhsal durumlarına yapacağı katkı ile birlikte daha ekonomik bir tedavi süreci sağlama açısından büyük bir önem taşımaktadır. Kemik iyileşmesini engelleyici veya yavaşlatıcı etkenlerin de bilinmesi yine aynı amaca yönelik yapılan çalışmaların konusunu oluşturmaktadır.

Kemik döngüsü ve kırık iyileşmesine etkisinin olduğu bilinen birçok biyolojik ve fiziksel etken vardır. Bunlardan biri de prostaglandinlerdir. Prostaglandinler araşidonik asit ürünleri olup, dokularda lokal düzenleyici olarak bulunmaktadır. Prostaglandinlerin dışarıdan lokal veya sistemik uygulanması ile kemik döngüsü ve kırık iyileşmesinde bazı değişikliklerin olduğu bilinmektedir. Mizoprostol, prostaglandin E1'in sentetik analogudur. Klinikte kullanımı gastroenteroloji ve obstetri alanlarında olmaktadır. Literatürde mizoprostol'ün kırık iyileşmesine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamaktadır.

Prostaglandinlerin kemik döngüsü ve kırık iyileşmesine etkilerini ortaya koyan çalışmaları incelediğimiz zaman, mizoprostol'ün kırık iyileşmesine etkisinin olabileceğini varsaydık. Uygulama kolaylığı olan ve yan etkisi oldukça az ve tolere edilebilir olan bu ilaç ile yapılan bir çalışmada, eğer kırık iyileşmesini destekleyebilme özelliği gösterilebilirse, yeni çalışmalara ve klinik uygulamalara temel oluşturabileceğini düşündük.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.A.Kemik Dokusu

Kemik, oldukça iyi organize olmuş bir vasküler yapıya ve matriks oluşturup rezorbe edebilen özel hücrelere sahip bir dokudur. Diğer kas-iskelet sistemi dokuları gibi mezenşimal hücreleri ve hücre dışı matriksi vardır, fakat farklı olarak matriksi mineralizedir<sup>1</sup>.

#### 2.A.1.Kemiğin Fonksiyonu

Kemik yetişkin iskeletin en önemli yapı taşıdır. Yumuşak dokulardan meydana gelmiş yapıları destekler; kafa ve göğüs boşluklarındaki hayati organları korur. Kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini içinde bulundurur. Vücuttaki kalsiyum iyonunun %99'unu, fosfat iyonunun da %80'ini içerir ve bu iyonlarla ilgili birçok metabolik olayda rol alır. Kaldıraçlardan meydana gelen sistemleri oluşturup, çizgili kas kasılmalarının doğurduğu kuvvetleri artırarak, bu kasılmaları hareketlere dönüştürür<sup>2,3</sup>.

#### 2.A.2.Makroskopik ve Biyomekanik Özellikler

Makroskopik olarak bir kemiğin kesit yüzeyi iki ayrı şekil gösterir; dış yapı kortikal veya kompakt kemik, iç yapı ise kansellöz veya trabeküler kemik şeklindedir. Kortikal kemik iskeletin yaklaşık %80'ini oluşturup, kansellöz kemiği kompakt lamellerle çevreler. Kansellöz veya kortikal kemik oluşumu, yük dağılımına ve hormonal değişiklikler başta olmak üzere birçok faktöre bağımlı olarak ayarlanır. Yoğunluk ve doku örgülerindeki farklılıklar nedeniyle eşit büyüklükteki kortikal ve kansellöz kemik değişik mekanik özelliklere sahiptir. Bu iki kemik tipi aynı kompozisyona sahiptir ancak kortikal kemik daha yoğundur. Kemiğin kompresyon gücü yoğunluğun karesiyle doğru orantılı olduğundan kortikal kemik çok daha yüksek bir kompresif güce sahiptir. Ayrıca kortikal kemiğin dönme ve bükülmeye karşı direnci daha fazla iken, kansellöz kemiğin daha elastik bir yapısı vardır<sup>1,3</sup>.

#### 2.A.3.Mikroskopik Özellikler

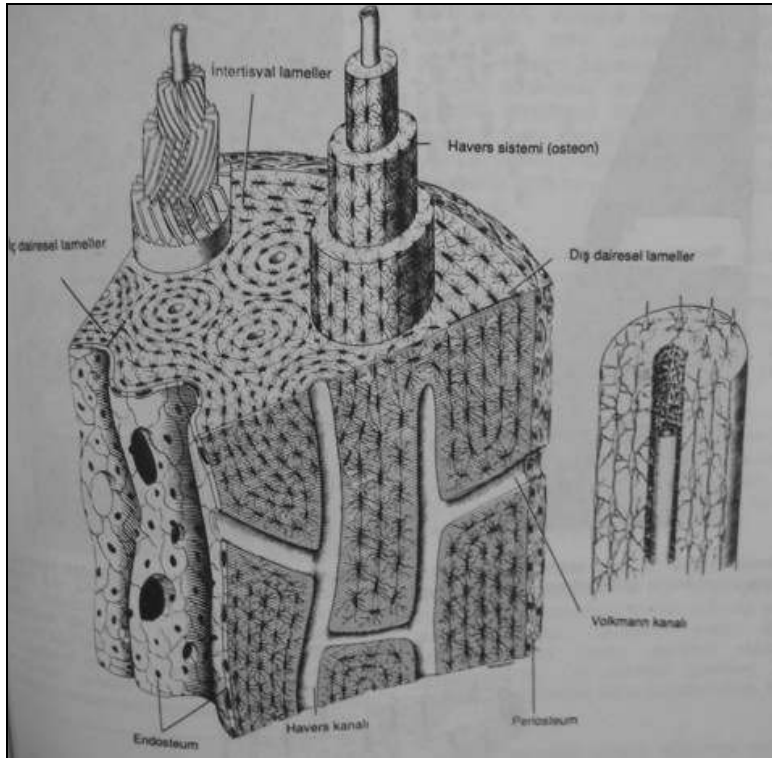
Kemik dokusu mikroskopik olarak iki farklı tiptedir:

- 1) Birincil, olgunlaşmamış veya kaba lifli (woven) kemik,
- 2) İkincil, olgun veya lameller kemik.

Birincil kemik dokusu embriyonik iskelette ve büyüme plaklarının metafiz tarafında bulunur. Birincil kemik dokusu iskelet gelişimi ile birlikte yerini ikincil kemik dokusuna bırakır. İskelet olgunlaşması sonrası, tendon ve ligamentlerin

kemiğe yapışma yerleri, kranial kafa sütürleri ve kulak ossiküllerinde bir miktar birincil kemik dokusu devamlılığını sürdürebilir. Bunların haricinde 4-5 yaş sonrası birincil kemik dokusu normalde gözlenmez. Ancak kırık iyileşmesinde, metabolik, neoplastik, enfeksiyöz ve inflamatuvar bazı durumlarda bu tür kemik dokusu gözlenebilir. Birincil kemikte matriks, hücreler tarafından düzensiz bir şekilde oluşturulur. Birincil kemikte, ikincil kemiğe göre birim alanda 4 kat fazla osteosit vardır ve bu osteositler boyut, yönelim ve dağılım açısından farklılıklar gösterir. Birincil kemik dokusunun mineralizasyonu da düzensizdir. Kollagen liflerinin dizilimindeki düzensizlik, yüksek hücre ve su içeriği ve düzensiz mineralizasyonu nedeni ile birincil kemik ikincil kemiğe göre daha esnektir; kolay deforme olur ve daha zayıftır<sup>1,2,3</sup>.

İkincil kemik dokusunda kollagen lifler birbirlerine paralel veya bir vasküler kanal etrafında dairesel olarak yerleşmiş lameller halinde düzenlenmiştir. Kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren bir kanal etrafını saran, dairesel lamellerin meydana getirdiği bütünlüğe havers sistemi veya osteon denir (Şekil 1).



Şekil 1: Lamellar kemik dokusu.

Osteositleri içeren lakünalar lameller arasında ve nadiren de içinde bulunur. Her havers sisteminin etrafı birkaç kollagen lif ve mineralize amorf matriksten oluşan yapıştırıcı madde (cementing substance) ile çevrenir. Havers kanalları, transvers veya oblik seyreden volkmann kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları, periosteum ve birbirleri arasında temas ve iletişim içindedir<sup>2</sup>.

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla örtülüdür. Dıştakine periosteum, içtekinde endosteum denir. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenlerle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilmelidir<sup>2</sup>.

#### **2.A.4.Kemik Dokusu Hücreleri**

Kemik dokusunun oluşturulması ve devamlılığı değişik tip kemik hücrelerinin koordineli çalışmasına bağlıdır. Morfoloji, fonksiyon ve karakteristik açıdan kemik hücreleri 4 gruptur:

- 1) Farklılaşmamış veya osteoprogenitör hücreler
- 2) Osteoblastlar
- 3) Osteositler
- 4) Osteoklastlar.

Farklılaşmamış veya osteoprogenitör hücreler tek nukleuslu küçük hücrelerdir. Birkaç organelleri vardır ve düzensiz şekillidirler. Osteoblastlara dönüşmeleri için herhangi bir uyarı gelmediği sürece farklılaşmamış olarak kalırlar. Genellikle kemik kanallarının içinde, endosteum ve periosteumda bulunurlar.

Osteoblastlar, genellikle merkezden uzak yerleşimli tek bir nukleus ve büyük hacimli organelleri olan kuboidal hücrelerdir. Uyarıldıklarında yeni kemik organik matriksini oluşturmak ve matriks mineralizasyonu kontrolünde rol almak üzere kemik yüzeylerinde bulunurlar. Aktif haldeyken yuvarlak, oval veya polihedral şekildedirler. Osteoblastların sitoplazmik uzantıları, osteositleri birbirine bağlamak için osteoidin dışına çıkar ve mineralize matriks içinden geçer. Osteoblastlar, matriks sentezi için görevlendirildiklerinde iki yoldan birine girerler. Ya sentetik aktivitelerini düşürüp, kemik yüzeyinde kalıp, burada düzgün kemik yüzeyini oluştururlar, ya da kendilerini matriks ile çevreleyip

osteosit halini alırlar. İn vivo ortamda osteoblast farklılaşması, interlökinler (IL), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve insülin benzeri büyüme faktöründen (IGF) etkilenir. Osteoblastlar tip-1 kollagen ve osteokalsin üretirler. Paratiriod hormon (PTH), 1,25-dihidroksi-vitamin D, glukokortikoidler, prostaglandinler ve östrojen ile reseptör- ligand etkileşimleri vardır<sup>1,3</sup>.

Osteoblastlardan kaynaklanan osteositler, matriks lamelleri arasında bulunan lakunalar içine yerleşmişlerdir. Olgun iskelet hücrelerinin %90'ını oluştururlar. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik kanalcıklarla sarılmıştır. Uzun sitoplazmik uzantıları kemik matriksi içindeki diğer osteositlerle veya osteoblastların uzantıları ile temas kurmalarını sağlar. Böylece kemik yüzeyi ile matriksi arasında bir ağ oluşur. Osteositlerin hücre membranları ve uzantıları, olgun kemik matriksi toplam yüzey alanının %90'ını çevreler. Bu düzenleme ile mineralize matriks alanının çoğuyla temas sağlanır ve kemik sıvısıyla kan arasındaki hücre kontrollü mineral alışverişi meydana gelir. Temel anlamda kemik sıvısı içeriği ve vücut mineral dengesinin ayarlanmasına yardım ederler. Kalsitonin tarafından direkt olarak uyarılırken, PTH tarafından inhibe edilirler<sup>1,2,3</sup>.

Osteoklastlar çok nukleuslu, iri, düzensiz hücrelerdir. Kemik rezorpsiyonu için gerekli enerjiyi sağladıkları mitokondrilerle dolu sitoplazmaları vardır. Endosteal, periosteal ve haversian sistem yüzeylerinde kemik matriksine karşı yerleşirler. Kemik yüzeylere integrin denen bağlanma proteinleri ile tutunurlar. Osteositler ve bazı osteoblastların aksine bir rezorpsiyon alanından başka bir alana göç edebilirler. Kemik iliği kaynaklı birkaç mononükleer hücrenin birleşmesiyle oluşurlar. Makrofajlardan farkları tartrat-dirençli asit fosfataz üretmeleridir. Resorpsiyon görevleri bitince mononükleer hücre oluşturmak üzere bölünürler. Osteoklastların ayırt edici özelliklerinden en önemlisi kemik rezorpsiyonu olan bölgelerde matrikse bakan hücre membran yüzeyinin katlantılar yapmasıdır. Bu fırçamsı görünümlü sınır, kemik rezorpsiyon alanını artırmaya yarar ve kemik matirksinin hızlıca yıkıldığı bir ortam yaratır. Bu fırçamsı kenar ile kemik matriksi arasındaki sıvı yüksek konsantrasyonda H<sup>+</sup> iyonu ve proteolitik enzimler içerir. Asidik ortam kemik matriksini demineralize edebilir ve enzimler de matriksin organik kısmını yıkar. Kemik rezorpsiyonu 'Hawship's lakünaları' denen yıkım alanlarında meydana gelir ve bu işlem kemik

formasyonundan çok daha hızlıdır. Osteoklastlar üzerinde kalsitonine spesifik reseptörler bulunur<sup>1,2,3</sup>.

### **2.A.5.Kemik Matriksi**

Kemik matriksi organik makromoleküllerden, inorganik moleküllerden ve matriks sıvısından oluşur. İnorganik matriks, ıslak kemik ağırlığının %70'ini oluşturur. Geriye kalan %20 organik moleküller ve %8-10 sudan ibarettir. Organik matriks kemiğe şeklini verir ve tensil gücünü sağlar; mineral komponenti ise kompresif güç kazandırır<sup>1</sup>.

Matriksin organik içeriğinde kollagen, proteoglikanlar, nonkollagenöz matriks proteinleri ve büyüme faktörleriyle sitokinler bulunur. Kollagen, kemik matriksinin %90'ını oluşturur ve hemen hepsi tip-1 kollagendir. Kollagen, kemiğe tensil kuvvet sağlarken proteoglikanlar kısmen kompresif güçten sorumludur. Proteoglikanlar mineralizasyonu inhibe ederler. Osteokalsin, osteonektin ve osteopontin gibi nonkollagenöz matriks proteinleri, kemiğin mineralizasyonu ve kemik oluşumunu sağlarlar. Kemik matriksinde ayrıca az miktarlarda da olsa, transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), IGF, IL-1, IL-6 ve kemik morfojenik proteinleri (BMP) 1-6 bulunur. Bu proteinler kemik hücre farklılaşması, aktivasyonu, büyümesi ve döngüsünden sorumludur<sup>3</sup>.

Kemiğin kuru ağırlığının çoğunu inorganik içerik oluşturur. Osteoblastlar osteoidleri oluşturduktan hemen sonra kollagen fibrilleri arasında mineral gözlenir ve bu mineralizasyon, fibrillerin organizasyonunu bozmadan genişler. Kemik matriksi vücut kalsiyumunun %99'unu, fosfatının %80'ini, sodyum, magnezyum ve karbonatının büyük çoğunluğunu içerir. Yeni mineralize kemik matriksi kalsiyum-fosfat türevi birçok değişik bileşik içerir. Bunların bir kısmı çözülebilir bileşiklerken, kristal haldeki hidroksi-apatit çözülmez. Kemik olgunlaştıkça inorganik matriksin tamamı yakını hidroksi-apatit halini alır, ayrıca sodyum, magnezyum, sitrat ve florid de içerebilir. Olgunlaşma ile mineralizasyon derecesi değişeceğinden kemiğin maddesel özellikleri de değişir. Temel olarak, mineralizasyon arttıkça kemiğin sıklığı artar<sup>1</sup>.

### **2.A.6.Kemik Histogenezi**

Kemik iki yolla şekillenir: 1) Osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu; ki bu intramembranöz kemikleşme olarak adlandırılır. 2) Daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksin çöküşü ile; bu da endokondral kemikleşme olarak adlandırılır.

Her iki yolla da ilk ortaya çıkan kemik dokusu birincil veya olgunlaşmamış kemik dokusudur. Birincil kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra ikincil kemik dokusu (lamelli kemik) tarafından işgal edilir<sup>2</sup>.

### **2.A.7.Kemik Kan Dolaşımı**

Kemik dokusu kardiak çıktının %5-10'unu alır. Uzun kemikler kanı üç yoldan alır:

- 1) Besleyici arter sistemi
- 2) Metafizler-epifizler sistem
- 3) Periosteal sistem

Besleyici arterler, sistemik dolaşımdan köken alan dallar olarak kemik dokuya ulaşırlar. Besleyici arter, diafizler bölgede bulunan delikten korteksi geçerek medüller kanala ulaşır ve medüller kanala girdikten sonra inen ve çıkan küçük dallara ayrılır. Daha sonra arterioller olarak endosteal korteksi penetre edip, haversian sistem aracılığı ile, diafizler korteksin en az iç 2/3'ünü beslerler. Metafizler-epifizler sistem, eklem çevresi vasküler pleksustan köken alır. Periosteal sistem kapillerleri diafizler korteksin dış 1/3'ünün kanlanmasıyla sorumludur.

Kemikteki arteriel kan akımı, yüksek basınçlı besleyici arter sisteminden, düşük basınçlı olan periosteal sisteme doğru, yani içten dışa doğrudur. Tam deplase kırıklarda besleyici arter sistemi çalışmadığı için periosteal sistem hakim duruma geçer, böylece akım dıştan içe doğru döner. Olgunlaşmamış kemikte, periosteum yüksek oranda vaskülarize olduğu için akım yine dıştan içe doğrudur.

Olgun kemikte venöz akım dıştan içe doğru olup, kortikal kapillerler venöz sinusoidlere, sinusoidler de venöz sisteme drene olur<sup>3</sup>.

### **2.B.Kırık İyileşmesi**

#### **2.B.1.Kırığın Tanımı**

Kemik dokusundaki devamlılığın veya başka bir deyişle, kemiğin anatomik bütünlüğünün tam veya kısmen bozulmasına kırık denir. Kırıklar basit bir çatlak şeklinde veya çok parçalı olabilir. Kırıkla birlikte daima çevre yumuşak dokularda da (periost, kaslar, tendonlar, sinir ve damarlar, fasya, kapsül, sinovya vs.) çeşitli derecelerde yaralanmalar olur<sup>4</sup>.



## 2.B.2.Kırık İyileşmesinin Patofizyolojisi

Kırık iyileşmesi, oldukça karmaşık fizyolojik bir süreçtir. Skar dokusu gelişimi ile iyileşen diğer dokuların aksine, kırık iyileşmesinde, orjinal kemik dokusunun yeniden yapılanması sureti ile kırık öncesindeki dokunun özellikleri korunmuş olur. Bu karmaşık süreç, kırığın olduğu anda başlayan bir dizi yeniden yapılanma olayını içerir.

Travma anında kemiğin enerjisi emmesi ile mekanik ve yapısal bütünlük bozulur. Kırık hattında vasküler yapılar kesilir. Birkaç saat içinde kemik iliği elemanları yapısal özelliğini kaybeder ve kemik iliğinde yüksek hücresel yoğunluklu ve düşük hücresel yoğunluklu alanlar oluşur. Yüksek hücresel yoğunluklu alanlarda epitelyal hücrelerin polimorfik hücrelere dönüştüğü ve bu hücrelerin 24 saat içinde osteoblastik fenotipe dönüşerek kemik formasyonuna başladıkları gözlenir.

Klasik histolojik terminolojide kırık iyileşmesi, birincil ve ikincil olmak üzere ikiye ayrılır. Birincil iyileşme veya birincil kortikal iyileşmede, korteksteki devamsızlık direkt olarak korteksin kendi kendini tesis etmesiyle giderilir. Kırık fragmanlarının anatomik restorasyonu ve stabil internal fiksasyonunun sağlandığı durumda kırık uçlarının temas noktalarının arasında küçük boşluklar kalacaktır. Kan damarlarının bu boşlukları doldurmasıyla birlikte, yaralanma sonrası ilk saatlerde iyileşme başlamış olur. Mezenşimal hücreler osteoblastlara dönüşür ve kemik yüzeylerde osteoid formasyonu başlar. Bu işlemler genellikle rezorbsiyonsuz olur. Kırık uçlarındaki nekrotik kemik ve küçük boşluklardaki kallus dokusu ise rezorbsiyona uğrar. Kırık hattının bir tarafındaki osteoklastların tüneller oluşturacak şekilde rezorbsiyon yaparak ilerlemesi ile yeni haversian sistemleri oluşur, böylece kan damarlarının doku içinde ilerlemesi sağlanır. Bu kan damarları daha sonra osteoprogenitor hücrelere dönüşecek mezenşimal hücreleri içermektedir. Önde osteoklastların, onların arkasında osteoblastları oluşturacak mezenşimal hücreler ve en arkada kemik yapacak osteoblastların oluşturduğu hücre kompleksi 'kesici koni' (cutting cone) olarak adlandırılır. Temas alanlarındaki iyileşme kesici koninin bu alanları geçmesi sonucunda oluşur.

İkincil iyileşmede, periost ve etraf yumuşak dokulardaki yanıt sonucunda oluşan kallus dokusu ile kemik devamlılığı yeniden sağlanmaya çalışılır. Periostta bulunan osteoprogenitor hücreler ve farklılaşmamış mezenşimal

hücrelerin önyak olduğu intramembranöz ossifikasyon ve endokondral kemik oluşumu ile hızlı bir iyileşme süreci gözlenir. Bu tip yanıt mobilizasyon ile hızlanıp fiksasyon ile inhibe olur. Kırık hattına uzak alanlarda intramembranöz ossifikasyon ile sert kallus dokusu oluşur. Bu dokuda, kemik matriks proteinlerine iyileşmenin erken dönemlerinde rastlanabilir. Endokondral kemikleşme ise kırık hattına yakın alanlarda olur ve önce kırık dokunun oluşup sonrasında bu dokunun kalsifiye olması ve kemik dokusuna dönüşmesi ile karakterize bir süreçtir. Etraf yumuşak dokunun yanıtı, hızlı hücrel aktivite ve erken dönemde kırık hattında köprüleşen kallus oluşumu ile karakterizedir. Etraf yumuşak dokudaki iyileşme de endokondral kemikleşme ile olur.

Kırıklar çoğu zaman kırık hattında bir miktar harekete izin veren tedavi seçenekleri ile tedavi edilir. Bu nedenle kırıkların çoğunluğu intramembranöz ve endokondral kemikleşmenin bir arada gözleendiği bir yanıtla iyileşir. Kırık iyileşmesi 6 evreye ayrılır:

- 1- Hematom ve inflamasyon
- 2- Anjiogenez ve kırık dokunun oluşumu
- 3- Kırık dokunun kalsifiye olması
- 4- Kırık dokunun ortadan kaldırılması
- 5- Kemik oluşumu
- 6- Remodelasyon (Yeniden şekillenme)

Hematom ve inflamasyon evresinde bir dizi hücrel olayı tetikleyecek sinyal molekülleri aktive olur. Bunlardan IL1-6, TGF- $\beta$  ve PDGF, hücre proliferasyonu ve mezenşimal hücrelerin farklılaşmasında önemli rolleri olan mediatörlerdir. Bu sitokinler veya sinyal moleküllerinden bazıları kemotaksis veya anjiogenezde de rol alırlar.

Sıçanlarda oluşturulan kırık modelinde, kırık iyileşmesinin 7 ile 10. günleri arasında, intramembranöz ve endokondral kemik oluşumu başlar. İkinci haftanın ortalarında kırık hattı bol miktarda kırık dokusu ile kaplanır ve bu kondroid doku kalsifikasyon için gereken biyokimyasal olayları başlatır. Bu aşamada kallus dokusu sert kallus ve yumuşak kallus olarak ayrılabilir. İnamembranöz kemikleşmenin olduğu yerlerde sert kallus, endokondral kemikleşmenin olduğu yerlerde ise yumuşak kallus gözlenir.

Kırıktan ortalama 9 gün sonra, mitoz bölünme ile çoğalan proliferatif kondrositler yoğun olarak görülür. Kırıktan 2 hafta sonra hücre proliferasyonu

azalır ve kondroid kallus içinde hakim olan hücre tipi artık hipertrofik kondrositlerdir. Hipertrofik kondrositlerin matriks vezikülleri hücre dışı matrikse migre olarak kalsifikasyonun düzenlenmesinde rol alırlar.

Kırıkta kalsifiye olduğu zaman kan damarları invazyonu için hedef doku halini alır. Bu damarlar osteoblast öncülerini beraberlerinde getirirler. Kırık kallusundaki kalsifiye kırıkta, kondroklastlar ve osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve bu dokunun yerini birincil kemik dokusu (woven kemik) alır<sup>5,6,7</sup>.

Mineralize olan kallusun yerini yeni oluşan kemiğe bırakması yeniden şekillenme (remodeling) evresi olarak bilinir. Yeniden şekillenme mekanizması dört ayrı olaydan sorumludur:

- 1- Mineralize kırıkta, birincil kemik dokusuna dönüştürülmesi,
- 2- Birincil kemik dokusunun yeni lamellar kemiğe dönüştürülmesi,
- 3- Kompakt kemik uçları arasındaki kallusun, kompresyon ve tansiyon güçlerine paralel dizilim gösteren lamellar kemikten oluşan yeni ikincil osteona dönüştürülmesi,
- 4- Kemik iliğini tıkayan kallusun uzaklaştırılması.

Yeniden şekillenme, koordineli çalışan birçok tipte hücrenin, hücreler arası maddelerin ve kapillerlerin oluşturduğu 'temel çok hücreli ünite' (basic multicellular unit=BMU) adı verilen bir organizasyon içinde gerçekleşir. Yeniden şekillenmeyi sağlayan bu ünitenin, kallus dokusunu yapısal bir lamellar kemiğe dönüştürmesi insanlarda yaklaşık 1 ile 4 yıl arasında sürer<sup>8</sup>.

Normal bir kemik dokusu gelişimini tamamladıktan sonra, matriksin yıkılıp yeniden yapılması belli bir hızda ve süreklilikte devam eder. Kemik öncü hücrelerinin proliferasyonu, osteoklastların matriksi rezorbe etmesi ve matriksin osteoblastlar tarafından tekrar oluşturulmasından oluşan bu döngü, kırık iyileşmesi döneminde hızlanır. Böylece yaralanmış olan kemik kısa bir sürede yeniden yapılandırılır. Bu özellik 'bölgesel hızlanma fenomeni' (regional acceleratory phenomenon=RAP) olarak bilinir<sup>8,9</sup>.

### **2.B.3.Kırık İyileşmesinin Biyokimyasal Özellikleri**

Fare ve sıçanlarda yapılan kırık çalışmalarında, kırıktan ortalama 9 gün sonra, yumuşak kallus ve periosteumda ekstrasellüler matrikste ağırlıklı olarak tip-2 kollagen gözlenmiştir. Ondördüncü günde halen tip-2 kollagen hakimiyeti varken tip-2 kollagen için mesajcı ribonükleik asit (mRNA) sentezi sona ermektedir. Ondördüncü günden itibaren kırıkta yapımına ait olaylar sona erer

ve kırıkta kalsifikasyonu ve kondrositlerin uzaklaştırılması için hazırlıklar başlar. Beşinci gün gibi erken bir dönemde tip-2 kollagen için mRNA içeren hücrelerin aynı zamanda tip-1 kollagen ekspresyonu da yaptıkları saptanmıştır. Tip-9 kollagen ekspresyonu, tip-2 kollagen ekspresyonu ile aynı zamanda olurken, tip-10 kollagen ekspresyonu biraz daha geç gözlenir. Tip-10 kollagen, endokondral kemikleşmenin hipertrofik kondrositleri tarafından üretilir.

Kırık sonrası 9. günde yumuşak kallus içinde osteonektin piki olur ve sert kallus içinde de 9-15. günler arasında uzunca bir osteonektin piki saptanmıştır. Osteonektin proteinin rolünün, hücre fonksiyonu ve doku morfogenezinin regülasyonu olduğu düşünülmektedir.

Osteopontin, sert kallustaki osteositlerde ve osteoprogenitör hücrelerde gözlenir. Bu proteinin hücresel bağlanmada önemli olduğu bilinmektedir. Ayrıca hiyaluronik asit, tip-1 kollagen ve fibronektine bağlanan CD44 hücre yüzey proteini ile interaksyonu olduğu bilinmektedir. Osteopontine yumuşak ve sert kallusun birleştiği yerdeki hücrelerde rastlanmaktadır.

Sadece osteoblastik hücrelerden eksprese olan osteokalsin proteinini yumuşak kallusta gözlenmeyip sert kallusta gözlenmektedir. Osteokalsin ekspresyonu 9-11. günde başlayıp 15. günde pik yapar. Kalsiyum iyonları ile hidroksiapatit yüzeylerin yapışmasını sağlayan 3 $\gamma$ -karboksiglutamik asit artıklarını içeren, K vitamini bağımlı kemiğe özgü bir proteindir.

Fibronektin, adezyon ve migrasyonu yöneten, doku büyümesi ve tamirinde önemli rolü olan bir proteindir. Kırık iyileşmesinin her evresinde gözlenmesine rağmen, daha çok kallus hücrelerinde iyileşmenin erken dönemlerinde saptanmaktadır. Kırıkta matriksinde geçici fibrillerin oluşumundan sorumlu olduğu düşünülmektedir<sup>5,6</sup>.

#### **2.B.4.Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler sistemik ve lokal faktörler olarak ayrılabilir. İyileşmeyi geciktiren sistemik faktörler arasında en çok karşılaşılanlar diabetes mellitus, sigara kullanımı ve beslenme durumudur. Patofizyolojisi tam açıklanmamış olsa da diabetes mellitusun kollagen miktarını azaltarak kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği bilinmektedir. Sigaranın osteoblastik fonksiyonları olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca nikotin vazokonstriktif özelliği ile kırık bölgesinde kan akımının azalmasına neden olmaktadır. Az proteinle beslenen deney hayvanlarında osteoblastik aktivitenin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca

protein eksikliğinde, kırık sonrası erken dönemde kallus oluşumu da etkilenmektedir. Alkol ve aralarında steroidler, non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar, antikonvüsanlar, siprofloksasin ve anti-koagülanların sayılabileceği bazı ilaçların kullanılması da kırık iyileşmesini negatif yönde etkileyebilir. Yaş ve cinsiyet de kırık iyileşmesini etkileyen bireysel faktörler arasında sayılabilir<sup>10,11,12</sup>.

Kırık iyileşmesini engelleyen lokal nedenler arasında kemik ve çevresindeki yumuşak dokunun geniş bir alanda yaralanmaya uğraması, lokal kan akımının bozulması, kırık fragmanları arasına yumuşak doku interpozisyonu, yetersiz redüksiyon ve/veya immobilizasyon, radyasyon, termal veya kimyasal yanıklar, enfeksiyon gibi değişik nedenlerle oluşabilecek kemik ölümü sayılabilir<sup>5,12</sup>.

Femur boynu, skafoid ve talus boynu gibi, kanlanma veya mekanik özellikleri nedeni ile problemlili kırık iyileşmesine yatkınlıkları olan bölgeler vardır.

Kırık iyileşmesi biyolojik veya fiziksel olarak desteklenebilir. Biyolojik yöntemler, otojen kemik iliği ve osteoindüktif ve/veya osteokondüktif özelliğe sahip kemik greftleri olabileceği gibi, kondroprogenitor veya osteoprogenitor hücreleri stimüle eden peptid sinyal molekülleri de olabilir. TGF- $\beta$ , BMP, fibroblast büyüme faktörleri alfa ve beta (FGF- $\alpha$  ve  $\beta$ ) ve PDGF kırık iyileşmesinde yeri olan peptid sinyal molekülleridir. Ayrıca osteokondüktif özelliğe sahip seramik, biyoaktif cam ve sentetik polimerler de biyolojik yöntemler arasında sayılabilir<sup>5,12,13,14</sup>.

Kırık iyileşmesini destekleyen fiziksel yöntemler; darbeli elektromanyetik alan uygulaması, düşük yoğunlukta ultrason ve distraksiyon osteogenezidir<sup>12</sup>.

Kafa travmasının eşlik ettiği kırıklı vakalarda gözlenen artmış kallus dokusu ve hızlı kırık iyileşmesi, araştırmacıların aklına kırık iyileşmesinde bazı humoral faktörlerin de etkili olabileceğini getirmiştir. Bu klinik durumun moleküler açıklaması konusunda henüz bir fikir birliği olmasa da bazı sistemik faktörlerin kırık iyileşmesini güçlendirebileceği ihtimali gündeme gelmektedir. Bu sistemik faktörlerden biri IGF-1'dir. Hayvan çalışmalarında IGF-1'in intramembranöz kemik oluşumunu artırdığı saptanmıştır. IGF-1 sentezi büyüme hormonu (GH) bağımlıdır. Dolayısıyla GH'un da kırık iyileşmesini stimüle edebileceği akla gelmektedir. Bazı çalışmalar bu hipotezi destekleyen sonuçlar verirken bazılarında ise böyle bir etkiye rastlanmamıştır. IGF-2 iskelet büyüme faktörü

olarak bilinmektedir. Kemik hücresi proliferasyonunu ve kırıkta matris üretimini doz bağımlı olarak stimüle eder. Ayrıca tip-1 kollagen ve tip-1 prokollagen mRNA'yı stimüle eder. Sıçan çalışmalarında Paratiroid Hormon'un (PTH) kırık iyileşmesini güçlendirdiği saptanmıştır. PTH'un bu etkisi IGF-1 ve TGF- $\beta$  konsantrasyonlarını artırmaya bağlanmaktadır. Paratiroid Hormon Bağımlı Peptid'in (PTHrp) insan osteoblastlarında IL-6 üretimini artırarak kondrosit diferansiyasyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir<sup>13,15</sup>.

Kırık iyileşmesinin desteklenmesinde kullanılması gündeme gelebilecek diğer bir grup humoral faktör prostaglandinlerdir<sup>13</sup>.

## **2.C.Prostaglandinler ve Kemik Dokusu Üzerindeki Etkileri**

### **2.C.1.Prostaglandinler Hakkında Genel Bilgi**

Prostaglandinler, hemen bütün memeli dokularında bulunan, lokal hormon olarak görev yapan maddelerdir. Önemli fizyolojik ve farmakolojik aktiviteleri vardır. Yirmi karbonlu doymamış yağ asitlerinin merkez karbon zincirlerinin, siklopentan halkası oluşturmak üzere halkalaşması ile in vivo sentezlenirler. Tedavide kullanım alanları; gebelik önlenmesi, terminal gebelikte doğumun indüksiyonu, gebelik sonlandırılması, gastrik ülserlerin önlenmesi, enflamasyon ve kan basıncının kontrolü ve astım ve nasal konjesyon semptomlarının geriletilmesidir. Prostaglandinler trombositlerde, tiroid dokusunda, korpus luteumda, fetal kemikte, adenohipofizde ve akciğerde siklik adenozin monofosfatı (cAMP) artırırken, renal tübül hücrelerinde ve adipoz dokuda azaltır<sup>16</sup>.

Prostaglandinler kemik metabolizmasının güçlü ve çok fonksiyonlu düzenleyicileridir. Kemik dokusunun hem resorpsiyonunda hem de formasyonunda etkileri vardır. Prostaglandinlerin özellikle E serisinin kemik hücreleri aracılığı ile matris formasyonu ve rezorpsiyonunda önemli etkileri vardır. Prostaglandinler kemik hücreleri tarafından üretilirler, dolayısıyla lokal düzenleyici özelliklerine sahiptirler. Prostaglandinlerin kemik dokusunda üretildiği hücreler osteoblastlardır ve üretilmeleri otopregülasyonla düzenlenir. Prostaglandinler etkilerini hücre içi c-AMP düzeyini artırarak gerçekleştirirler<sup>17,18,19</sup>.

### **2.C.2.Mizoprostol**

Mizoprostol, prostaglandin E1'in metilli türevidir. Mide mukozasında mukus ve bikarbonat salgılanmasını artırır ve mide asit salgı bezlerini inhibe

ederek hidroklorik asit salgılanmasını inhibe eder. Ayrıca mukoza koruyucu etkisi de vardır. Mide ülseri riski yüksek olan hastalarda başka bir endikasyon için kullanılan non-steroid anti enflamatuar ilaçlarla birlikte, onların mide ülseri oluşturmasını önlemek için kullanılır. Analjezik amaçlı kullanılan söz konusu ilaçlar mide mukozasında koruyucu prostaglandinlerin sentezini inhibe ederler ve bunun sonucu olarak mukus ve bikarbonat salgısını azaltırlar. Mizoprostol verilmesi bu bozulmayı telafi eder. Böbrek transplantasyonu yapılanlarda böbrek dokusunu korur ve böbrek fonksiyonunu düzeltir. Ayrıca akut greft rejeksiyonu reaksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçların etkinliğini artırabilir. Miyometriumda kasılmaları arttırdığı için gebelerde düşüğe neden olur.

Mizoprostol oral yolla alındıktan sonra hızla emilir. Yarılanma ömrü 20-40 dakikadır. Ağızdan günde 4 kez 200 mikrogram dozunda kullanılır. En sık görülen yan etkisi diyaredir<sup>20</sup>.

### 3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.A.Araç ve Gereçler

##### 3.A.1.Deney Hayvanı

Kırık iyileşmesinin, hemen tüm memelilerde aynı biyolojik mekanizmalarla geliştiği ve ilaç etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda yada hücresel düzeyde incelemelerde kobay, sıçan yada fare modeli önerildiğinden, çalışmada kullanılacak denekler sıçan olarak belirlendi<sup>21,22,23</sup>.

Deneyde Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden alınan 54 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanların ortalama ağırlıkları 250 gram idi (200-310 gram). Her kafeste 10 denek barındırıldı. Deneklere herhangi bir işlem uygulanmadan iki hafta süre ile laboratuvar ortamına uyum sağlamaları beklendi. Deney süresince günde ortalama 30 gram standart yem ve sınırsız su ile beslenmeleri sağlandı. Gece-gündüz döngüsü 12 saat olarak ayarlandı. Kafes temizlikleri gūnaşırı yapıldı.

##### 3.A.2.Kırık Oluşturma Cihazı

Travma ve kırık tipinin standardizasyonu amacıyla, üç noktadan güç uygulanarak kırık oluşturma prensibine dayanan bir cihaz kullanıldı (Resim 1). Bu cihaz, referans alınan 'Einhorn Cihazı'na<sup>24</sup> benzer fakat giyotin sistemine monte edilmiş yayları bulunmayacak şekilde tarif üzerine bir demirci atölyesinde yaptırıldı.



Resim 1: Kırık oluşturma cihazı.



### 3.A.3.Mizoprostol Süspansiyonu

Mizoprostol kaynağı olarak bu etken maddenin piyasada çentikli tablet formunda mevcut olan Cytotec® (Searle-Ali Raif İlaç Sanayi,İstanbul) adlı preparatı kullanıldı. Tablet formülasyonundaki suda çözünmeyen eksipyanların varlığı göz önüne alınarak sıçanlara uygulanacak dozaj şeklinin süspansiyon olmasına karar verildi. Mizoprostol süspansiyonları, Cytotec® tabletlerinden hareketle üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Laboratuvarında hazırlandı.

Önce, yeter miktarda Cytotec® tablet porselen havanda havan eli ile ezilip toz haline getirildi. Daha sonra, 0.25 mikronluk elekten elenerek partikül boyutu disolüsyonu kolaylaştıracak boyuta getirildi. Toz haline getirilmiş olan tabletler, %0.02 etanol içeren distile suda süspande edilip 100 mililitrelik balon jode aynı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. Hazırlanan süspansiyon, bir huni yardımıyla temiz, kahverengi preparat şişesine aktarıldı. Etiketlenen stok preparat, daha sonra kullanılmak üzere oda ısısında muhafaza edildi. Çözücü olarak kullanılan distile suda mikroorganizma üreme olasılığı dikkate alınarak 2 günden eski süspansiyon uygulamada kullanılmadı.

Sıçanlara uygulanacak dozaj şekli süspansiyon olduğu için, gavaj enjektörüne süspansiyon çekilmeden önce stok preparat şişesi çalkalanıp çökmüş olan partiküllerin süspande hale gelmesi sağlandı.

### 3.A.4.Orogastrik Besleme Kanülü

Hazırlanan süspansiyonun orogastrik yoldan uygulanabilmesi için, 16 gauge intraket iğnesinin ucu küntleştirilip, uygun kavis sağlanacak şekilde büküldü ve metal bir kanül haline getirildi. Kat ettiği boşlukların çeperlerine zarar vermemesi için metal kanül, 1-2 milimetre daha uzun plastik bir kanül içine yerleştirildi. Metal kanül 5 mililitrelik enjektör ucuna takıldı (Resim 2). Plastik kanül yıprandıkça yenisi ile değiştirildi.



Resim 2: Orogastrik besleme kanülü.

### 3.B.Yöntem

#### 3.B.1.Kırık Oluşturulması

Sıçanlar, rastgele seçilen 18'er adetlik 3 gruba ayrıldı. Tüm deneklere aynı gün içinde 200 miligram/kilogram ketalar ile anestezi uygulandı. Anestezi sağlandıktan sonra, uygun saha temizliği ve örtülmesini takiben, sağ patellar tendon üzerinden perkütan olarak ilerletilen yeşil uçlu enjektör iğnesi, tibiaya intramedüller olarak yerleştirildi (Resim 3). Daha sonra, kırık oluşturma cihazının paralel plakları üzerine alınan bacak, diafizer kırık oluşturacak şekilde yerleştirildi. 300 gram ağırlığındaki metal disk, 30 santimetre yükseklikten serbest bırakıldı (Resim 4,5). Kırığın varlığı elle kontrol edildi. İntramedüller yerleştirilmiş olan enjektör iğnesi çıkartıldı. Kırık bacaklara herhangi bir tespit cihazı uygulanmadı.



Resim 3: Kırık öncesi intramedüller hazırlık.



Resim 4: Üç nokta sistemi – kırık öncesi.



Resim 5: Üç nokta sistemi – kırık sonrası.

### 3.B.2.Mizoprostol Uygulanması

Kırık oluşturulan 3 gruptan birine (3. grup) hiçbir ilaç verilmedi. Diğer 2 gruba uygulanacak mizoprostol dozu, literatürde sıçan çalışmalarında kullanılan dozlar referans alınarak belirlendi<sup>25,26</sup>. İlaç uygulanan iki gruptan birine (1. grup) 100 mikrogram/kilogram, diğerine (2. grup) 300 mikrogram/kilogram mizoprostol verilmesi planlanarak, 1. gruba 1.2 ml, 2. gruba ise 5 ml süspansiyon uygulandı. Ön denemelerimizin ışığında, 2. gruptaki sıçanlara süspansiyon uygulaması, muhtemel bir hipervolemiyi önlemek amacıyla 10-15 dakikalık intervallerle 2 defada (3 ve 2 ml) yapıldı. Günlük sıvı alımının 10 ml olduğu göz önüne alınarak bu ayarlama yapıldı. Her uygulama öncesi sıçanlar tek tek tartılarak uygulanacak doz vücut ağırlığı üzerinden hesaplandı (yukarıda verilen mililitre değerleri ortalama değerlerdir). Çalışma süresince hayvanların vücut ağırlığında ilaç uygulamasına bağlı bir değişiklik olup olmadığı da böylece kontrol edilmiş oldu. İlaç 4 hafta boyunca her gün, günde 1 defa orogastrik yolla uygulandı (Resim 6). İlk gün, ilaç verilmesi için, sıçanların ketalar anestezisinin etkisinden çıkmaları beklendi.

Orogastrik besleme komplikasyonu ve ilaç yan etkileri olarak, solunum güçlüğü, hemoptizi, diyare ve kilo kaybı açısından takip yapıldı.



Resim 6: Orogastrik besleme.

### 3.B.3.Radyografik İnceleme

Radyografik inceleme 1,2 ve 4. haftalarda yapıldı. Radyografiler, Radyoloji Anabilim Dalı mamografi cihazı kullanılarak elde edildi. Birinci haftada histolojik inceleme planlanmadığı için 1. ve 2. gruptan 6'şar adet, 3. gruptan 7 adet rastgele seçilen sıçanın ketalar ile sedasyonu sağlandıktan sonra mamografi cihazı ile sağ tibialarının anteroposterior ve lateral grafileri çekildi. İkinci haftada 1. gruptan 7, 2. gruptan 9, 3. gruptan 9 sıçanın, dördüncü haftada 1. gruptan 6, 2. gruptan 8, 3. gruptan 9 adet sıçanın kırık tibiaları görüntülendi. İkinci ve dördüncü haftalardaki radyolojik çalışmalarda, bu haftalarda histolojik değerlendirme için disseke edilen tibiaların radyografilerine ek olarak, rastgele seçilip sedatize edilen sıçanlara ait radyografiler kullanıldı.

Radyografik görüntüler, Radyoloji öğretim üyelerinden bir uzman ve Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı öğretim elemanlarından bir asistan tarafından tek kör olarak değerlendirildi. Puanlama, Lane ve Sandhu'nun<sup>27</sup> tarif ettiği radyolojik puanlama sistemi kullanılarak yapıldı (Tablo 1).

Tablo 1: Lane ve Sandhu'nun tarif ettiği radyolojik puanlama sistemi.

PUAN	RADYOLOJİK BULGULAR
0	İyileşme yok
1	Kallus oluşumu
2	Kemiksel kaynama başlangıcı
3	Kırık hattının kaybolmaya başlaması
4	Tam kemiksel kaynama

Kırık tiplendirilmesi 1,2 ve 4. haftalarda elde edilen grafilerde yapıldı.

### **3.B.4.Histolojik İnceleme**

Histolojik inceleme 2. ve 4. haftalarda yapıldı. 2. haftada 1. gruptan 7, 2. gruptan 5, 3. gruptan 8 sıçan, 4. haftada 1. gruptan 6, 2. gruptan 8, 3. gruptan 8 sıçan histolojik çalışma için kullanıldı. Ketalar anestezisini takiben sağ tibialar, kırık kaynama bölgesi ve periostları ile birlikte, çevrelerindeki kas ve yumuşak dokulardan diseke edildi. Diz ve ayak bileğinden kesiler yapılarak diseksiyon tamamlandı (Resim 7).



Resim 7: Dördüncü haftada kırık tibia diseksiyonu.

Sakrifiye edilen sıçanlardan alınan dokular %10'luk formol-salin solüsyonunda 48 saat diseke edildi, daha sonra dekalsifikasyon işlemi için %5'lik nitrik aside alındı. Günlük olarak kemik sertliği kontrol edilip nitrik asit değiştirildi, 4 günlük dekalsifikasyon işleminden sonra dokular akar suda 2 saat yıkandı ve rutin doku takip işlemine alındı. Artan derecede (%70, %80, %90, %96 ) alkol serileri ve ksilolden geçirilen dokular parafine longitudinal olarak gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin eosin ve toluidin mavisi ile boyandı. Işık mikroskobu ile tek kör olarak kırık uçları arasında oluşan kallus formasyonu; fibröz doku, kırık dokusu, matür ve immatür kemik dokunun nispi miktarlarına göre Huo ve arkadaşları<sup>28</sup> tarafından belirtilen kırık iyileşmesinde kullanılan puanlama sistemi modifiye edilerek derecelendi (Tablo 2).

Sıçanların sakrifikasyonu için kardiyak ponksiyon yöntemi kullanıldı<sup>29</sup>.

Tablo 2: Kırık iyileşmesinin histolojik puanlanmasında kullanıldığımız sistem: Huo ve arkadaşlarının tarif ettiği sistemin modifiye edilmiş hali.

<b>PUAN</b>	<b>İYİLEŞME BÖLGESİNİN HİSTOLOJİK BULGULARI</b>
<b>1</b>	<b>Kallus tamamen fibröz dokudan oluşmakta</b>
<b>2</b>	<b>Ağırlıklı olarak fibröz dokudan oluşmakta</b>
<b>3</b>	<b>Eşit miktarda fibröz ve kıkırdak dokudan oluşmakta</b>
<b>4</b>	<b>Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda fibröz dokudan oluşmakta</b>
<b>5</b>	<b>Tamamen kıkırdak dokudan oluşmakta</b>
<b>6</b>	<b>Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür kemik dokudan oluşmakta</b>
<b>7</b>	<b>Eşit miktarda kıkırdak ve az miktarda immatür kemik dokudan oluşmakta</b>
<b>8</b>	<b>Ağırlıklı olarak immatür kemik ve az miktarda kıkırdak dokudan oluşmakta</b>
<b>9</b>	<b>Kırık uçlarının immatür kemik ile birleşmesi ve az miktarda kıkırdak doku olması</b>
<b>10</b>	<b>İmmatür kemik ile iyileşme</b>
<b>11</b>	<b>Lameller kemik ile tam olmayan iyileşme</b>
<b>12</b>	<b>Lameller matür kemik ile tam iyileşme</b>

### **3.B.5.İstatistiksel Analiz**

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizleri, SPSS 10.0, Statistica 6 ve MiniTab paket programları kullanılarak yapıldı. Her çalışma haftasına ait radyografik puanların karşılaştırılması, kırık tipi ile verilen radyolojik puan arasındaki ilişkinin test edilmesi ve grupların radyografik puanlarının haftalar arasındaki değişiminin test edilmesi için Ki-Kare testi kullanıldı. Yine her çalışma haftasına ait histolojik puanların karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Histolojik puanların haftalar arasındaki değişiminin test edilmesi için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Karşılaştırmalar, anlamlılık seviyesi  $\alpha=0,05$  olacak şekilde yapıldı.

## 4. BULGULAR

Deney sonunda sıçanların ortalama ağırlıkları 260 (210-315) gram idi. Deney süresince birinci gruptan 5, ikinci gruptan 5, üçüncü gruptan 2 sıçan eksitus oldu. Deney sonlanmadan eksitus olan sıçanların 8'inde eksitus öncesinde hemoptizi ve solunum güçlüğü vardı, bu deneklerde orogastrik besleme komplikasyonu olduğu düşünöldü. Deney süresince 8 sıçanda diyare gözlendi. Bunların tümü mizoprostol verilen gruplarda idi ve 1-2 gün içinde kendiliğinden geriledi.

### 4.A.Radyolojik Bulgular

Birinci hafta radyolojik incelemesinde, tüm kırıkların, her iki planda değışen derecelerde açıldığı ve/veya kırık uçlarının üst üste bindiğı gözlendi. Kırıkların 3'ü transvers, 10'u oblik, 6'sı parçalı idi. Kırıkların hiçbirinin kallus dokusu radyolojik olarak gözlenmemekteydi. Tümünün radyolojik puanu 0 olarak değerlendirildi.

İkinci hafta radyolojik incelemesinde, kırıkların 8'i transvers, 6'sı oblik, 11'i parçalı idi. Kırık tipi ile verilen puanlar arasında bir ilişki yoktu ( $p=0,687$ ). Kırıkların bir kısmında hiç iyileşme dokusu gözlenmezken, geri kalanında değışik miktarlarda iyileşme dokusu vardı (Resim 8,9). Birinci gruptan (100mcg/kg mizoprostol) 2 (2/7), ikinci gruptan (300mcg/kg mizoprostol) 1 (1/9), üçüncü gruptan (kontrol) 4 (4/9) kırıkta radyolojik olarak iyileşme dokusu gözlenmemekteydi (Tablo 3). İyileşme dokusu gözlenmeme oranları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Birinci, ikinci ve üçüncü grubun radyolojik puanları arasında anlamlı fark yoktu ( $p=0,270$ ).



Resim 8: İkinci haftada iyileşme dokusu gözlenen radyografi örneği.



Resim 9: İkinci haftada kırık iyileşme bulgusunun gözlenmediği radyografi örneği.



Tablo 3: İkinci hafta radyografilerinde kallus gözlenmeyen kırık sayısının gruplara göre dağılımı.

1. GRUP (100mcg/kg mizoprostol), n=7	2
2. GRUP (300mcg/kg mizoprostol), n=9	1
3. GRUP (kontrol), n=9	4

Dördüncü hafta radyolojik incelemesinde, kırıkların 8'i transvers, 11'i oblik, 4'ü parçalı idi. Kırık tipi ile verilen puanlar arasında bir ilişki yoktu ( $p=0,220$ ). İyileşme dokusu gözlenmeyen kırık yoktu. Bazı radyografilerde, yeniden şekillenmenin göstergesi olarak, kırık hattının kaybolmaya başladığı gözlenmekteydi (Resim 10). Birinci gruptan 3 (3/6), ikinci gruptan 2 (2/8), üçüncü gruptan 1 (1/9) grafide kırık hattı kaybolmaya başlamıştı (Tablo 4). Yeniden şekillenmenin başlaması oranları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Birinci, ikinci ve üçüncü grubun radyolojik puanları arasında anlamlı fark yoktu ( $p=0,280$ ).



Resim 10: Dördüncü haftada kırık hattının kaybolmaya başladığı radyografi örneği.

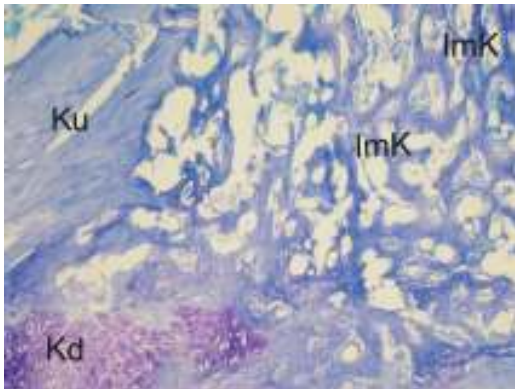
Tablo 4: Dördüncü hafta radyografilerinde yeniden şekillenmenin başladığı kırık sayısının gruplara göre dağılımı.

1. GRUP (100mcg/kg mizoprostol), n=6	3
2. GRUP (300mcg/kg mizoprostol), n=8	2
3. GRUP (kontrol), n=9	1

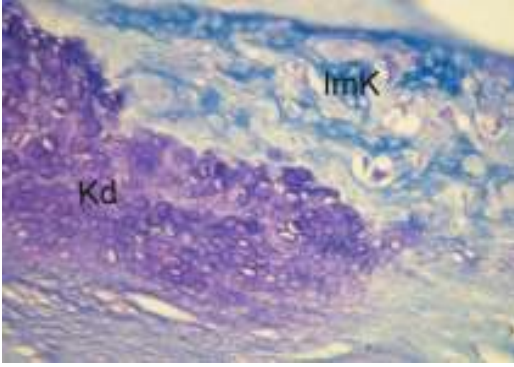
İkinci ve üçüncü grupların 2. ve 4. haftalardaki puanları arasında anlamlı bir iyileşme varken (sırasıyla  $p=0,001$ ,  $p=0,019$ ), birinci grubun 2. ve 4. hafta puanları arasında bir fark saptanmadı ( $p=0,057$ ).

#### 4.B.Histolojik Bulgular

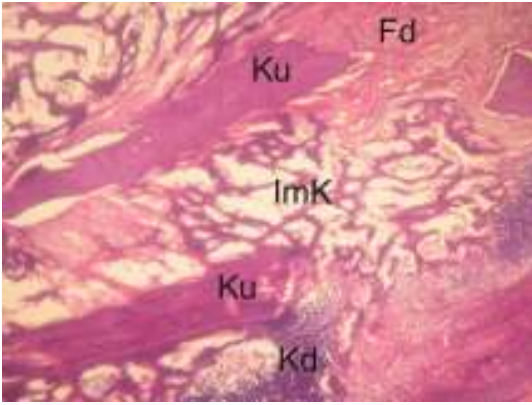
İki haftalık deney ve kontrol gruplarında kırık bölgesindeki kallusta; bazı alanlarda sıklıkla fibroblast ve düzensiz kollagen liflerden oluşan fibröz doku, diğerlerinde yer yer trabeküler yapıda immatür kemikleşme alanları ve bazı bölgelerde ise immatür kemik dokusuna göre daha geniş kırıkta adacıkları görüldü (Resim 11,13,15). Kırıkta dokudaki kondrosit hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofi saptanırken, kırıkta doku periferinde kalsifiye olan matris ve immatür kemik oluşumu gözlemlendi (Resim 12). Kırıkta kallusta kemikleşmenin başladığı bazı bölgelerde damarlanma artışı ve yer yer kemikleşme alanları saptandı (Resim 14).



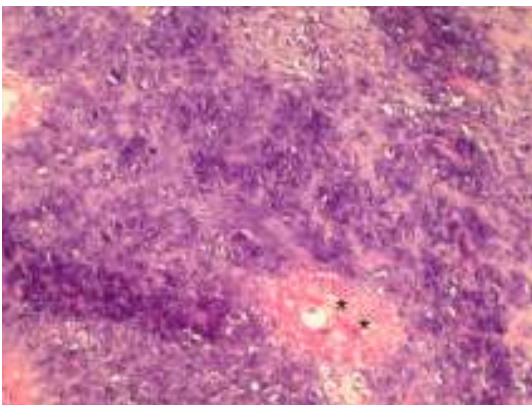
Resim 11: İkinci hafta kontrol grubunda, kırık bölgesinde kırık ucu (Ku), bol miktarda immatür kemik (İmK) ve az miktarda kırıkta doku (Kd). (Toluidin Mavisi x 100)



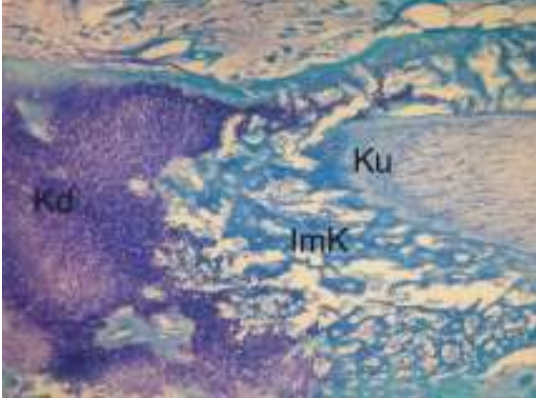
Resim 12: Aynı grupta, daha büyük büyütmede, kıkırdak doku (Kd) ve yeni gelişen immatür kemik (İmK) alanları. (Toluidin Mavisini x 200)



Resim 13: İkinci hafta düşük doz grubunda; kırık uçları (Ku), çok miktarda fibröz doku (Fd) ile daha az oranda kıkırdak (Kd) ve immatür kemik (İmK) dokusu. (Hematoksilen Eozin x 40)

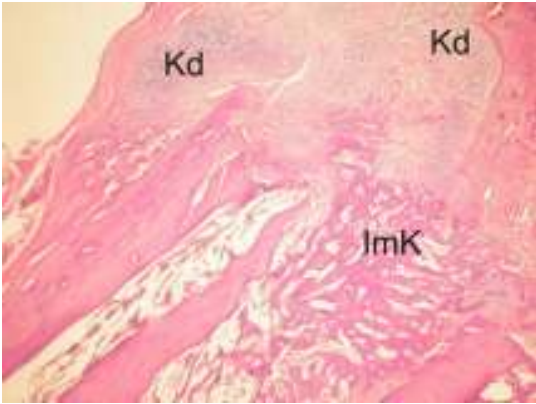


Resim 14: Aynı grupta, kıkırdak kallus içinde yer yer kemikleşme alanları (\*) (Hematoksilen Eozin x 100)

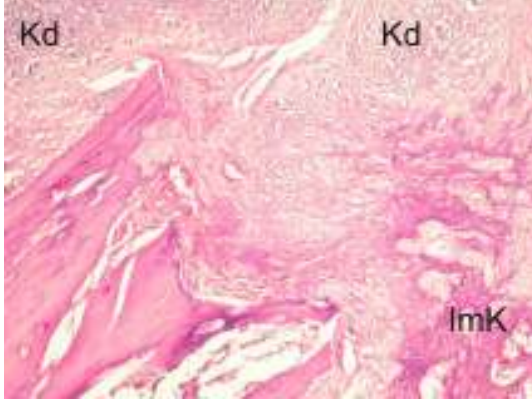


Resim 15: Aynı grupta, kırık ucu (Ku) ile birlikte çok miktarda kıkırdak doku (Kd) ve az miktarda immatür kemikten (İmK) oluşan kallus dokusu. (Toluidin Mavisi x 40)

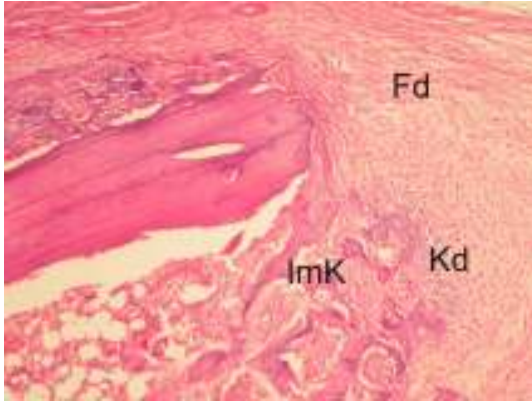
Bazı deneklerde subperiostal bölgede kıkırdak dokunun arttığı, bazılarında ise kırık uçlarının immatür kemik dokusu ile iyileştiği gözlemlendi (Resim 16,17,18).



Resim 16: İkinci hafta yüksek doz grubunda; kırık uçlarının arasında eşit miktarda kıkırdak (Kd) ve immatür kemik (İmK) dokusu. (Hematoksilen Eozin x 40)

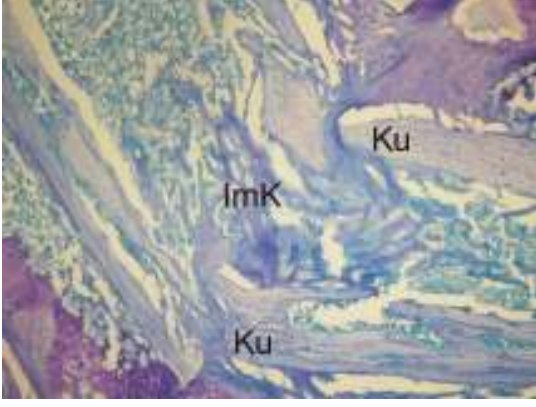


Resim 17: Resim 16'daki alanın daha büyük büyütmedeki mikrografında, kırıkta (Kd) ve immatür kemik (İmK) dokuları. (Hematoksilen Eozin x 100)

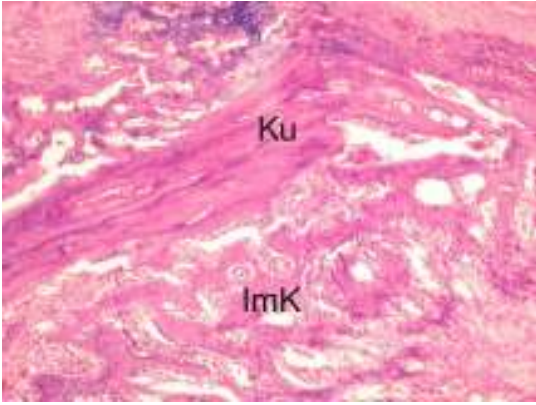


Resim 18: Aynı grupta, kırık bölgesinde fibröz doku (Fd), kırıkta (Kd) ve immatür kemik (İmK) dokuları. (Hematoksilen Eozin x 100)

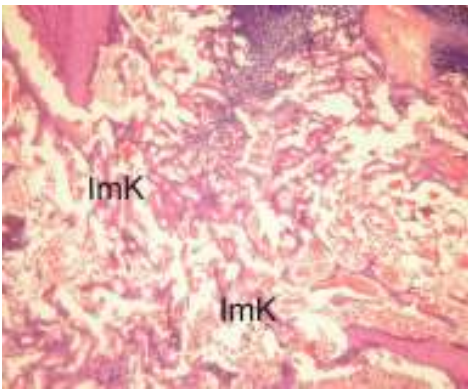
Dört haftalık deney ve kontrol gruplarında; kırık kallusunda fibröz dokunun belirgin olarak azaldığı ve kırık uçları arasındaki alanın kırıkta dokusu yerine, ağırlıklı olarak trabeküler yapıda immatür kemik dokusu ile dolduğu gözlemlendi (Resim 19,20,21). Bazı deneklerde, trabeküler yapıdaki immatür kemik dokusunun kalınlaşmaya başladığı ve lameller kemik yapısını oluşturduğu belirlendi (Resim 22,23,24).



Resim 19: Dört hafta kontrol grubunda, kırık uçlarında (Ku), immatür kemikle (İmK) tam olmayan iyileşme. (Toluidin Mavisini x 40)

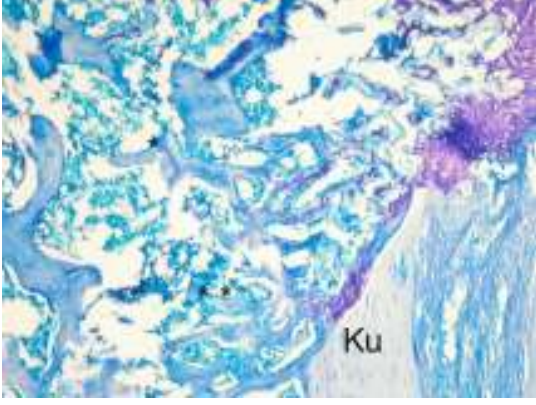


Resim 20: Aynı bölgenin daha büyük mikrografında, kırık ucu (Ku) ve immatür kemik (İmK) (Hematoksilen Eozin x 100)

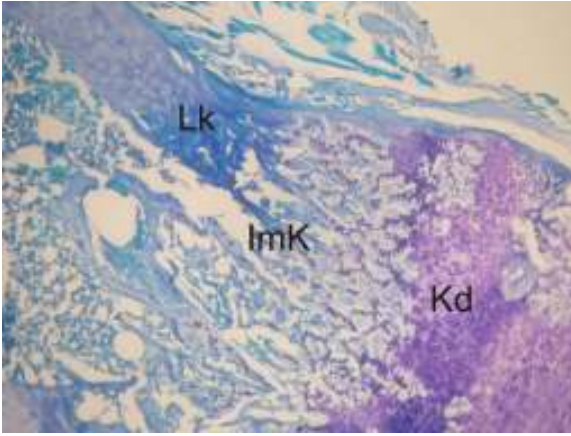


Resim 21: Dört hafta düşük doz grubunda, kırık bölgesini dolduran immatür kemik (İmK). (Hematoksilen Eozin x 40)

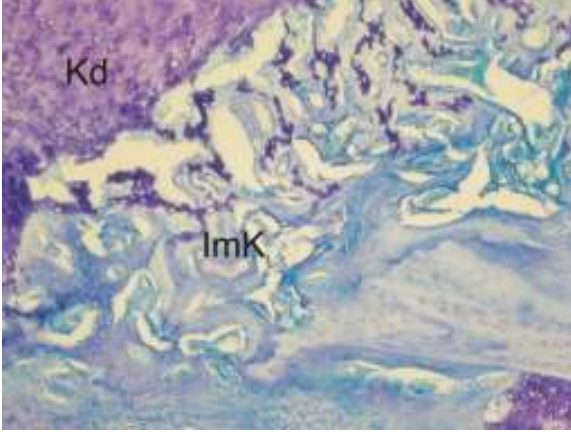




Resim 22: Aynı grupta, kırık ucu (Ku) ve kırıldak matriksi üzerinde immatür kemik oluşumu (\*). (Toluidin Mavisi x 40)



Resim 23: Dört hafta yüksek doz grubunda, kırık bölgesinde kırıldak doku (Kd), onun üzerinde yerleşen immatür kemik dokusu (İmK) ve az miktarda lameller kemik (Lk). (Toluidin Mavisi x 40)



Resim 24: Aynı grupta daha büyük mikrografta, kıkırdak dokusu (Kd) ve onun matriksi üzerinde yapılanan immatür kemik dokusu (İmK). (Toluidin Mavisini x 100)

İkinci ve dördüncü haftalardaki histolojik puanlar incelendiğinde, her üç grubun da kendi içinde birbirinden farklı birçok değer aldığı gözlemlendi (Tablo 5,6). Histolojik puanlar karşılaştırıldığında gruplar arasında, her iki inceleme haftasında da fark saptanmadı (ikinci hafta için  $p=0,185$ , dördüncü hafta için  $p=0,796$ ). Grupların 2. haftada aldıkları puanlarla 4. haftada aldıkları puanlar karşılaştırıldığında birinci ve üçüncü gruplarda anlamlı bir iyileşme varken (sırasıyla  $p=0,014$ ,  $p=0,038$ ), ikinci grupta anlamlı fark yoktu ( $p=0,262$ ).



Tablo 5: İkinci haftada gruplara göre verilen puanların frekansları.

	Puan	Frekans
1.grup (100mcg/kg mizoprostol)	2	1
	3	1
	4	1
	6	3
	1	1
2.grup (300mcg/kg mizoprostol)	4	1
	6	1
	7	1
	8	1
	11	1
3.grup (kontrol)	6	5
	7	1
	9	1
	11	1

Tablo 6: Dördüncü haftada gruplara göre verilen puanların frekansları.

	Puan	Frekans
1.grup (100mcg/kg mizoprostol)	7	2
	8	1
	9	1
	10	1
	11	1
2.grup (300mcg/kg mizoprostol)	7	3
	8	1
	9	3
	11	1
3.grup (kontrol)	7	1
	8	3
	9	2
	11	2

## 5. TARTIŞMA

Kırık iyileşmesi konusunda yapılan klinik ve deneysel çalışmalar literatürde yoğun olarak yer almaktadır. Bu yoğunluk, teknolojik ilerlemenin paralelliğinde gelişiyor olmasının yanı sıra, problemlili kırık tiplerinin daha az morbiditeyle iyileşmesinin sağlanması amacını güden çalışmaların devam etmesinden kaynaklanmaktadır. Kırık iyileşmesinin daha az problem ile ve daha hızlı elde edilebilmesi, ekonomik bir sağlık hizmeti sağlanabilmesi açısından da önemlidir. Kırık iyileşmesinin desteklenmesini sağlayan faktörlerin anlaşılması amacıyla, kırık iyileşmesinin mekanik ve biyolojik etkenlere cevabını araştıran birçok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Bu çalışmanın da amacı, kemik döngüsü üzerinde etkisi olduğu bilinen prostaglandin grubu mediatörlerden, prostaglandin E1'in sentetik analogu olan mizoprosotolün kırık iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Prostaglandinlerin kemik döngüsüne etkisini araştıran ilk in vitro çalışmalarda resorbtif etkiler ön plana çıkmaktadır<sup>30</sup>. Bu etkilerinin osteoklast oluşumunun artmasıyla paralellik gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca prostaglandin sentezini sağlayan siklo-oksijenaz-2 enziminden genetik olarak arındırılmış farelerde osteoklastogenezin azaldığı saptanmıştır<sup>31</sup>.

Kemik dokusunun patolojik resorpsiyonunda da prostaglandinlerin rolü bulunmaktadır. Lokal kemik kaybı yapan kistik lezyonların yüksek oranda prostaglandin içerdikleri saptanmıştır<sup>32</sup>. Kemikte lizis yapan tümörlerin kültür hücrelerinde yüksek oranda prostaglandin E tespit edilmiştir<sup>33</sup>. Eklem protezlerini çevreleyen resorpsiyon alanlarına yakın reaktif dokuların içinde yüksek oranda prostaglandinlere rastlanmıştır<sup>34</sup>. Bizim çalışmamızın radyolojik ve histolojik incelemesinde, gözle görülür bir rezorbtif etkiyle karşılaşılmiştir.

İlk defa 1970'lerde, prostaglandinlerin kemik formasyonuna katkılarını destekleyen çalışmalar gündeme gelmiştir. Bu tarihlerde kalça cerrahisi geçiren hastalara uygulanan, prostaglandin sentez inhibisyonu yapan indometazin tedavisi ile ektopik kemik gelişiminin daha az olduğu saptanmıştır<sup>35</sup>. İndometazin uygulamasının ektopik kemik gelişimini inhibe ettiği daha sonradan da deneysel olarak gösterilmiştir<sup>36</sup>. Klinik gözlemlerde, prostaglandinlerin kemik formasyonuna direkt etkisinin kanıtı olarak göze çarpan bir durum da konjenital siyanotik kalp hastalığı olan yenidoğanlara patent duktus arteriozusun

devamlılığının sağlanması için uygulanan prostaglandin E1 tedavisinin bir komplikasyonu olarak periosteal yeni kemik oluşumunun gözlenmesidir<sup>37,38,39,40</sup>.

İn vivo ortamda, prostaglandin etkilerinin osteogenez lehine olduğu gözlemlendikten sonra in vitro çalışmalarda, kemik resorpsiyonuna neden olan dozlarından daha düşük dozlarda prostaglandin uygulanmasıyla kemik formasyonunun stimüle edildiği gözlenmiştir<sup>41,42</sup>. Yine in vitro ortamda prostaglandin E'nin artırdığı kemik formasyonuna, IGF-1 yüksekliğinin de eşlik ettiği gözlenmiştir ki IGF-1'in kemik dokuda anabolik bir ajan olduğu bilinmektedir<sup>43,44</sup>.

Erişkin köpeklere oral yolla uygulanan prostaglandin E2'nin periosteal kemik oluşumunu ve intrakortikal yeniden şekillenmeyi artırdığı gözlenmiştir. Yeniden şekillenme hızlanmasının net etkisi olarak artmış kemik dokusu ile karşılaşılmıştır<sup>45,46</sup>. Yine oral yolla prostaglandin E2 uygulanan sıçanlarda metafizer ve kortikal kemik kütlesinin arttığı gözlenmiştir<sup>47,48</sup>.

Marks ve Miller<sup>49</sup>, köpek alveolar kemiğine implante ettikleri ozmotik mini pompa aracılığıyla lokal uyguladıkları prostaglandin E1 ile lamellar yeni kemik oluşumu gözlemişlerdir. Prostaglandin E2'nin kemik kütlesini artırma mekanizması olarak osteojenik öncül hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunun artması gösterilmiştir<sup>50</sup>. Başka bir çalışmada, prostaglandin E1'in osteogenezini güçlendirmesi, TGF- $\beta$ 1 seviyelerinin yükselmesine bağlanmıştır<sup>51</sup>. Prostaglandin E1 sentetik analogu olan mizoprostolün, overektomize sıçanların kemik kaybını engellediği saptanmıştır<sup>25</sup>. Raisz ve Woodiel'in<sup>52</sup> çalışmasında mizoprostolün, daha az potent bir madde olmasına rağmen, kemik rezorpsiyonu ve formasyonunda prostaglandin E2 ile benzer etkisi olduğu gösterilmiştir. Buluç ve arkadaşlarının<sup>53</sup> çalışmasında mizoprostolün, prostaglandin E2 ve siklo-oksijenaz-2 proteinini arttırdığı gözlenmiştir. Çalışmamızın amacı, mizoprostolün kırık iyileşmesine etkisinin araştırılması olduğundan, kemik döngüsünün değerlendirilmesine yönelik, sağlam kemik örnekleri üzerinde değerlendirme yapılmamıştır.

Sistemik veya lokal uygulanan prostaglandinlerin kırık iyileşmesine etkileri deneysel modellerde araştırılmıştır. Kırık bölgesinde prostaglandin E konsantrasyonunun artmış olduğunun saptanması, prostaglandinlerin kemiğin yeniden şekillenmesi ve kallus dokusunun oluşmasını sağlayan osteojenik öncü hücrelerin farklılaşma ve proliferasyonuna katkıda bulunuyor olabileceğini akla

getirmiştir<sup>54,55</sup>. Köpek kostasında oluşturulan defektif kırık sonrası oral yolla prostaglandin E2 uygulamasının periosteal ve endokortikal kemik oluşumunu artırdığı ve intrakortikal yeniden şekillenmeyi hızlandırdığı gözlenmiştir<sup>55</sup>. Kemikte oluşturulan defekt alanına uygulanan lokal prostaglandin E1'in periosteal kemik oluşumunu artırdığı gözlenmiştir<sup>56</sup>. Defekt çevresinde kemik formasyonunun arttığı gözlenmesine rağmen, defekt iyileşmesinin Shih ve Norrdin'in<sup>57</sup> çalışmasında geciktiği, High'ın<sup>58</sup> çalışmasında hızlandığı göze çarpmaktadır. Prostaglandin E2'nin EP2 reseptörüne spesifik bir agonisti ile, oluşturulan kemik defektinde anlamlı bir iyileşme sağlanmıştır<sup>59</sup>.

Prostaglandin E2'nin kallus formasyonuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada doz bağımlı stimülasyon saptanmış, toplam kemik mineral içeriğinde artış, kallus dokusunun birim hacmindeki mineral içeriğinde azalma saptanmıştır<sup>60</sup>.

Dekel ve arkadaşlarının<sup>54</sup> çalışmasında kırık çevresi dokularda prostaglandin miktarında artış saptanmış ve prostaglandinlerin hücre farklılaşması ve yeniden şekillenmede etkili olabileceği düşünülmüştür. Kırık iyileşmesinin, kırık stabilitesiyle olan ilişkisini araştıran çalışmalar, tespit uygulanmayan kırıkların, daha çok kırık çevresi periost ve yumuşak dokularda başlayan yoğun bir enflamasyon ve mezenşimal hücre farklılaşması ile iyileşme sürecine girdiğini ortaya koymaktadır. Bu bilgiler ışığında biz de kırık tibialara tespit uygulamayarak, endojen prostaglandinlerin düşünülen etkisini oral yolla verdiğimiz mizoprostolün destekleyeceğini varsayıp çalışmamızı planladık. Literatürde prostaglandinlerin kırık iyileşmesine etkisini araştırırken ilacın hedef dokuya lokal uygulama ile ulaştırıldığı yayınlar da mevcuttur<sup>9,56,57</sup>. Bizim çalışmamızda oral yolla uygulamayı seçmemizin nedeni, Shih ve Norrdin'in<sup>56</sup> de çalışmasında belirtildiği gibi, lokal uygulama ile oluşacak fiziksel stresin prostaglandin sentezini artıracığı ve enjekte edilen maddenin biokimyasal etkisinin maskelenebileceği kaygısıdır.

Literatürde prostaglandinlerin kemik döngüsü ve kırık iyileşmesi üzerindeki etkilerinin hangi mekanizmalarla gerçekleştiğine dair çalışmalar mevcuttur. Jee ve arkadaşları<sup>61</sup>, 21 gün süreyle sıçanlara subkütanöz prostaglandin E2 uygulayıp, metafizer kemik ağırlığının hangi mekanizma ile arttığı konusunda bir deneysel çalışma yapmışlar ve osteoklast sayısının azalması suretiyle rezorbsiyonun azaldığı, osteoblast/osteoklast oranının

osteoblastlar lehine belirginleştirdiği ve kırmızı kemik iliğindeki osteoblast öncü hücrelerinin diferansiyasyonunun stimule olmasıyla daha çok osteoblast oluşup bunun da yeni kemik adacığın oluşumuna katkıda bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Weinreb ve arkadaşları<sup>62</sup>, yine prostaglandin E2'nin hangi mekanizma ile kemik kütlesini arttırdığını sıçanlarda yaptıkları bir deneysel çalışma ile araştırmış ve sonuç olarak, prostaglandin E2'nin mevcut osteoblastların aktivitelerinin artmasından çok, kemik iliğindeki öncü hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını artırarak bunu sağladığını ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada prostaglandin E2'nin alkalen fosfataz enzim aktivitesini de arttırdığı saptanmıştır. Shih ve Norddin'in<sup>9</sup> köpek kotasında kırık oluşturarak lokal prostaglandin E1 uyguladıkları çalışmada, histomorfometrik ölçümlerde, osteoid oluşumunun arttığı gözlenmiş ve kırık tarafından uyarılan bölgesel hızlanma fenomeninin (RAP) belirginleşerek yeniden şekillenmeyi desteklediği saptanmıştır. Aynı çalışmada, prostaglandin E'nin, kırık iyileşmesinin önemli bir komponenti olan neovaskülarizasyona olan katkısına da değinilmiştir. Ono ve arkadaşları<sup>63</sup>, rekombinant insan kemik morfojenik proteini (rhBMP) içeren hidroksiapatit seramiklerin osteoindüktif etkilerinin prostaglandin E1 ile arttırılabileceğini, prostaglandin E1'in bu taşıyıcılara ayrıca osteokodüksiyon özelliği kazandırdığını bildirmişlerdir. Prostaglandin E1'in bu etkisinin IL-6 ve TGF- $\beta$  üzerinden gerçekleşiyor olabileceğine kanaat getirmişlerdir.

Kırık iyileşmesi üzerine çalışma yapılırken, iyileşmeyi etkileyebilecek bir faktör olan kırık tipi standart olmalıdır. Bu amaçla çalışmamızda, Einhorn<sup>24</sup> tekniğine benzer bir teknikle, kırıklar oluşturuldu. Orijinal teknik kullanılarak elde edilen kırık tipinin büyük oranda transvers veya oblik olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da elde edilen kırık tiplerinin daha çok transvers veya oblik olduğu gözlemlendi. Her ne kadar parçalı kırık tipiyle karşılaşmış olsak da istatistiksel analizde, kırık tipi ile radyolojik puanlar arasında anlamlı ilişki ortaya çıkmamıştır. Parçalı kırıkla karşılaşma sebebi olarak, giyotin sisteminde geri tepme kuvvetini oluşturacak yayların monte edilmemiş olmasını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, ikinci hafta radyografik incelemelerde kırıkların çoğunda literatürle uyumlu olarak kalsifiye kallus dokusu gözükmemekte idi<sup>64,65,66</sup>. Bununla beraber, istatistiksel bir anlam taşımasa da, kalsifiye kallus dokusu gözlenmeyen kırık sayısı ilaç verilmeyen grupta daha fazla idi (Tablo III). Bilindiği üzere, hipertrofik kondrositlerin matriks veziküllerinin tetiklediği kırık

kalsifikasyonu, kırık iyileşme bölgesinin vaskülarizasyonuna ön ayak olmakta ve bu da osteoblast öncü hücrelerinin bölgeye gelerek diferansiye olmasını başlatmaktadır. Mizoprostol verilen kırık gruplarında mineralizasyonun daha belirgin gözlenmesi, kondrositlerin rezorbe olup osteoblastogeneze zemin hazırlayan anjiogenez mekanizmasının daha hızlı gerçekleşiyor olabileceğini düşündürmektedir. Dördüncü hafta radyografik incelemelerinde de, kırıkların çoğunda literatürle uyumlu olarak yeni oluşan kemik dokusu kırık hattının karşı tarafına köprü yapmış durumdaydı<sup>64,65,66</sup>. Yeniden şekillenmenin bir göstergesi olan kırık hattının kaybolmaya başladığı kırık sayısı, istatistiksel anlamlılığı olmasa da, ilaç verilen gruplarda daha fazla idi (Tablo IV). Mizoprostol verilen gruplarda radyolojik olarak, mineralizasyonun ve yeniden şekillenmenin daha hızlı ortaya çıkması, Shih ve Norddin'in<sup>9</sup> çıkarımlarında olduğu gibi daha belirgin bir bölgesel hızlanma fenomeninin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır ve iyileşmenin daha erken safhalarında, daha fazla miktarda iyileşme dokusu ile karşılaşmamıza olanak sağlamıştır.

Histolojik bulgular, bilinen normal kırık iyileşmesi safhalarında karşılaşılandan farklı değildi<sup>5,6,67,68</sup>. İkinci haftada mezenşimal dokunun büyük bir kısmı yerini kalsifiye kırık ve birincil kemik dokusuna bırakmış gözüküyordu. Dördüncü haftada ise kırık dokusu yerini daha çok birincil kemik dokusu olmak üzere bazı kesitlerde lamellar kemik dokusuna bırakmıştı. Histolojik bulgular ve aldıkları histolojik puanlar karşılaştırıldığı zaman, kontrol grubu ile ilaç verilen gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulmadık. Verilen histolojik puanlar incelendiğinde, her iki inceleme haftasında da, tüm grupların kendi içlerinde birbirinden farklı birçok değer aldığı göze çarpmaktadır (Tablo V, VI). Ortaya çıkan bu farklı değerlerin nedeni olarak, deformiteli iyileşme nedeniyle puan saptanabilecek uygun histolojik kesit bulmakta güçlük çekilmiş olması akla gelmektedir. Bu durum, histolojik değerlendirmemizi subjektif hale getirmektedir. Kırıkların tespit edilip daha uygun histolojik kesitler elde edilmesi ve/veya histomorfometrik ölçüm yapabilecek bir yazılım programı kullanılması ile daha objektif verilerle daha uygun bir karşılaştırma yapma olanağımız olabilirdi diye düşünmekteyiz.

## **6. SONUÇ VE ÖNERİLER**

Çalışmamızda elde edilen histolojik bulgular, mizoprosotolün kırık iyileşmesi üzerine etkisinin varlığını desteklemiyor olsa da, radyolojik bulgular destekleyici etkinin varlığını düşündürmektedir. Mizoprosotolün kırık iyileşmesinde bir rolü olup olmadığı hakkında kesin karar vermeden önce, daha objektif karşılaştırmalara olanak sağlayacak histomorfometrik verilerle, biyomekanik çalışmaların da yapıldığı ve lokal uygulama yapılarak (uygun kontrol gurubu birlikteliğinde) ilacın hedef dokuya ne kadar ulaştığı konusunda daha net bilgiye sahip olduğu bir çalışmanın gerekliliğini savunmaktayız.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Buckwalter JA: Musculoskeletal tissues and the musculoskeletal system. In Turek's Orthopaedics, eds. Weinstein SL, Buckwalter JA, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1994; 21-29.
- 2- Junqueira LC, Carneiro S, Kelley RO, çev.edit. Aytakin Y, çev. Arda O: Kemik, Temel Histoloji, Barış Kitabevi, İstanbul, 1992; 170-196.
- 3- Brinker MR, Miller MD: Basic sciences. In Review of Orthopaedics, eds. Miller MD, W.B. Saunders Company, Tokyo, 1996; 1-36
- 4- Akalın Y: Genel bilgiler, Ortopedik Travmatoloji, edit. Alturfan AK, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2002; 1.
- 5- Day MS, Ostrum FR, Chao YSE, et.al. Bone injury, regeneration, and repair. In Orthopaedic Basic Science, eds. Buckwalter AJ, Einhorn TA, Simon SR, AAOS, 2000; 371-400.
- 6- Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing, Clinical Orthopaedics And Related Research, 1998; Vol:355S, 7-21.
- 7- Brighton CT, Hunt RM. Early histological and ultrastructural changes in medullary fracture callus. The Journal of Bone and Joint Surgery , 1991; Vol:73A, No:6, 832-47.
- 8- Frost HM. The biology of fracture healing, Clinical Orthopaedics And Related Research, 1989; Vol:248, 238-293.
- 9- Shih M, Norrdin RW. Effect of prostaglandin E1 on the periosteal regional acceleratory phenomenon in fractured ribs; histomorphometric study in beagles, Am J Vet Res, 1987; Vol.48, No.5, 828-830.
- 10-Huddleston PM, Steckelberg JM, Hanssen AD, et.al. Ciproflaxin inhibition of experimental fracture healing, The Journal of Bone And Joint Surgery, 2000; Vol:82A, No:2, 161-73.
- 11-Engesaeter LB, Sudmann B, Sudman E. Fracture healing in rats inhibited by locally administered indomethacin, Acta Orthop Scand, 1992; Vol:63, No:3, 330-333.



- 12-Schemitsch HE, Bhandari M: Bone Healing and Grafting. In Orthopaedic Knowledge Update 7, eds. Koval KJ, Azar MF, DiCesare EP, et.al., AAOS, 2002, 19-30.
- 13-Einhorn TA. Enhancement of fracture healing, The Journal of Bone And Joint Surgery, 1995; Vol:77A, No:6, 940-956.
- 14-Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, et.al. A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair, The Journal of Bone And Joint Surgery, 2003; Vol:85A, No:8, 1425-35.
- 15-Holzer G, Majeska RJ, Lundy MW, et.al. Parathyroid hormone enhances fracture healing, Clinical Orthopaedics and Related Research, 1999; Vol:366, 258-263.
- 16-Mayes AP: Metabolism of unsaturated fatty acids and eicosanoids. In Harper's Biochemistry, eds. Murray KR, Granner KD, Mayes AP , Rodwell VW, Lange Medical Book, London, 1990; 223.
- 17-Raisz LG, Kream EB. Regulation of bone formation , The New England Journal of Medicine, 1983, Vol:309, No:2, 83-88.
- 18-Pilbeam CC, Raisz LG, Voznesensky O, et.al. Autoregulation of inducible prostaglandin g/h synthase in osteoblastic cells by prostaglandins, Journal Of Bone And Mineral Research, 1995; Vol:10, No:3, 406-414.
- 19-Sarrazin P, Bkaily G, Hache R, et.al. Characterization of the prostaglandin receptors in human osteoblasts in culture, Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids, 2001; Vol:64, No:3, 203-210.
- 20-Kayaalp OS. Tıbbi Farmakoloji, 6. Baskı, Güneş Kitapevi, Ankara, 1993; 3170.
- 21-Brand RA, Rubin TC: Fracture Healing. In Surgery of the Musculoskeletal System, eds. Everts Mc.C., Churchill Livingstone, New York; 1990, 93
- 22-Hiltunen A, Vuorio E, Aro HT. A standardized experimental fracture in the mouse tibia, Journal Of Orthopaedic Research, 1993, Vol:11, No:2, 305-312.
- 23-Roach HI, Shearer JR, Archer C. The choice of an experimental model, The Journal of Bone And Joint Surgery, 1989, Vol:71B, No:4, 549-553.
- 24-Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone, Journal Of Orthopaedic Research, 1984; Vol:2, No:1, 97-101.
- 25-Sönmez AS, Birincioğlu M, Özer MK, et.al. Effects of misoprostol on bone loss in ovariectomized rats, Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 1999; Vol:57, No:2-3, 113-118.

- 26-Tascilar O, Saray A, Dizbay S, Melli M. Acetylsalicylic acid and misoprostol combination in adjuvant arthritis of rats, *Inflammation*, 1993; Vol:17, No:4, 489-498.
- 27-Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting, *Orthopaedic Clinic Of North America*, 1987; Vol.18, No.2, 213-225.
- 28-Huo MH, Troiano NW, Pekler RR. The influence of ibuprofen on fracture repair: Biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats, *Journal Of Orthopaedic Research*, 1991; Vol.9, No.3, 383-390.
- 29-Close B, Banister K, Baumans V, et.al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1, *Laboratory Animals*, 1996, Vol:30, No:4, 293-316.
- 30-Gardner CR, Blanque R, Cottereaux C. Mechanisms involved in prostaglandin induced increase in bone resorption in neonatal mouse calvaria, *Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids*, 2001; Vol:64, No:2, 117-125.
- 31-Okada Y, Lorenza JA, Freeman AM, et.al. Prostaglandin g/h synthases-2 is required for maximal formation of osteoclast-like cells in culture, *The Journal Of Clinical Investigation*, 2000; Vol:105, No:6, 823-832.
- 32-Harvey W, Guat-Chen F, Gordon D, et.al. Evidence for fibroblasts as the major source of prostacyclin and prostaglandin synthesis in dental cyst in man, *Archs Oral Biol*, 1984; Vol:29, No:3, 223-229.
- 33-Gebhart MC, Lipiello L, Bringhurst FR, et.al. Prostaglandin E2 synthesis by human primary and metastatic bone tumors in culture, *Clinical Orthopaedics And Related Research*, 1985; Vol:196, 300-305.
- 34-Goodman SB, Chin RC, Magee FP. Prostaglandin E production by the membrane surrounding loose and fixated cemented tibial hemiarthroplasties in the rabbit knee, *Clinical Orthopaedics And Related Research*, 1992, Vol:284, 283-287.
- 35-Almasbakk KH, Roysland P. Does indomethacin prevent postoperative ectopic ossification in total hip replacement?, *Acta Orthopeda Scandinavica*, 1977; 48, 566.
- 36-Solheim E, Pinholt EM, Bang OG, et.al. Inhibition of heterotopic osteogenesis in rats by a new bioerodible system for local delivery of indomethacin, *The Journal of Bone And Joint Surgery*, 1992; Vol:74, No:5, 705-712.
- 37-Faye-Petersan O, Johnson WH, Hedlund GL, et.al. Prostaglandin E1 –induced hyperostosis, *Pediatric Pathology And Laboratory Medicine*, 1996, 16:489-507.

- 38-Sone K, Tashiro M, Fujinaga T, et.al. Long-term low-dose prostaglandin E1 administration, *The Journal of Pediatrics*, 1980; Vol:97, No:5, 866-867.
- 39-Ueda K, Salto A, Nakano H, et.al. Cortical hypoertosis following long-term administration of prostaglandin E1 in infants with cyanotic congenital heart disease, *The Journal of Pediatrics*, 1980, Vol:97, No:5, 834-837.
- 40-Kalloghlian AK, Frayha HH, Demoor MM. Cortical hyperostosis simulating osteomyelitis after short-term prostaglandin E1 infusion, *Eur J Pediatr*, 1996; Vol:155, 173-174.
- 41-Chyun YS, Raisz LG. Stimulation of bone formation by prostaglandin E2, *Prostaglandins*, 1984, Vol:27, No:1, 97-103.
- 42-Flanagan AM, Chambers TJ. Stimulation of bone nodule formation in vitro by prostaglandins E1 and E2, *Endocrinology*, 1992, Vol:130, No:1, 443-448.
- 43-Raisz LG, Fall PM, Petersen DN, et.al. Prostaglandin E2 inhibits  $\alpha$ 1(I) procollagen gene transcription and promoter activity in the immortalized rat osteoblastic clonal cell line py1a, *Molecular Endocrinology*, 1993; Vol:7, No:1, 17-22.
- 44-McCarthy TL, Centrella M, Raisz LG, et.al. Prostaglandin E2 stimulates insulin-like growth factor-1 synthesis in osteoblast enriched cultures from fetal rat bone, *Endocrinology*, 1991; Vol:128, No:6, 2895-2900.
- 45-High W. Effects of orally administered prostaglandin E1 on cortical bone turnover in adult dogs: A histomorphometric study, *Bone*, 1987; Vol:8, No:6, 363-373.
- 46-Norddin RW, Shih M. Systemic effects of prostaglandin E2 on vertebral trabecular remodeling in beagles used in a healing study, *Calsified Tissue International*, 1988; Vol:42, No:6, 363-368.
- 47-Jee WSS, Ueno K, Deng YP, et.al. The effects of prostaglandin E2 in growing rats: Increased metaphyseal hard tissue and cortico-endosteal bone formation, *Calsified Tissue International*, 1985; Vol:37, No:2, 148-157.
- 48-Ueno K, Haba T, Woodbury D, et.al. The effects of prostaglandin E2 in rapidly growing rats: Depressed longitudinal and radial growth and increased metaphyseal hard tissue mass, *Bone*, 1985; Vol:6, No:2, 79-86.
- 49-Marks SC, Miller S. Local infusion of prostaglandin E1 stimulates mandibular bone formation in vivo, *J Oral Pathol*, 1988; 17(9-10): 500-505.

- 50-Suponitzky I, Weinreb M. Differential effects of systemic prostaglandin E2 on bone mass in rat long bones and calvariae, *Journal Of Endocrinology*, 1998, Vol:156, No:1, 51-57.
- 51-Ono I, Zhou LJ, Matsui T, et.al. Study on the secretion of cytokines from osteoblasts stimulated with prostaglandin E1, *The Journal Of Craniofacial Surgery*, 2000; Vol:11, No:2, 189-193.
- 52-Raisz LG, Woodiel FN. Effects of misoprostol on bone resorption and formation in organ culture, *American Journal Of Therapeutics*, 1996; Vol:3, No:2, 134-138.
- 53-Buluç M, Gürdal H, Melli M. Effect of misoprostol and indomethacin on cyclooxygenase induction and eicosanoid production in carageenan-induced air pouch inflammation in rats, *Prostaglandins And Other Lipid Mediators*, 2002; Vol:70, 227-239.
- 54-Dekel S, Lenthall G, Francis MJO. Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture, an experimental study of rabbits, *The Journal of Bone And Joint Surgery*, 1981; Vol:63B, No:2, 185-189.
- 55-Shih MS, Norddin RW. PgE2 induces regional remodeling changes in haversian envelope: A histomorphometric study of factured ribs in beagles, *Journal Of Bone And Mineral Research*, 1986; Vol:1, No:3, 227-234.
- 56-Shih MS, Norddin RW. Effect of prostaglandin E1 on regional haversian remodeling in beagles with fractured ribs: A histomorphometric study, *Bone*, 1987; Vol:8, No:2, 87-90.
- 57-Shih MS, Norddin RW. Effect of prostaglandins on regional changes during tibial healing in beagles: A histomorphometric study, *Calsified Tissue International*, 1986; Vol:39, No:3, 191-197.
- 58-High WB, Brusse DM, Factor S. Effects of prostaglandin E2 on fracture healing in adult dogs, *Journal Of Bone And Mineral Research*, 1989; 4, S404.
- 59-Paralkar VM, Borovecki F, Ke ZH, et.al. An Ep2 receptor-selective prostaglandin E2 agonist induces bone healing, *Proc Natl Acad Sci*, 2003; Vol:100, No:11, 6736-6740.
- 60-Keller J, Klamer A, Bak B, et.al. Effect of local prostaglandin E2 on fracture callus in rabbits, *Acta Orthop Scand*, 1993; Vol:64, No:1, 59-63.
- 61-Jee WSS, Ueno K, Kimmel DB. The role of bone cells in increasing metaphyseal hard tissue in rapidly growing rats treated with prostaglandin E2, *Bone*, 1987; Vol.8, 171-178.

- 62-Weinreb M, Suponitzky L, Keila S. Systemic administration of an anabolic dose of PgE2 in young rats increases the osteogenic capacity of bone marrow, *Bone*, 1997; Vol.20, No.6, 521-526.
- 63-Ono I, Inoue M, Kuboki Y. Promotion of the osteogenetic activity of recombinant human bone morphogenetic protein by prostaglandin E1, *Bone*, 1996; Vol.19, No.6, 581-588.
- 64-Simon MA, Manigrasso BM, O'Connor PJ. Cyclo-oxygenase-2 function is essential for bone fracture healing, *Journal Of Bone And Mineral Research*, 2002; Vol.17, No.6, 963-976.
- 65-Zhang X, Schwarz EM, Young DA. Cyclo-oxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair, *The Journal Of Clinical Investigation*, 2002; Vol.109, No.11, 1405-1415.
- 66-Le AX, Miclau T, Hu D. Molecular aspects of healing in stabilized and non-stabilized fractures, *Journal Of Orthopaedic Research*, 2001; Vol:19, No:1, 78-84.
- 67-Giardano V, Giardano M, Knackfuss IG, et.al. Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae, *Injury*, 2003; Vol:34, No:2, 85-94.
- 68-Schmidmaier G, Wildemann B, Heeger J, et.al. Improvement of fracture healing by systemic administration of growth hormone and local application of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor- $\beta$ 1, *Bone*; 2002; Vol.31, No.1, 165-172.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimi hazırlarken, tüm aşamalarda desteğini esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Abtullah Milcan'a, eğitimim süresince edindiğim bilgi ve beceriyi kazanmamdaki yardım, sabır ve hoşgörülerini için değerli hocalarım, Prof. Dr. Fehmi Kuyurtar, Doç. Dr. Volkan Öztuna, Yrd. Doç. Dr. Metin Manouchehr Eskandari, Yrd. Doç. Dr. Cengiz Yılmaz ve Yrd. Doç. Dr. İrfan Ayan'a ve beraber çalışmaktan büyük zevk aldığım asistan arkadaşlarım Dr. Ali Yılmaz, Dr. Alper Gölpınar, Dr. Aziz Vurucu, Dr. Ahmet Karaçor ve ayrıca kliniğimizin tüm hemşire ve personeline teşekkürü borç bilirim.

Deneyisel çalışmanın laboratuvar aşamasında yardımları için Yrd. Doç. Dr. Nefise Özlen Şahin'e, histolojik değerlendirmesinde Doç. Dr. Banu Coşkun'a, radyolojik değerlendirmesinde Doç. Dr. F. Demir Apaydın'a ve istatistiksel olarak değerlendirilmesinde katkıları için Yrd. Doç. Dr. Arzu Kanık'a teşekkür ederim.

Eğitimim için benden hiçbir fedakarlığı esirgemeyen eşim ve aileme sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Mehmet Çolak