



T.C

**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA GEBELİK VE LAKTOSYON DÖNEMİNİN
KIRIK KAYNAMASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Nidal SAĞLAM
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. İ.Gökhan DUMAN**

HATAY - 2016

T. C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

RATLARDA GEBELİK VE LAKTOSYON DÖNEMİNİN
KIRIK KAYNAMASI ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nidal SAĞLAM
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. İ.Gökhan DUMAN

TEZ ONAY SAYFASI
T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA GEBELİĞİN KIRIK KAYNAMASI ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Nidal SAĞLAM

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Yusuf ÖNLEN
Tıp Fakültesi Dekan

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

Prof. Dr. Aydın KALACI
Anabilim Dalı Başkanı

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

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. İ.Gökhan DUMAN

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof.Dr.Aydın KALACI
2. Doç.Dr. Onur HAPA
3. Yrd.Doç.Dr.İ.Gökhan DUMAN

TEŞEKKÜR

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakóltesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalında eğitim sürecim boyunca benim yetişmemde büyük katkıları bulunan, bütün eğitim sürecim boyunca benden sabır ve hoşgörülerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini meslek hayatım boyunca taşıyacağım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli hocalarım Prof. Dr. Aydıner Kalacı, Prof. Dr. Yunus Doğramacı, Doç. Dr. Raif Özden, Doç. Dr. Vedat Uruç ve Yrd. Doç. Dr. İ. Gökhan Duman'a sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Beş yıllık çalışma sürecimde birlikte keyifle zaman geçirdiğim, benden desteklerini esirgemeyen uzman olan ve halen asistanlıkları devam eden doktor arkadaşlarıma; servis ve ameliyathane hemşirelerine, personellerine ve sekreterlerine teşekkürü borç bilirim.

Tezimle ilgili yardımlarından ötürü, tez süreci boyunca yanımda olan ve sabır gösteren Yrd.Doç. Dr. İ. Gökhan Duman hocama, Doç. Dr. Sibel Hakverdi, Prof.Dr. Sinem Karazincir hocama, yardımlarından çok faydalandığım intern arkadaşlarıma, çalışmalarımnda emek ve yardımlarından ötürü MKÜ-DAM personellerine teşekkürü borç bilirim.

Bütün eğitim hayatım boyunca beni destekleyen maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen annem, babam ve kardeşlerime, özelliklede uzmanlık eğitimim boyunca bana destek olan eşime gönülden teşekkür ederim.

Dr. Nidal SAĞLAM

HATAY, 2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	I
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
TABLO DİZİNİ.....	VI
ŞEKİL DİZİNİ	VII
RESİM DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Kemik Dokusu.....	3
2.1.1.Kemik dokusu	3
2.1.2.Kemik histolojisi	3
2.1.3. Kemik Zarları.....	6
2.1.4. Kemik matriksi	7
2.1.5. Kemiğin hücresele biyolojisi	7
2.1.6 Kemik Dolaşımı.....	10
2.2 Kemik oluşumu tipleri.....	11
2.3 Kemiğin yaralanması ve tamiri.....	13
2.3.1 Kırık Tanımı ve Tipleri	13
2.3.2 Kırık İyileşmesi	14
2.3.3. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	20
3. MATERYAL VE METOD.....	25
3.1. Ratların Gebe Kalması ve Gebeliklerinin Tespiti.....	26
3.2. Cerrahi Teknik	27
4. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	34
4.1. Biyomekanik Değerlendirme.....	34
4.2. Histopatolojik Değerlendirme	35
4.3 Radyolojik Değerlendirme.....	36
5. BULGULAR VE İSTATİKSEL ANALİZ	38
5.1.Biyomekanik Bulgular	38
5.2. Histopatolojik Bulgular	39

5. 3 Radyolojik Bulgular	43
6. TARTIŞMA	46
7. SONUÇ	52
KAYNAKLAR	53



ÖZET

İskelet ve kas sistemi hareket için temel yapılardır. Kırık, kemik yapının anatomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulması olarak tanımlanır. Uygulanan mekanik güç kemiğin taşıyabileceği kapasiten fazla ise kırılır. Kırık kemiğin tamiri, kırık olduğu andan itibaren başlamaktadır. Kırık iyileşmesinin gecikmesi veya olmaması ortopedi ve travmatoloji kliniğinin başlıca sorunlarından biridir.

Kırık iyileşmesi birçok faktörden etkilenmektedir. Bu çalışmada gebeliğin ve laktasyon döneminin kırık iyileşmesi üzerindeki biyomekanik, histopatolojik ve radyolojik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma için 40 adet Wistar-Albino tipi dişi rat Kontrol(gebe olmayan) ve Çalışma(gebe) grubu olarak 20'er adet olarak iki gruba ayrıldı. 1.grup gebe olmayan dişi rat kontrol grubu, 2.grup gebe olan dişi rat çalışma grubu olarak belirlendi. Sedasyon anestezi altında tüm sıçanların sağ femur diafiz bölgelerinde kemik makası ile transvers açık kırık oluşturuldu. Kırık sonrası femur kırıkları intramedüller retrograd 2 mm Kirschner Teli(K-Wire) ile tespit edildi. Eşit sayıda ratta kırık oluşturulduktan 6 hafta sonrasında, çalışma grubundaki ratların gebelik ve laktasyon dönemi sona erdikten sonra sakrifiye edilerek, kırık iyileşmesi biyomekanik, histopatolojik ve radyolojik olarak araştırılıp değerlendirildi.

Yapılan Biyomekanik ve histopatolojik incelemeler sonucunda kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı fark saptandı.

Edinilen bulgulara göre, dişi rat femur kırık modelinde gebeliğin ve laktasyon döneminin kırık kaynaması üzerine biyomekanik ve histopatolojik olarak olumsuz etki ettiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Dişi Rat, Gebe, Laktasyon

ABSTRACT

Skeleton and muscular system are basic structures for movement. Fracture is defined as the distortion of the anatomic integrity and continuity. If the power, which is applied to bone, is more than the bone's bearing capacity the bone will be broken. The healing process of the broken bone starts from the moment, in which it gets broken. The delay or not occurrence of the recovery are the major problems in orthopedics and traumatology.

The recovery of fractures is effected by various factors. The aim of this study is to search the biomechanical, histopathological and radiological effects of the pregnancy and lactation periods on fracture healing.

For this study, we used 40 female wistar - albino rats and we made 2 different groups. Each group contained 20 rats. The first group contained non-pregnant female rats and determined as control group. The second group contained pregnant female rats and determined as experimental group. All the rats, under dissociative anesthesia, were operated through right femur diaphysis by means of bone saw and transvers open fracture was created. After this process, the femur fractures are identified via retrograde 2 mm kirschner wire (K-wire). After 6 weeks of the fracture occurrence, after the expiration of the pregnancy and lactation period, the rats were sacrificed and the fracture healing was searched and evaluated biomechanically, histopathologically and radiologically.

After biomechanical and histopathological examinations significant differences are determined.

According to findings, at the female rat femur fracture model, the fracture healing was effected negatively by pregnancy and lactation periods both biomechanically and histopathologically.

Key Words : Fracture Healing, Female Rat, Pregnancy, Lactation

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalen fosfataz
BMP	: Kemik morfojenik proteini
Ca+2	: Kalsiyum
CDGF	: Kondroblast kökenli büyüme faktörü
ECDGF	: Endotelial hücre kaynaklı büyüme faktörü
ECGF	: Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü
FDGF	: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
TNF	: Tümör nekroz faktör
RANKL	: Kappa-b ligandının çekirdek aktivasyon reseptörü
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
IL	: İnterlökin
cAMP	: Siklik adenzin mono fosfat
Mgr	: Miligram
MDGF	: Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü
NSAI	: Nonsteroid anti inflamatuvar
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PG	: Prostaglandin
PPMH	: Pluripotent Mezenkimal Hücreler
PTH	: Paratiroid hormonu
TCP	: Trikalsiyum fosfat
TGF-β	: Transforme edicibüyüme faktörü-β
vb	: ve benzeri
μgr	: mikrogram

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Kemik tipleri	6
Tablo 2. Osteoblastlar ve osteoklastlar üzerindeki bazı reseptörler	9
Tablo 3. Deney hayvanları dağılım tablosu	25
Tablo 4: Histopatolojik değerlendirilmede kullanılan skorlama sistemi.....	36
Tablo.5 : Radyolojik değerlendirilmede kullanılan skorlama sistemi.....	37
Tablo 6. Biyomekanik değerlendirme sonuçları (Newton olarak).....	38
Tablo 7. Histopatolojik değerlendirme sonuçları.....	40
Tablo 8. Radyolojik puanlarının ortalama değerleri.....	43
Tablo 9 . Biyomekanik, histopatolojik ve radyolojik bulguların analiz p değerleri.	45

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Osteon yapıların ve Haversiyen sistemin kemikte yerleşimi.....	4
Şekil 2. Kortikal ve spongioz kemik yapısı.....	5
Şekil 3. Örgümsü ve lameller kemik doku.....	5
Şekil 4: intramembranöz kemikleşme.....	12
Şekil 5 : endokondral kemikleşme.....	13
Şekil 6. Kırık tipleri.....	14
Şekil 7. Kırık iyileşmesi evreleri.....	15
Şekil 8: inflamasyon evresi.....	16
Şekil 9: Kırık iyileşmesinde yumuşak kallus oluşma evresi.....	18
Şekil 10: Kırık iyileşmesinde sert kallus oluşma evresi	18
Şekil 11: Kırık iyileşmesindeki kemik remodelizasyon evresi.....	19
Şekil 12. Biyomekanik sonuçların ortalama kuvvet değerlerini gösteren grafik....	39

RESİM DİZİNİ

Resim 1. Dişi ratların gebelik tespitleri.....	27
Resim 2. Ratlara anestezi verilmesi.....	28
Resim 3. Ratların cerrahi alan traşlaması ve betadine ile local saha temizliği.....	28
Resim 4. Cilt ve ciltaltı insizyonu.....	29
Resim 5. Kas dosunun künt diseksiyonu.....	29
Resim 6. Femur shaftının ortaya konması.....	30
Resim 7. Kırık hattından piili motor yardımı ile retrograde k-teli gönderilmesi ve kırık tespiti sağlanması.....	30
Resim 8. Kırık tespitinin kontrol edilmesi.....	31
Resim 9. İnsizyonunun primer sütürasyonu.....	31
Resim 10. İnsizyonunun betadine ile temizlenmesi ve ratların serbest halde bırakılması.....	32
Resim 11. Femurun kalça ve dizden dezartiküle edilip çevre yumuşak dokulardan temizlenmesi.....	33
Resim 12. Biyomekanik ölçümlerin yapıldığı ZWICK/Z100 çekme makinası.....	34
Resim 13. Çekme makinesine aparatların ve kemiklerin yerleştirilmesi	35
Resim 14. Çalışma grubunda az miktarda kırık dokü arasında immatür kemik.	41
Resim 15. Çalışma grubunda ağırlıklı olarak kırık dokü çok miktarda İmmatür kemi.....	41
Resim 16. 6.hafta Kontrol grubunda yaygın İmmatür kemik dokusu.....	42
Resim 17. 6.hafta Kontrol grubunda Matür kemik alanları.....	42
Resim 18. Kontrol grubunda 6. hafta direk grafi.....	43
Resim 19. Kontrol grubunda 6. hafta direk grafi.....	44
Resim 20. Çalışma grubunda 6. hafta direk grafi.....	44
Resim 21. Çalışma grubunda 6. hafta direk grafi.....	45

1. GİRİŞ

Kemik yapının vücutta görev aldığı çeşitli roller mevcuttur. Kemikler, vücudun şekil alması ve hayati organların korunması gibi görevlerinin yanında kaslara ve tendonlara yapışma yeri sağlayarak harekette görev almaktadır. Kemikler aynı zamanda çeşitli mineraller için depo kaynağı oluşturmaktadır. Kemik, çevre uyaranlara yanıt verip devamlı remodelize olan ve kırık sonrası kendi kendini tamir etme özelliği olan bir dokudur [1].

Kırık, kemik ve ilgili yumuşak dokuların iç veya dış kuvvetlere bağlı olarak bütünlüğünün tam veya kısmen bozulması olarak tanımlanmaktadır [2]. Kırıklar, tarih boyunca tıbbi problem olarak değerlendirilmiştir. Hippokrat'ın tıbbi çalışmalarının birçoğunda yaralanmaların ve özellikle kırıkların tedavisi tarif edilmektedir. Kırığın biyolojisi ile ilgili bilgiler 20. yüzyılda giderek artmıştır. Kemik iyileşmesi tıpta birçok disiplini ilgilendirdiği için literatürde en fazla çalışılmış konulardan biridir. Kırıklar, geçici veya kalıcı fonksiyon kayıplarına yol açabilmektedirler. Fonksiyon kayıpları ve buna benzer olumsuzlukları giderebilmek ve kemiğin normal fonksiyonel anatomisine hızlıca kavuşmasını sağlamak için kırık iyileşmesinin nasıl olduğu ve hangi faktörlerin etki ettiğini iyi bilmek gerekir. Ortopedi ve Travmatoloji kliniğinin en çok karşılaşılan problemlerinden olan kırıklarda başlıca hedef kırığa konservatif veya cerrahi olarak en kısa zamanda müdahale edilmesi, mümkün olan en kısa sürede iyileşmesinin sağlanması ve hastanın mobilizasyonunun sağlanmasıdır [3]. Kırık iyileşmesi kırığın olduğu anda başlar ve kırık uçları tamamen bütünleşinceye kadar devam eder. Oldukça düzenli bir şekilde ilerleyen bu süreç bir o kadar da iç içe geçmiş evreleri birbirini takiben gerçekleşir. Bu evreleri etkileyen birçok faktör mevcuttur. Kişinin genel durumu, yaşı, cinsiyeti, kullandığı ilaçlar, travmanın şiddeti ve karakteri gibi faktörler kırık iyileşmesini olumlu ya da olumsuz etkileyebilir.

Bu çalışmamızda ratların sağ femurlarında açık kırık oluşturulup intramedüller tespit yapılarak 6. haftada gebelik ve laktasyon döneminin bitiminde bu dönemlerin

kırık iyileşmesi üzerindeki etkileri histopatolojik, biyomekanik ve radyolojik olarak araştırılması amaçlandı.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kemik Dokusu

2.1.1.Kemik dokusu

Kemik, iskelet sisteminin temel yapısını oluşturur. İnsan vücudunun en sert dokularından biri olan kemik dokusu; canlı, oldukça iyi kanlanma gösteren, yapım ve yıkımın eş zamanlı olduğu, mineralize bir bağ dokusudur[4]. Kemik dışta sıkı bağ dokusu ve içte osteoprogenitör hücreleri içeren periosteum ile kaplıyken, kemiğin santral kavitesi ise özel ince bir bağ dokusu olan endosteum ile örtülüdür. Endosteum, tek tabakalıdır. Osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlardan oluşur

Yaşamsal organlara destek ve koruma sağlar, bazı temel iyonların vücuttaki konsantrasyonunun sağlanmasında görev alır ve üzerine yapışan kasların düzenli kontraksiyonu ile vücudun hareket etmesini sağlar[5, 6]. Matürasyonunu tamamladıktan sonra da metabolik olarak birçok görevi üstlenir[7].

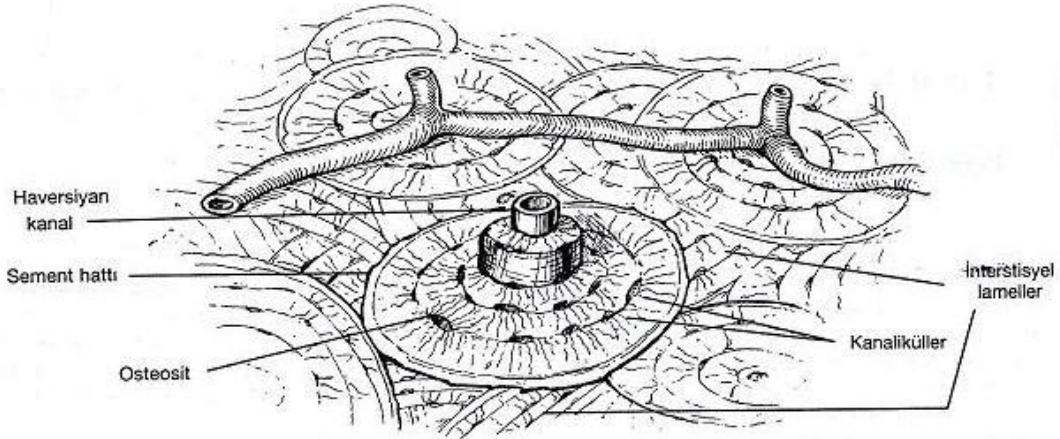
2.1.2.Kemik histolojisi

Kemik dokusu iç yapısına göre, lameller ve örgü olmak üzere iki tiptir [8]. Erişkin vücudunda kortikal veya spongiöz kemik bulunur ve hem kortikal hem spongiöz kemik lameller yapıdadır (şekil 1). Patolojik kemik (osteojenik sarkom, fibröz displazi gibi) ve immatür kemik (embriyojenik iskelet, kırık kallusu) ise örgülü yapıdadır. Örgülü kemik lameller kemiğe göre daha fazla osteosit içerecek şekilde gelişmiştir ve rastgele düzenlenmiştir. Örgülü kemiğin yapım - yıkım döngüsü lameller kemiğe göre daha fazladır, daha zayıf ve esnektir. (şekil 3) (tablo 1) [9].

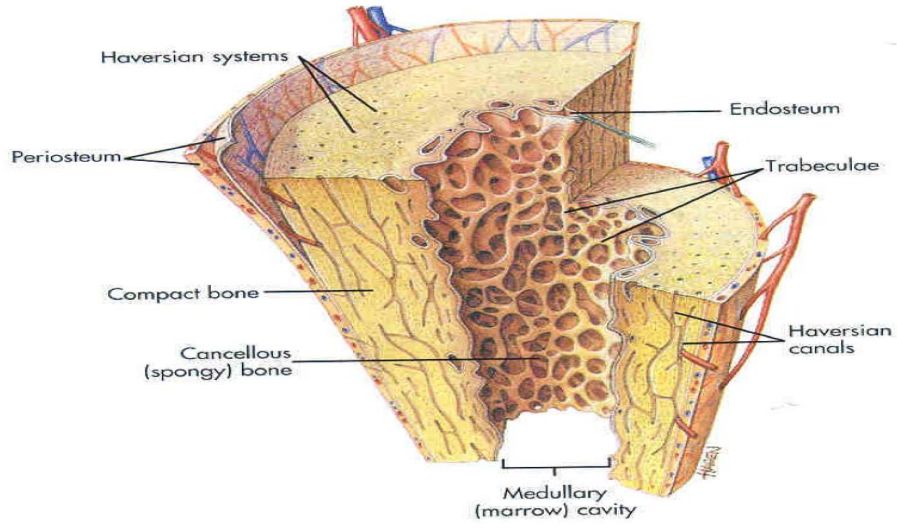
Kortikal (Kompakt) kemik; Osteonlar ya da arterioller, venüller, kapillerler, sinirler ve olasılıkla lenfatik kanalları içeren haversiyan (veya Volkmann) kanallarıyla bağlı haversiyan sistemlerinden oluşur. İskeletin %80' ini oluşturur. Osteonlar arasında intersitisyel lamellalar mevcuttur. Sement hatları osteonun dış sınırını belirler (şekil 1,2). Besin kaynağı intraosseoz dolaşımdır. Kortikal kemik spongiöz kemiğe göre daha

düşük bir dönüşüm hızına, göreceli olarak daha yüksek bir Young modülüsüne, torsiyon ve bükülmelere daha yüksek bir dirence sahiptir[9].

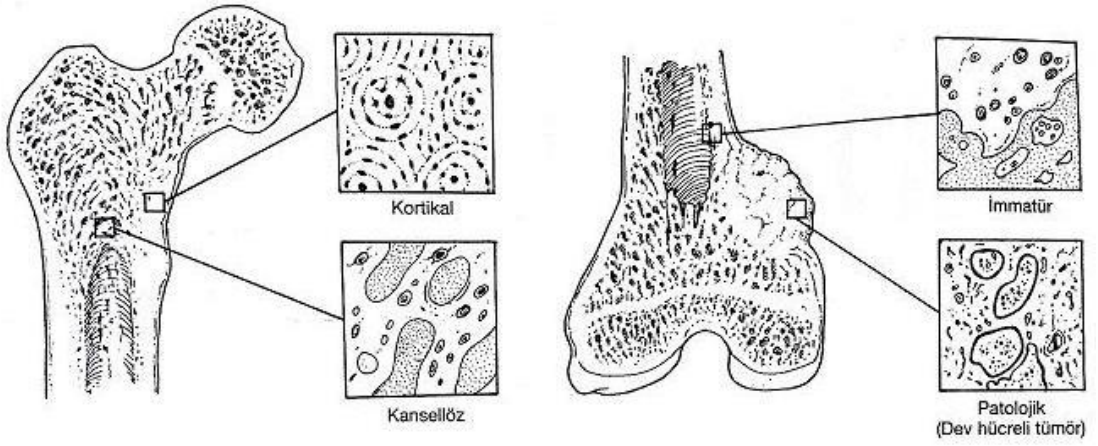
Spongioz (trabeküler) kemik; Kompakt dokunun içerisinde bulunan ve kemik trabeküllerinin birbiri ile birleşmesi ile oluşan dokudur. Kortikal kemiğin yoğun yapısının tersine ince, uzun ve düzensiz tarbekül yapılarından oluşan sünger şeklinde bir yapıya sahiptir. Kemiğin içindeki her trabekül olgun bir lameller kemiktir. Osteositlerin yerleşimi konsantrik olup kanalikülleri iyi gelişmiştir. Spongioz kemiğin geniş yüzey alanından dolayı kemik yüzey/hacim oranı kortikal kemikten 10 kat daha fazladır (şekil 1,2). Uzun kemiklerin uçlarında ve vertebralarda bulunur. Yoğunluğu daha azdır, stres çizgilerine bağlı olarak daha fazla yeniden şekillenme meydana gelir (Wolff kanunu). Daha yüksek bir dönüşüm hızı vardır. Young modülüsü daha küçüktür, bu nedenle kortikal kemikten elastiktir [10].



Şekil 1. Osteon yapıların ve Haversiyen sistemin kemikte yerleşimi[9]



Şekil 2. Kortikal ve spongioz kemik yapısı



Şekil 3. Örgümsü ve lameller kemik doku[9]

Mikroskopik görünüm	Alt Tipleri	Özellikleri	Örnekleri
Lameller	Kortikal	-Yapı stres çizgileri boyunca yönelmiştir-Güçlü	-Femur cismi
	Spongioz	-Kortikal kemikten daha elastiktir	-Distal femoral metafiz
Örgülü	İmmatür	-Stres yönelimli değil	-Embriyonik iskelet
	Patolojik	-Rastgele organizasyon - Artmış turnover -Zayıf-Esnek	Osteojenik sarkom - Fibröz displazi

Tablo 1. Kemik tipleri[9]

2.1.3. Kemik Zarları

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri; kemik üreten hücreler ve bağ dokusundan oluşan zarlarla örtülüdür, bu zarlardan iç tarafta olanına endosteum, dış tarafta olanına ise periosteum adı verilir .

Periosteum; eklem yüzeyleri hariç diğer tüm kemiği kaplayan vasküler, konnektif bir bağ dokusu tabakasıdır. Fibröz bir dış tabaka ile hücre ve damarlardan zengin iç tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Kalın dış tabaka ‘fibröz tabaka’ olarak adlandırılır ve düzensiz yoğun konnektif dokudan oluşur. Daha ince ve zayıf iç tabaka ise ‘osteojenik tabaka-cambium’ olarak bilinir, hücreden zengin, gevşek bağ dokusundan oluşmuştur. Tabakaların her birinin ayrı fonksiyonu mevcuttur. Dış tabaka kemiğin metabolizmasında görev alan damarları ve lenfatikleri içerir. İç tabaka ise kemik hasarı olduğunda osteoblast hücreleri haline dönüşerek kemik tamirine katkı sağlamaktadır [11].

Endosteum; kemik içerisindeki tüm boşlukları kaplayan ince bir tabaka olup osteojenik hücrelerden oluşmaktadır. Bu tabakanın osteojenik özelliği olmasının yanında hematopoetik hücre yapabilme özelliği de vardır.

2.1.4. Kemik matriksi

Kemik matriksi organik ve inorganik bileşiklerden oluşur.

Organik matriks; kemiğin gerilim direncini oluşturur. %90'lık gibi büyük bir bölümü kollajenden oluşur. Kalan % 10'luk kısmı ise kollajen dışı proteinlerden (Gama karboksiglutamik asit (GKGA) içeren proteinler, Proteoglikanlar, Glikoproteinler, Plazma proteinleri ,Büyüme faktörleri) oluşmaktadır [12-14]. Kollajen içeriğinin büyük çoğunluğu Tip I kollajen oluşturur. Daha az oranda da Tip III, V, VI, XI, XII kollajen bulunur [12, 14]. Tip I kollajen liflerinden zengin olması kemiğe güç ve dayanıklılık sağlar.

Inorganic matriks(mineral); Kemiğin kuru ağırlığının 2/3'ünü kemik mineralleri oluşturur [15]. Kemik mineralleri kalsiyum, fosfat, karbonat, sodyum, potasyum, manganez ve floridden oluşur [12, 14]. Bu mineraller kollajen fibrillerinin arasında ve içinde iğne, plak, çubuk, şeklinde küçük kristaller oluştururlar. Bu kristal yapı kalsiyum hidroksiapatit olarak adlandırılır. Hidroksiapatit yapısı içinde bazen fosfat grubu yerine karbonat, hidroksil grubu yerine de klor ve flor bulunabilir. Bu tür değişimler kristalin çözünübilirlik gibi fiziksel özelliklerini değiştirebilir [15]. Hidroksiapatit yüzeyinde bulunan iyonlar suya doyurulduğu için kristalin etrafında su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka bulunur. Hidrasyon kabuğu denilen bu tabaka ile vücut sıvıları ile iyon dengesi sağlanır [16]. İnorganik komponent kemik yapının kompresif güçlere karşı direncini sağlar [12].

2.1.5. Kemiğin hücresel biyolojisi

4 tip kemik hücresi tarif edilmiştir. Bunlar osteoprogenitör hücreler, osteosit, osteoblast ve osteoklastlardır.

Osteoprogenitör hücreler:

Osteoprogenitör hücreler, periosteumun iç tabakasında ve havers kanallarını çevreleyen endosteumda bulunurlar [17]. Mezenşimal kök hücrelerinden kaynaklanan kemik hücreleridir. Osteoprogenitör hücrelerin her zaman mitoz bölünme özelliği ve kondroblast, osteoblastlara farklılaşma yetenekleri vardır. Kemik büyümesi ve kırık

iyileşmesinde aktif hale gelerek bölünüp osteoblastlara farklılaşabilirler[11, 18].

Osteoblastlar:

Matür ve metabolik yönden aktif hücrelerdir. Uyarıldıklarında tip 1 kollajen ve kemiğin organik matriks yapımını sağlarlar. Organik matriksi üretirler, bunun salınımını da yaparlar. Ayrıca KMP(BMP-Bone Morphogenic Protein), TGF Beta, IGF-1, IGF2, IL 1, PDGF, osteokalsin, osteopontin, kemik siyaloprotein gibi sinyal proteinlerini salgırlar [11, 18]. Kemiğe inorganik yapıların çökebilmesi için osteoblastlar gereklidir [19]. Osteoblastlar kemik yüzeyini örtecek şekilde birbirlerine yapışık halde bulunurlar. Matriks sentez etmeye başladıklarında Alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi artar ve sitoplazmaları bazofilik hal alır. Sentez işlemleri azaldıkça ALP aktivitesi azalır, sitoplazmalarının bazofilik özellikleri kaybolur ve yassılaşırlar. Osteoblastlar matriks ile kaplandıklarında osteosit adını alırlar[4] [17]. Osteoblastların parathormon, 1,25 hidroksi D3, glukokortikoidler, prostoglandinler ve östrojen için reseptör efektör etkileşimleri mevcuttur. Ortalama 1 ile 10 hafta arası yaşarlar. Yaklaşık 20-30 µm büyüklüğünde olup kemiğin yüzeyindedabaka halinde bulunurlar. Osteoblastlar, osteosit ve ekstrasellüler matriksile arasında olan iletişimi transmembran proteinler ve integrinler aracılığı ile sağlarlar.

Osteositler:

Osteositler yassı elips şeklinde, stoplazmik uzantıları olan, küçük tek çekirdekli hücrelerdir ve osteoblastlara göre daha az sayıda mitokondri, endoplazmik retikulum ve golgi aparatı içerirler. Daha yoğun çekirdek kromatini taşırlar [20]. İnsan iskeletindeki hücrelerin %90'ından fazlasını osteositler oluşturmaktadır. Osteoblastlardan köken alırlar ve matriks içindeki lakuna adı verilen boşluklarda bulunurlar. Her bir lakunada bir adet osteosit ve ona ait uzantıları bulunur. Osteositler kemiğin canlı kalabilmesi için gerekli olan maddeleri salgırlar [17]. Lokal faktörlerden etkilenerek siklik adenosin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve IGF salgırlar. Ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor konsantrasyonlarının kontrolünde önemli rol alırlar[11, 18]. Osteositlerin ömrü birkaç yıl kadardır [21]. Osteositler gelişmiş sitoplazmik uzantıları sayesinde gerekli iyon ve metabolitlerin transferini sağlarlar.

Osteoklastlar:

Osteoklastlar hematopoetik mononükleer fagositik hücrelerden (monosit öncüleri birleşerek dev hücre oluşturular) farklılaşırlar. Çok çekirdekli, düzensiz şekilli dev hücrelerdir. Osteoklastlar asit fosfataz ve çeşitli parçalayıcı enzimler üreterek kemik matriksin yıkımını sağlarlar ve osteoblastlar tarafından aktive veya inaktive edilebilirler. Kalsitonin, östrojen hormonu, TGF β , bifosfanatlar osteoklastların etkinliğini azaltırken PTH, D vitamini ve tiroksin bu hücrelerin etkinliğini artırır [8, 22-25]. Makrofajlardan fark olarak sınırları kıvrımlıdır, mitokondri ve vakuolden zengin sitoplazması ve kalsitonin reseptörleri mevcuttur[26]. Osteoklastlar karbonik anhidraz yoluyla hidrojen iyonları üretir. Bu üretilen hidrojen iyonları pH'yı düşürür ve hidroksiapatit kristallerinin çözünürlüğünün artmasına yol açar. Daha sonra osteoklastlar organik matriksi proteolitik sindirim ile ortadan kaldırır[9]. Bu hücreler kemik rezorpsiyonun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış ve Howship lakunası adı verilen yuvalarda bulunurlar [4].

Tablo 2. Osteoblastlar ve osteoklastlar üzerindeki bazı reseptörler ve reseptörlerin etkileri[9]

Hücre Tipi	Reseptör	
Osteoblast	PTH	Osteoklastik aktiviteyi stimüle etmek için sekonder haberci salınımı Adenilat siklazın aktivasyonu
	1,25-(OH) ₂ vitamin D ₃	Matriks, ALP sentezi, kemik spesifik protein sentezi
	Glukokortikoidler	DNA sentezi, kollajen üretimi ve osteoblastik protein sentezinin inhibisyonu
	Prostaglandinler	Adenilat siklazın aktivasyonu ve kemik rezorpsiyonun stimülasyonu
	Östrojen	Kemik üzerinde anabolik ve antikatabolik etkisi vardır. ALP üretimi için mRNA seviyesini artırır ve adenilat siklaz aktivasyonunu inhibe eder
Osteoklast	Kalsitonin	Osteoklastların fonksiyonunu inhibe eder

2.1.6 Kemik Dolaşımı

Anatomi :

Kemikler, kardiyak kan çıkışının %5-10' unu alır. Kanlanması sorunlu olan kemikler skafoid, talus, femur başı ve odontoiddir. Uzun kemikler temel olarak 3 yerden beslenir.

Besleyici arter sistemi; Besleyici arterler ana sistemik arterlerden dallanır. Diafiz korteksine nutrient forameninden girerler, sonra medüller kanalın içine girerek inen ve çıkan küçük arter dallarını verirler. Bu damarlar endosteal kortekste arteriollere dallanırlar ve Haversian sistemi içindeki damarlar aracılığıyla matür diafiz korteksinin iç yüzünün en az üçte ikisini beslerler.^[1] Besleyici arter sistemi yüksek basınçlıdır [27].

Metafizyal-epifizyal sistem; periartiküler vasküler pleksustan (örneğin genikulat arterler) doğarlar.^[1] Proksimal ve distal, metafiziel ve epifiziel arterler olarak anastomozlar yaparlar. Nutrisyonel ve periostal sistemle beraber medüller damarsal yapıyı oluştururlar [28].

Periosteal sistem; temel olarak matür diafiz korteksin en çok dış üçte birini besleyen kapillerlerden oluşur. Periosteal sistem düşük basınçlıdır [27].

Fizyoloji :

Matür kemikteki arteriyel akım yüksek basınçlı besleyici arteriyel sistemin ve düşük basınçlı periosteal sistemin net etkisinin bir sonucu olarak sentrifugaldır (içten dışa doğru). Deplase kırıkta endosteal sistem bozulur ve basınç değişimi tersine döner. Periosteal sistem basıncı baskın hal alır ve kan akımı sentripedale dönüşür (dıştan içe doğrudur). Gelişmekte olan immatür kemikte arteriyel akım sentripedaldir. Çünkü periost yüksek oranda vaskülarizedir ve kemik kan akımının baskın bileşenidir. Matür kemikte venöz akım sentripedaldir. Kemikğin sıvı bileşenleri ekstrasvasküler %65, haversiyen %6, laküner %6, kırmızı kan hücreleri %3 ve diğer %20'den oluşmaktadır. Hipoksi, hiperkapni, sempatektomi kan akımını artırır.

Kırık iyileşmesi sırasında kan akımındaki değişimler:

Kırık iyileşmesinin temel belirleyicisi kemik kan akımıdır. Kırık oluştuğunda kırık bölgesinde damar yaralanması meydana gelir, buna bağlı gelişen ilk tepki kemik kan akımında azalmanın olmasıdır. Günler içinde kemik kan akımı giderek artar. İki haftada zirveye ulaşır ve 3-5 ay sonra normale geri döner[29].

Düzenleme:

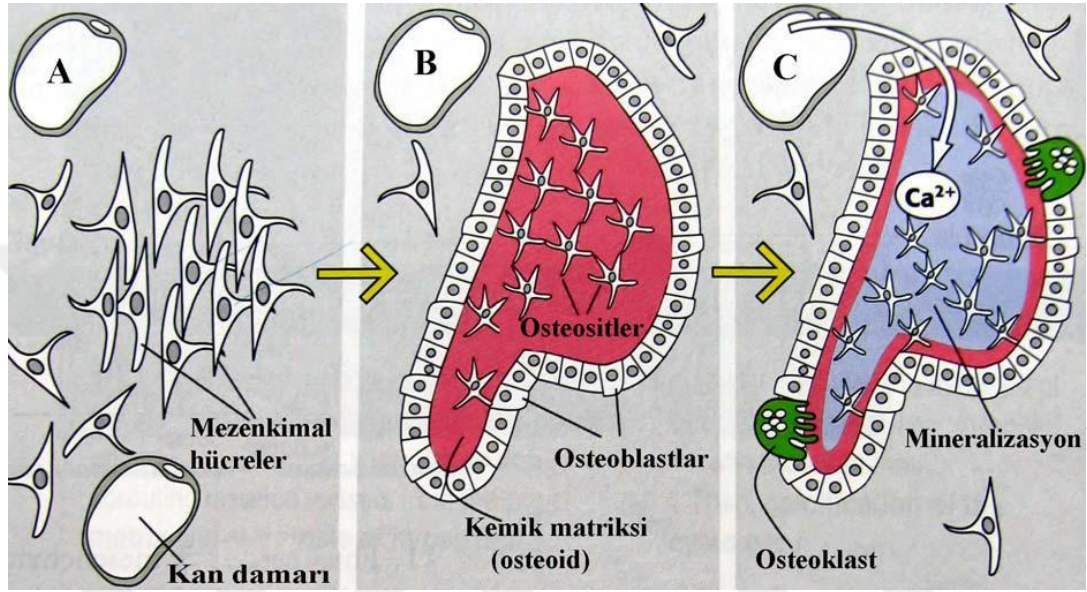
Metabolik, humoral ve otonomik sistemler kemik kan akımı kontrolünü sağlar. Kemikğin arteriyel sistemi vazodilatasyona göre daha çok vazokonstrüktif potansiyele sahiptir. Kemik içindeki damarlar birçok vazoaaktif reseptörler içerir[30].

2.2 Kemik oluşumu tipleri

Enkondral kemik oluşumu; Embriyolojik dönemden büyüme tamamlanana kadar iskelet sisteminin kırıktdan oluşan kısımlarının kemik yapıya dönüşmesi olayına endokondral kemikleşme denir. Doğumdan sonra stabil olmayan kemik kırık kaynaması da aynı yolla meydana gelir [12, 13, 31]. Örnekleri fizislerdeki büyüme ve kırık sonrasında meydana gelen sekonder iyileşmedir[18]. İlk olarak kırıktdaki matriks mineralize olur, kondrositler genişler, vasküler yapılardan kırıktda doğru invazyon oluşur ve kan yoluyla gelen hücreler kırıktdağın merkezini rezorbe eder böylece medüller boşluk oluşmuş olur[32] (şekil 5.).

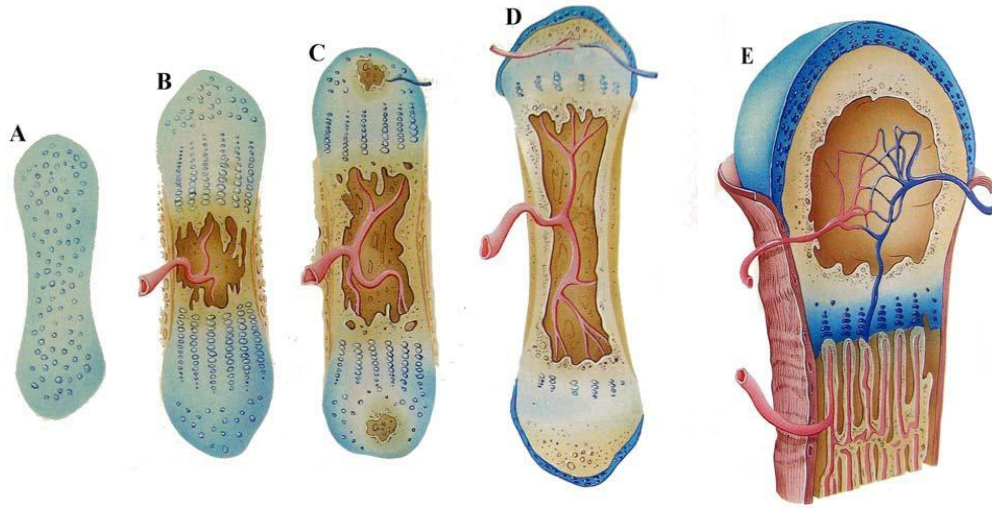
İntramembranöz kemikleşme; **Kırıktdaki** modeli olmaksızın meydana gelen kemikleşme şeklidir. İntramembranöz kemikleşmenin olacağı bölgedeki mezenkim hücrelerinden fibroblastlar gelişir, gelişen bu hücreler kollojen sentezlerler. Fibriller yapıda olan kollojenin membran yapısı oluşturmasından kaynaklı bu adı almıştır. Bu membran içinde bulunan mezenkim hücrelerinden osteoblastlar farklılaşır. Osteoblastlar organik matriks sentezini yaparlar. Osteoblastlardan bir kısmı, sentezlenip kalsiyum yoğunluğu artmış olan matriks içinde kalıp osteosite dönüşür. Kemikleşmenin başladığı bu ilk yapı primer kemikleşme merkezi adını alır[33]. İntramembranöz kemikleşme yassı kemiklerin embriyolojik gelişiminde, kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında rol alır[12, 32] (şekil4.).

Apozisyonel Kemik Yapımı; Apozisyonel kemik yapımında kemiğin yüzeyinde periost içinde bulunan osteoblastlar osteoid sentezi yaparlar ve tabakalar şeklinde yeni kemik oluşur[34]. Apozisyonel kemikleşme örnekleri; preiosteal kemik büyümesi (genişleme) ve kemik remodelizasyonunun kemik oluşumu evresini içerir.



Şekil 4: intramembranöz kemikleşme

A: Mezenkimal dokulardan direkt olarak kemik şekillenmesidir. B: Mezenşim hücreleri hızlı bölünme gösterir ve önce osteoprogenitör hücrelere daha sonrada osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini şekillendirir. C: Kılcal damarlardan osteoid dokuya kalsiyum ve fosfor iyonları taşınıp, osteoblastların salgıladığı alkalen fosfataz aracılığıyla kalsiyum fosfat moleküllerine dönüşerek kalsifikasyonu sağlarlar. Osteoklastlar kemikleri iç yüzlerinden rezorbe ederken osteoblastlar da yeni kemik lamelleri eklerler. Birincil kemik dokusu içeren trabeküller tamamen ortadan kalkar, geriye sadece ikincil kemik yapısındaki trabeküller kalır[35]. (Kierszenbaum A.L. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, 1st ed. Mosby Inc., St. Louis, Chapter 5, page 131, 2002”den alınmıştır).



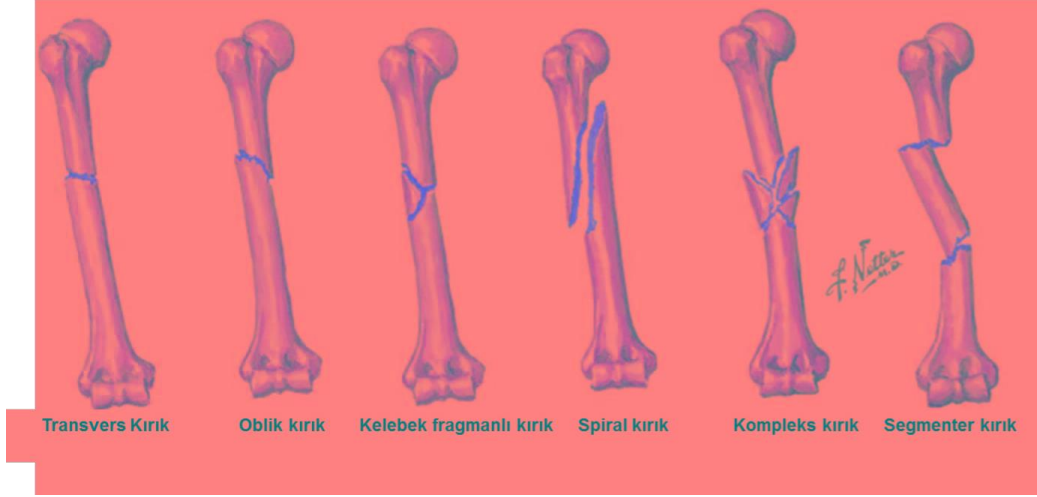
Şekil 5 : Enkondral kemikleşme

(A) Hyalin kıkırdak model (B) Diyafiz kıkırdağını örten perikondriyumun iç katındaki mezenkim hücreleri osteoprogenitör hücrelere, onlar da osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar üst üste yerleşen kemik lamellerini yapar. Böylece yeni kemiğin periosteumu ile kıkırdak dokusu arasında kemik dokusu oluşur. (C) Kemik manşet, kondrositlerin beslenmesini bozarak, kondrositlerde atrofiye, ardından ölümlerine neden olur. Kıkırdak modelin ortasında kemik iliği kavitesi oluşur. (D) Kıkırdak modelin epifizleri ile diyafizi arasında kondrositler çoğalarak alt alta dizilen gruplar yaparlar. (E) Eski ve yeni kemikleşme bölgeleri arasında sadece epifiz plağı kalır (22) (Gartner LP, James LH: Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Chapter 4, page 73, 2000'den alınmıştır).

2.3 Kemiğin yaralanması ve tamiri

2.3.1 Kırık Tanımı ve Tipleri

Dıştan veya içten gelen kuvvetler sonucu kemiğin anatomik bütünlüğünde bozulma olmasına kırık denir[36]. Kırık, kemik korteksinde basit bir çatlaktan kemik bütünlüğünün tam olarak bozulduğu çok parçalı kırıklara kadar değişik şekillerde karşımıza çıkabilir[37]. Kapalı kırıklarda cilt sağlamken, açık kırıklarda cilt ve yumuşak doku bütünlüğü bozulmuştur[38]. Kemiğin diafiz, metafiz, büyüme plağında veya eklem yüzeyinde kırık oluşabilir. Kırık tipi radyografideki görüntüsüne göre çeşitli ifadelerle ayrılmaktadır[37](transvers, oblik, spiral v.b).



Şekil 6. Kırık tipleri

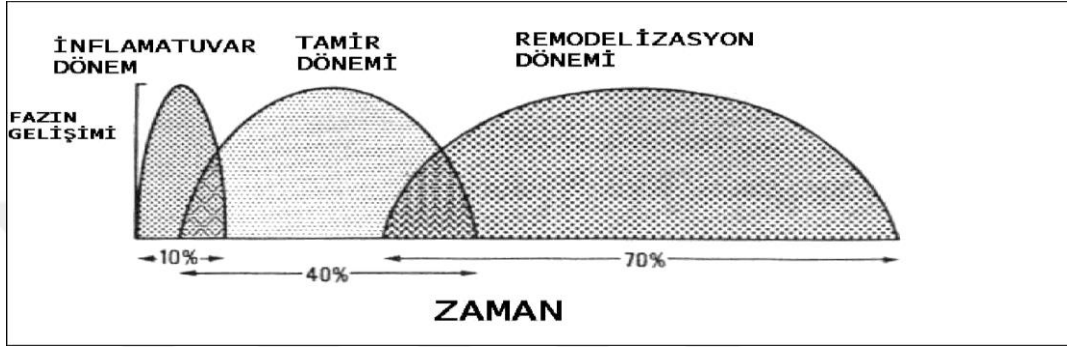
2.3.2 Kırık İyileşmesi

Kemiğin farklı bölümlerinde oluşan kırıklar farklı şekillerde iyileşir. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar bırakmadan aslına en yakın şekilde iyileşir[39-41]. Bu süreç oldukça karmaşık ve oldukça düzenli basamaklardan meydana gelmektedir. Kırık iyileşmesi, kırığın olduğu andan itibaren başlar ve kırık uçları düzenli kemik dokusu ile birleşip kemik eski halini alana kadar devam eder [42, 43].

Kırık iyileşmesinin primer ve seconder olmak üzere 2 tipi vardır[44-46]

Primer kırık iyileşmesi; bu iyileşme şekli ayrılmış olan kırık uçlarının tam redüksiyonu sonrasında görülür. Dış Kallus dokusu oluşumu yoktur,sadece iç kallus oluşumu mevcuttur [47]. Grafide kallus görülmez. Bu nedenle rejenerasyon, fibröz ve kondral iyileşme safhaları olmadan doğrudan kemik oluşumu görülür. Kırık hattında canlı osteojenik hücrelerden osteoklast ve osteoblast farklılaşması olur. Havers kanalları Osteoklastlar tarafından genişletirilir. Genişleyen bu kanallarda osteoblastlar yerleşerek konsantrik lamellar kemik oluştururlar. Periost reaksiyonu oluşmaz.[48, 49]. Primer kemik iyileşmesinde, inflamatuvar hücrelerin önemli bir rolü yoktur, sistemik inflamasyondan çok fazla etkilenmediği düşünülmektedir [50]. Bir nevi intramembranöz kemikleşmeye örnektir[46].

Sekonder kemik iyileşmesi; doğal kırık iyileşmesidir. Sıkı olmayan tespit sonrası kendiliğinden oluşur[44]. Kallus gelişimi ile olan iyileşme şeklidir. Embriyolojik kemik oluşumuna benzer, bundan dolayı endokondral kemikleşme de denir [51]. Birbiri içine girmiş üç fazdan oluşur[52]. İnflamasyon (yangı) dönemi, Reperasyon (onarım) dönemi, Remodeling (yeniden yapılanma) dönemi olmak üzere radyolojik ve histolojik olarak 3 evrede incelenir[53, 54](şekil 7.)

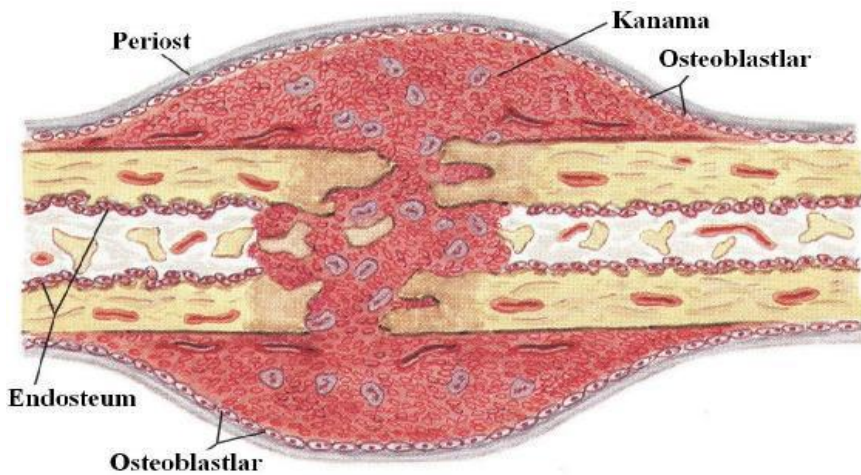


Şekil 7. Kırık iyileşmesi evreleri (Travmatoloji, 1989)

1-Yangı (İnflamasyon,hematom) evresi (1-4 gün):

Akut inflamasyon hücrelerinin kırık bölgesine yayılmasından dolayı bu isim verilmiştir [55]. Kırık oluştuğunda kemik içinde ve kırık etrafındaki çevre yumuşak dokudaki damarlar yırtılır, çevre yumuşak doku zarar görür böylece inflamatuvar süreç başlar. Yırtılmış olan damarlardan kan sızar, sızan kan kalkmış periost altında, kırık uçları arasında ve intramedüller kanalda birikir ve kırık hematomunu oluşturur. Kırık hematomu hipoksiktir ve düşük pH'ya sahiptir. Kırık hematomu içinde kan kaynaklı inflamatuvar hücreleri, antiinflamatuvar ve proinflamatuvar sitokinleri bulundurur[56]. Hematomun basıncı kırık uçlarının bir arada tutulmasına kısmen yardımcı olur[57]. Kırık hematomu 48 saat için organize olarak fibrin yumağı haline gelir. Bu süreç içinde sırasıyla vazokonstrüksiyon, vazodilatasyon, pıhtı oluşumu, fagositoz, yeniden damarlanma ve granülasyon dokusunun oluşumu görülür[54]. Doku faktörleri serbestleşince pıhtılaşma mekanizması aktifleşir ve kanama durdurulur[47]. Kırık normal bir inflamasyon karakteristiği gösterir. Trombositler ile zarar görmüş hücrelerden salınan mediatörler vazodilatasyona neden olur. Bundan dolayıda kırık bölgesinde akut ödem oluşur[58]. Kırık bölgesinde oluşan bu ödem ile iskemi

beslenmeyi bozarak kırık bölgesinde bir miktar nekroza yol açar. Böylece iyileşme için gerekli kalsiyum açığa çıkmış olur ayrıca kırık uçlarındaki nekroza karşı bunun çevresinde inflamatuvar tepki gelişir. Kırık uçları rezorbe olurlar[47]. Kırık hattına ilk gelen hücreler PNL'lerdir [59]. Bir günlük ömrü olan PNL birçok sitokin salgılar[50]. Salgılanan bu sitokinlerin etkisiyle makrofajlar kırık hematoma ve kemiğin sağlam kısmındaki periost ile endosteum çevresine yerleşir. Periost ve endosteumda yerleşen makrofajlar intramembranöz kemik iyileşmesinde esas rol üstlenir[60]. Kırık hematoma gelen makrofajlar ise enkondral kemikleşmede kısmi bir rol alır[61]. Makrofajların kallus dokusuna göçünden bir süre sonra kırık hattına lenfositler göç etmeye başlar [62]. IL-1, IL-6, TNF, RANK ligandı, TGF- β süper ailesi üyeleri (BMP-2, BMP-4, BMP-6) proinflamatuvar sitokinler salgılanır[63, 64]. Bunların dışında, bozulan dolaşım ve hipoksi etkisiyle angiopoetin-1 ve VEGF gibi anjiyogenik faktörler salınır[62]. Periosteal damarlardan birçok endotelial hücre, yeni damar gelişimi için kırık hematoma içine doğru göç etmeye başlar[65]. İnflamatuvar yanıt durduğunda fibroblastlar ortaya çıkmaya başlar. Fibroblastlar kollajen dokularını oluşturur. Hematom, yerini bol miktarda kollajen doku ve yeni oluşan kapiller damarlarla kaplı granülasyon dokusuna bırakır[58]. İnflamatuvar dönem temelde günlerce devam eden bir süreçtir ve belkide kırık iyileşmesinin temelini oluşturur. Bu sürede hematom organize olur fagositler ve lizozomal mekanizmalar ile nekrotik dokular debride edilir[66](şekil 8.).

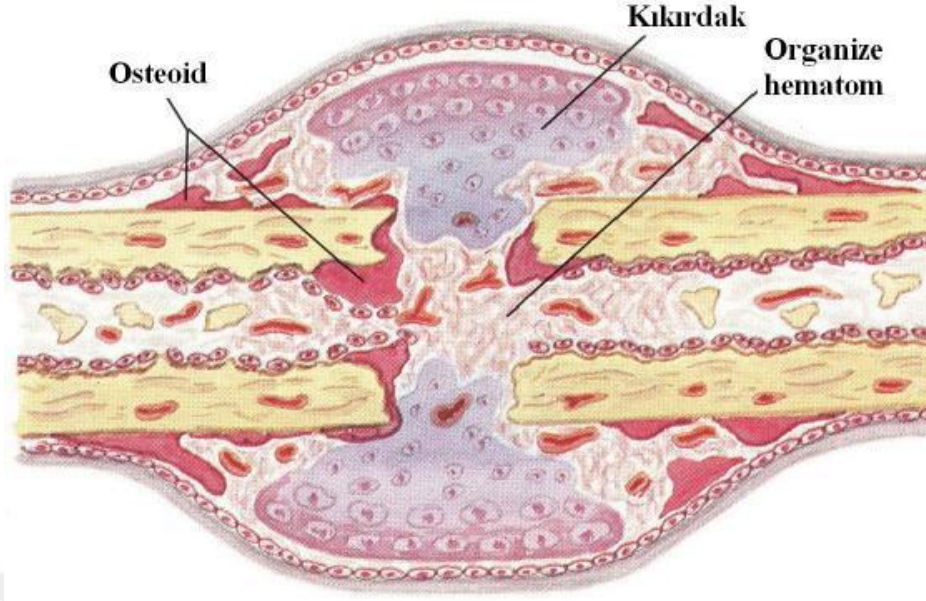


Şekil 8: inflamasyon evresi: Travma sonrası kemik ve çevresindeki kan damarlarının zedelenmesi sonucu hematom oluşur. Kırık kenarlarındaki kemik ölür. Lökositler, makrofajlar, mast hücreleri sayesinde ölü kemik uzaklaştırılır. (The Netter Collection of Medical Illustrations, 1999)

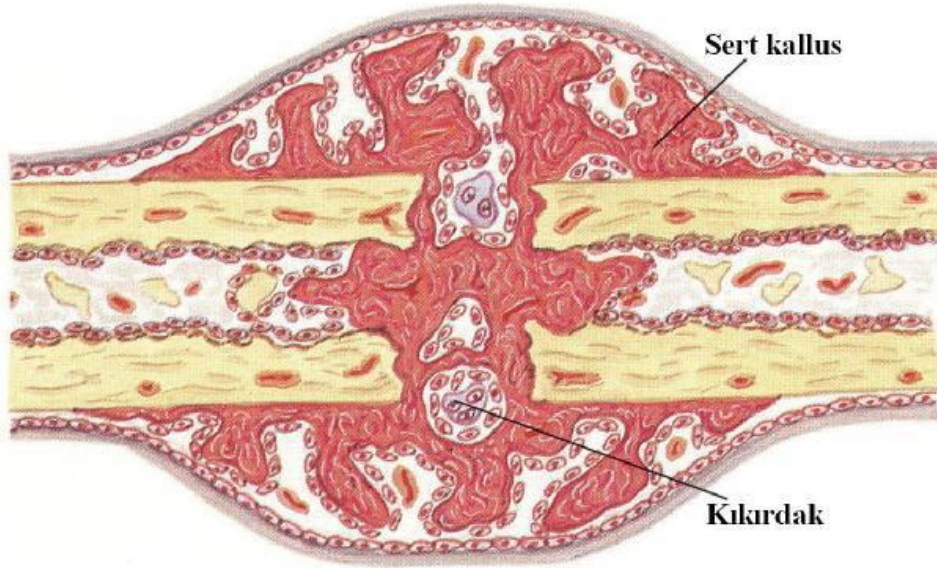
2. Onarım (Reperasyon) evresi (2-40 gün):

İnflamatuar evrede oluşan hematoma organize olunca onarım evresi başlar. Organize olan hematoma kallus formuna dönüşümü ile devam eder. Kırık hematoma içinde bulunan öncü hücreler lokal uyarıların etkisiyle fibroblast ve diğer hücrelere farklılaşırlar. Bu sayede hematoma organize olmaya başlar. Bu evrede; mezenşimal pluripotent hücreler, periosteumun iç tabakasındaki osteoprogenitör hücreler ve endosteumdaki osteoblastlar önemli rol oynarlar. Mezenşimal hücreler çoğalıp farklılaşarak fibröz doku, kırık ve birincil kemikten oluşan kemik (sert) veya fibrokartilaj (yumuşak) kallusu oluşturur. Bu da kırık uçlarını çevreleyip sabitler Onarım dokusu ortolama 7-12 gün içerisinde şekillenir[57]. Fibröz kırık ve kemik elementlerine yansıyan etkiler yumuşak kallusun büyüklüğünü belirler. Kırık uçlarında ne kadar çok hareket meydana gelirse o kadar geniş kallus dokusu oluşur. Sert kallusun gelişimi için ise osteoid mineralizasyonu gereklidir. Kırık periferinde başlangıçta intramembranöz olarak şekillenen kallus sert kallustur. Oksijen basıncının düşük olduğu santral bölgelerde ise yumuşak kallus meydana gelir. Yumuşak kallus içindeki kırık dokular da zamanla endokondral ossifikasyon yoluyla kemikleşir ve kırık uçlarının stabilitesi artar[57, 67].

Birtakım hücresel aktiviteler sonucunda kallus mineralize olur. Hücreler tarafından ilk olarak yüksek konsantrasyonda Tip I kollajen fibrilleri içeren matriks sentezlenir, sonrasında hidroksiapatit kristallerinin depolanması için uygun ortam hazırlanır. Mineralizasyonla beraber, gelişen internal ve eksternal kallusun etkisiyle kırık fragmanlarının stabilitesi giderek artar. Onarım evresinin orta kısmında, kallusun gereksiz kısımlarının rezorbe edilmesi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodelizasyon) başlar[57, 67].



Şekil 9: Kırık iyileşmesinde yumuşak kallus oluşma evresi: Pıhtı kollajen lifleri ve damarsal yapılarla organize edilir. Yeni damarlar oluşur. Osteoprogenitör hücreler, preosteositler ve periost kaynaklı osteoblastlar ile endosteum oluşur. Mezenkimal kökenli osteoblastlar ve kondroblastlar da pıhtıda görülmeye başlar. Yumuşak kallusu kıkırdak, osteoid ve kollajen karışımı oluşturur[37].



Şekil 10: Kırık iyileşmesinde sert kallus oluşma evresi: medüller, periostal ve eksternal yumuşak kallus, sert kallusa dönüşürken mineralize olur [37].

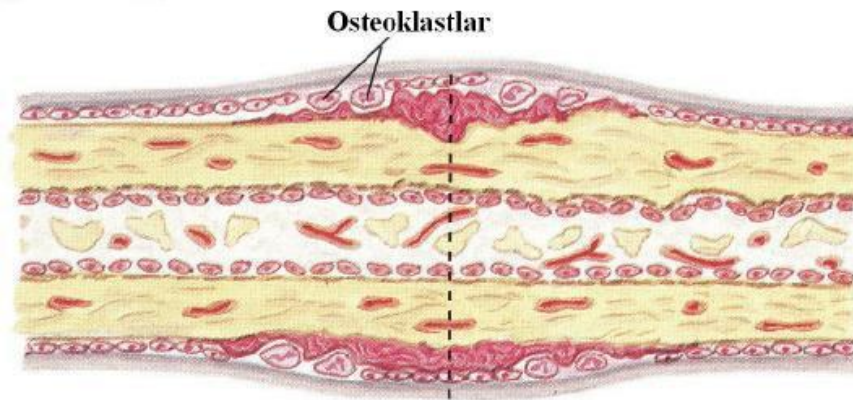
3. Yeniden yapılanma (Remodelizasyon) evresi (25-100 gün):

Kırık uçları kallus ile stabil hale getirildikten sonra oluşan tamir dokusunun fazlalık kısımları resorbe edilir. Bu evre iyileşmenin en uzun dönemidir. Yıllarca sürebilir. Kemik uçları arasındaki stres aktarım yolundaki trabeküler kemik yerini kompakt kemiğe bırakır. Bu değişim aktivasyon, rezorpsiyon ve formasyon şeklinde sıralanabilir.

Osteoblastlar PTH tarafından uyarıldığında kemiğin belirli bölgesinden çekilirler ve bu boşluklara osteoklastlar yerleşirler [68]. Osteoklastlar gerekli rezorpsiyonu yaptıktan sonra yerlerini tekrar osteoblastlara bırakırlar[69]. Bir taraftan osteoklastlar çalışırken diğer yandan da osteoblastlar yeni kemik yaparlar. Kırık çevresinde oluşan fazlalıklar rezorbe olur, medüller kanal tekrar açılır.

Kemiğin eski şeklini almasında Wolf kanunu olarak bilinen histolojik değişimlerin rolü vardır. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks tarafı pozitif, konkav tarafı ise negatif yükü yüklenir. Bu olay piezoelektriksel yüklenmedir. Pozitif yük osteoklastları uyararak kemik resorpsiyonunu, negatif yük osteoblastları uyararak kemik sentezini artırır.

Hueter-Volkmann yasası mekanik faktörlerin uzunlamasına büyüme, kemik yeniden şekillenmesi ve kırık onarımını etkileyebildiğini öne sürer. Kompresif kuvvetler büyümeyi engeller ve tensil kuvvetler büyümeyi uyarır[70].



Şekil 11: Kırık iyileşmesindeki kemik remodelizasyon evresi: osteoblastik ve osteoklastik aktivite sert kallusu lamellar kemiğe dönüştürür. Normal kemik konturları oluşur, hatta açılanma kısmi veya tam olarak düzelir[37].

2.3.3. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Mediator mekanizmalar kırık iyileşmesini kontrol eder. Bu mediatörlerin seviyesi ve aktiviteside birçok lokal ve genel faktörlere ilişkilidir [39, 71, 72].

Lokal Faktörler

Travmanın derecesi ve etkisi

Geçirilen travma ne kadar şiddetli ise kemik ve yumuşak doku hasarı o kadar fazladır. Hasarın büyüklüğünde ne kadar fazla ise buna bağlı olarak oluşan nekrotik dokuda fazla olur, bu nekrotik doku iyileşme için gerekli mezenkimal hücre göçünü ve vasküler invazyonunu engeller[73]. Açık kırıklarda kırık hematomu dışarı boşalır ve enfeksiyon riski yüksektir. Enfeksiyon riskinden dolayı kaynama olumsuz yönde etkilenir [31, 72].

Kırık uçlarının birbirine göre konumu

Kırık uçlarının birbiri arasındaki mesafe kırık kaynaması üzerindeki etkisi büyüktür, kırık uçları birbirinden ne kadar uzaksa kaynama da o oranda yavaş olur. Çünkü kırık uçları arasındaki kallusun kanlanması periosttan kaynaklanan yeni damarların gelişmesiyle mümkündür [74]. Kırık kemik uçları arasına yumuşak doku girmesi de kaynamayı geciktiren bir faktördür[31].

Kırık yerinin kanlanması

Cerrahi diseksiyonun fazla yapılması ile kanlanması bozulan veya kanlanması az olan kemiklerin (skafoid, talus, tibia distal 1/3' ü) kaynaması daha geç olur [31, 72].

Kırılan kemiğin türü

Kırılan kemiğin spongioz ya da kortikal olması da kaynamayı etkileyen faktörlerdendir. Yüzey alanın fazla olması hücresel bakımdan zengin ve kanlanmasının iyi olması nedeni ile spongioz kemik daha kolay iyileşir[75]. Kortikal yapısı zengin olan kemiklerde kırık uçları ancak yeterli kompresyon sayesinde yani sıkı temas varlığında kaynama imkanı bulur. Ancak tespitin yetersiz, temasın az olduğu durumlarda eksternal kallusla uzun sürede iyileşme sağlanır[42].

Kırığın şekli

İntramedüller kanlanma etkilendiği için Segmenter kırıklarda kaynama daha geç olur[76]. Spiral ve oblik kırıklarda kırık yüzey alanı geniş olduğundan, kaynama alanında geniş ve hızlıdır. Bu tür kırıklarda damarlar aynı seviyede yaralanmadığı için beslenme transvers kırığa göre daha iyidir[74]. Eklem içi kırıklarda kırık redüksiyonun yapılabilmesi için kırık hattı çoğu zaman açılır, lokal kanlanma bozulur. Eklem içindeki sıvısının enzimatik içeriği mevcuttur, buda kırıklarda kaynamayı olumsuz yönde etkileyen bir diğer nedendir[31, 72].

Enfeksiyon

Kırık yerinde enfeksiyon gelişmesi veya enfeksiyon olan yerde kırık oluşması kaynamayı güçleştirir. Enfeksiyon bir yandan oluşan granülasyon ve kemik dokuyu bozarken diğer yandan fibröz doku ve skar dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini bozar[77]

Lokal patolojik koşullar

Kemiğin elastik yeteneğinin kaybolmasına bağlı olarak küçük bir travma ile kırık oluşabilir. Bu tür patolojik kırıklara; dejeneratif, metabolik, enfeksiyöz durumlar, radyoterapi ve tümör sonrasında da rastlanabilir. Kemikte enfeksiyon veya malign tümör olduğunda iyileşme hücreleri gerektiği şekilde görev yapamazlar bundan dolayı iyileşme gecikir. Osteoporozun esas olarak kırık kaynamasına olumsuz etkisi yoktur. Ama kırık uçlarının arasında temas yüzeyi azlığı nedeniyle ve kemik kalitesine bağlı fiksasyonun yeterince stabil olmamasından kaynaklı kaynama geç olur[31, 72]. Bu patolojik kırıkların tedavisinde öncelikle mevcut olan problem düzeltilmelidir. Radyoterapi yapılmış kemiklerde kırılabilirlik artar iyileşme görülmeyebilir. Kemikleşme için gerekli olan kapiller oluşamaz[4]. Radyoterapi verilen sahada hücre ölümü, damarlarda tromboz, kemik iliğinde fibrozis oluşur buda iyileşmeyi geciktiren nedenlerdendir[78].

Genel Faktörler

Yaş

İskelet sistemi gelişimini tamandıktan sonra yaş ile kırık kaynaması arasında bir bağlantı kalmaz. İnfantlardaki kaynama hızı adölesanlara, adölesanlardaki kaynama hızı ise erişkinlere göre fazladır. Bunun sebebi yeni damar oluşum hızının yüksek ve farklılaşmamış mezenkimal hücre sayısının fazla olmasıdır [40]. Artan yaşla orantılı olarak mezankimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmeside yavaşlar[32, 77].

Genel durum

Diyabet, raşitizm, anemi, tüberküloz gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. Dolaşım sistemi hastalıklarında oluşan hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur, buda dolayı yollardan kırık iyileşmesine olumsuz yönde etki eder[40]. Diyabetiklerde encondral kemikleşme sırasında mezenkimal hücre gelişmesinin inhibe olduğu ve kırık oluşumunun geciktiği bildirilmiştir[73]. Beslenmenin de kırık iyileşmesi üzerinde etkisi vardır. Doku yapımı için proteine ve sentez işlemi için de enerjiye gerek vardır. Tek bir uzun kemik kırığının iyileşmesi metabolizmaya %20-25 enerji yükü getirir[79]. Travma sonrası gerekli olan artmış beslenme ihtiyacının karşılanamaması durumunda enfeksiyon, cerrahi komplikasyonlarda artış, gecikmiş kemik iyileşmesi, kötü rehabilitasyon ve hatta mortalite meydana gelebilmektedir.

Hormonlar

Vücutta kalsiyum dengesini sağlayan asıl hormon PTH'tır. PTH kemik rezorpsiyonunu, böbrekten kalsiyum geri emilimini ve böbrekte kalsitrol yapımını artırarak serum kalsiyum düzeyini düzenler. Aralıklı verildiği zaman kemik yapımını uyarır. Devamlı verildiğinde kollajen yapımını baskılar, osteoklastlar aracılığı ile kemik yıkımını artırır [80]. PTH osteoklast sayısını artırır, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarır ve osteositleri uyararak osteolizi hızlandırır. PTH osteoblastlar üzerinden rezorpsiyon etkisi gösterir. İnaktif olan osteoblastlar PTH tarafından uyarılarak aktif hale gelir ve kemik yüzeyinde osteoklastların yapışabilecekleri boşluklar hazırlarlar[40, 81]. Kalsitonin esas olarak tiroid bezinin parafoliküler-C hücrelerinde sentezlenir.

Kalsitoninin en önemli etkisi plazma Ca^{+} konsantrasyonunu düşürmektir. Ekstrasellüler Ca^{+} düzeylerinde artış olması kalsitonin yapım ve salınımını uyarır. PTH'nın etkilerine zıt şekilde çalışır, osteoklastik aktiviteyi ve kalsiyumun kemikten mobilizasyonunu inhibe eder. Kemik yapımını artırır[40, 72, 81]. İnsülin anabolik etki gösteren bir hormondur. Kollajen yapımını uyarır. Somatomedin reseptörleri üzerinden indirekt yolla etki ederek kemik yapımına katkıda bulunur[82, 83]. Büyüme hormonu, büyüme ve gelişmeyi protein sentezi ile büyüme hızını artırarak yapar. Kemik formasyonuna katkıda bulunur. Kallus hacminin artışına neden olur[71, 72]. Kortikosteroidler, kırık iyileşmesini geciktirirler. Bu etki osteoblast gelişiminin yavaşlamasına ve matriks protein sentezinin azalmasına bağlıdır. Kallusun oluşumunu yavaşlatır, somatomedin sentezini inhibe ederler[40, 72]. Ayrıca PTH reseptör sayısını ve G protein miktarını artırarak PTH'a duyarlılığı artırır. Sonuç olarak kemik yıkımında artış olur[84]. Gonadal steroidler, her iki cinsiyetin kemik gelişiminde ve bütünlüğünün korunmasında önemlidir. Östrojen epifiz kapanması için mutlak gerekli iken, androjenler kas gücünü artırarak ya da dolaylı olarak kemik yapımını uyararak etkili olurlar. Menapoz sürecinde östrojen seviyeleri azalır, bunun sonucunda kemikte rezorbsiyon artışı olur. Bu etkide östrojen reseptörü taşıyan osteoklastların bir rolü olabileceği düşünülmektedir[81, 84]. Tiroid hormonları, hem kemik yıkımı, hem de yapımını uyarır. Hipertiroidide kemik döngüsü artar ve kemik kaybı oluşur. Kemikğin yeniden şekillenmesinde de rol alır[40, 84].

Vitaminler

A vitamini normal dozda mezankimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine olumlu yönde etki eder. Eksikliğinde osteoblast ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir[47]. A vitamini fazlalığında ise hücre farklılaşması yavaşlar. Kırıkta erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir[40]. C vitamini, kollajen sentezine katkısından dolayı kemik iyileşmesini olumlu etkiler[85]. D vitamini normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlanmasına yol açar. Böbreklerden kalsiyum ve fosfat geri emilimini artırır. Dolaylı yollarla barsaklardan fosfat emilimini artırır ve matriks mineralizasyonunu kolaylaşmasına yol açar. Kalsiyumun kemikten kana geçişini artırır, bu etkisi PTH varlığında daha da belirgindir. D vitamini eksikliğinde Ca^{+} düzeyi düşer ve kemik

kalsifikasyonu zayıflar. Kemik hücreleri ve diğer bazı dokularda sitrat konsantrasyonunu artırır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol alır. Aşırı dozda ise olumsuz etkisi vardır[40].

İlaçlar

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar prostoglandin inhibisyonu sonucunda lokal kan akımını azaltarak veya primitif osteoblastların fonksiyonunu engelleyerek ossifikasyonu geciktirirler.

Yüksek dozlarda indometazin kırıktan iyileşmesini durdurduğu bilinmektedir. Antibiyotikler matriks dejenerasyonunu azaltır. Kollajen yapımını etkiler ve bunun sonucu olarak da bükme kuvvetlerine karşı dirençte azalma meydana getirirler.

Dikumoral, kondroitin sülfat ve hyalüronidaz; kırık iyileşmesine yardımcı olur. L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir.

Diğer etkenler

Redüksiyonu sağlanmış olan kırıkta oluşacak sekonder hareketlenmeler yeni oluşmuş damarların parçalanmasına ve kırık kallusunun kanlanması bozulmasına sebep olur. Bunun dışında kemikleşme sırasında oluşan fibrin köprülerin de bu hareketle zarar görmesi iyileşmeyi geciktirir^[11][33].

Lokal olarak uygulanan elektriksel uyarılar kaynamayı hızlandırabilir. Elektriksel alan hücre proliferasyon ve sentez fonksiyonunu hızlandırarak kaynamayı olumlu yönde etkiler [85].

Düşük doz lazer uygulanmasının biokimyasal, radyolojik, morfolojik ve ultrastrüktürel olarak kırık kaynamasını olumlu etkilediği hayvan deneylerinde gösterilmiştir[86].

Yapılan çalışmalarda düşük şiddette ses dalgalarının kaynamayı hızlandırdığı gösterilmiştir. Bu kaynama hızlanması hem taze kırıklarda hem de kaynaması gecikmiş kırıklarda gözlenmiştir [73].

Vücut dışında çoğaltılmış mezenkimal kök hücrelerin vücuda ekildiklerinde ektopik osteokondrojenik potansiyele sahip oldukları gösterilmiştir[87].

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışma deneysel bir çalışma olup çalışma öncesi, çalışma için gerekli izinler T.C. Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alındı. Biz bu deneysel çalışmamızda gebelik ve laktasyon döneminin oluşturulan rat femur kırık modellerinde iyileşme üzerine etkilerini inceledik. Bu amaçla 40 adet Wistar-Albino tipi dişi rat Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Wistar -Albino tipi ratlar 10-12 haftalıktan büyük olacak şekilde ayrılmıştır. Ağırlıkları 200-250 gram arasında olan dişi ratlar seçildi. Çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde (MKÜ- DETAUM) yapıldı. Deney hayvanları gebe olmayan dişi ratlar kontrol grubu ve gebe olan dişi ratlar çalışma grubu olarak iki gruba ayrıldı (tablo 3.).

	Rat sayısı
Kontrol	20
Çalışma	20

Tablo 3. Deney hayvanları dağılım tablosu

Kontrol grubu gebe olmayan dişi rat ve çalışma grubu gebe olan dişi ratlara çalışma boyunca herhangi bir diyet kısıtlaması yapılmamıştır. Femur kırığı oluşturulan bütün sıçanlara peroperatif 50 mg/kg tek doz sefazolin sodyum (Sefazol®, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi, İstanbul) uygulandı. Denekler fizyoloji laboratuvarındaki optimal rat barınağında, ortalama 22 °C sıcaklıkta ve 12 saat ışık-12 saat karanlık ortamda olacak şekilde muhafaza edilmiştir. Kuru fare yemi ile beslendi. Gebe olan ratların normal doğum süreleri olan 3.hafta sonunda doğum yapmalarına olanak sağlandı. Doğum sonrası 3 hafta olan laktasyon dönemi boyunca yavruları emzirilmek üzere yanlarına bırakıldı. İki gruptaki ratlar 6. haftada yüksek doz Ketamin HCL ve Xylazine verildikten sonra servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edilerek sağ

femurları kalçadan dezartiküle edildi, deneyler sonlandırıldı. Biyomekanik, histolojik ve radyolojik olarak değerlendirildi. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

3.1. Ratların Gebe Kalması ve Gebeliklerinin Tespiti

Çalışmaya daha önce hiç doğum yapmamış 42 dişi rat dahil edildi. Ratların normal üreme siklusuna sahip olduğunu belirlemek amacıyla herbirinden vajinal smear örnekleri alındı. Ratların üreme sikluslarının hangi safhada oldukları tespit edildi. Estrus safhasında dişi ratlar erkek ratlar ile bir gün boyunca çiftleştirilmek amacı ile aynı kafese konuldu, ertesi gün erkek ratlar kafesten alındı. Çiftleştirilen dişi ratların her birinin vajinasından pipet kullanılarak vajinal sekresyon alındı. Alınan sekresyon lam üzerine yayıldı, sonra mikroskop altında incelendi. Mikroskop görüntüsünde sperm tespit edilen ratlar gebe ve gebeliğinin 0. günü olarak kabul edildi. Vajinal inceleme yapılırken vajinal perde tespit edilen ratlar ise vajinal sekresyonu mikroskopta incelemeye gerek kalmadan gebe olarak kabul edildi.

Gebe kalması için çiftleşmeye konulan kullanılan 42 dişi ratın 16 tanesinde vajinal smearda sperm görüldü 4 tanesinde ise vajinal perde mevcuttu. Toplam 20 rat gebe olarak kabul edildi. Gebe olarak kabul edilen ratlar gebeliğin 7. gününde karın muayenesi yapılarak tekrar gebelikleri teyit edildi.

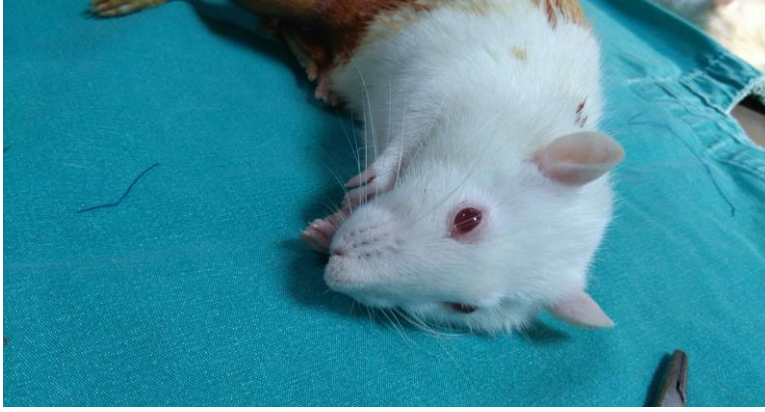


Resim 1. Dişi ratları n gebelik tespitleri

3.2. Cerrahi Teknik

Anestezi

Her bir deneğin ağırlığı tek tek elektronik tartı ile tartıldı ve anestezi ilaç dozları belirlendi. Cerrahi öncesinde sıçanlar 4 saat aç bırakıldı. Anestezi olarak ratlara 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar ®, Pfizer-USA) ve Xylazine(Rompun®, Bayer, Türkiye) 10 mg/kg kombinasyonu intraperitoneal olarak sağ kasık bölgesinden verilerek genel anestezi sağlandı. Gerekli durumlarda ameliyat esnasında ilave doz olarak 15 mg/kg ketamine HCl yapıldı.



Resim 2. Ratlara anestezi verilmesi

Cerrahi İşlem

Ratlara anestezi uygulandıktan sonra sağ bacakları cerrahi alana traş yapıldı. Betadine scrub (10% povidoneiodine, Merkez-Türkiye) solüsyonu ile lokal saha temizliği yapıp uygun örtünme sağlanarak steril alan oluşturuldu.



Resim 3. Ratların cerrahi alan traşlanması ve betadine ile local saha temizliği

İşlem öncesi ve sonrasında profilaktik antibiyoterapi olarak 50 mg/kg Sefazolin sodyum (Sefazol flk. ®, Mustafa Nevzat, İstanbul) intramuskular enjeksiyonu yapıldı. Femur cisim lateralinden 3 cm'lik longitudinal insizyon yapıldı, kas yapıya ulaşıldı.



Resim 4. Cilt ve ciltaltı insizyonu

Fasia geçildi ve kas dokusuna ulaşıldı. Kaslar künt disseksiyon ile disseke edilerek femur shaftı ortaya konuldu.

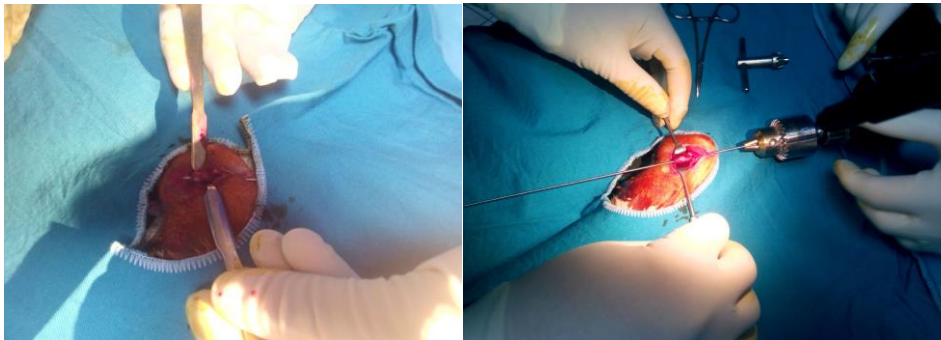


Resim 5. Kas dokusunun künt disseksiyonu

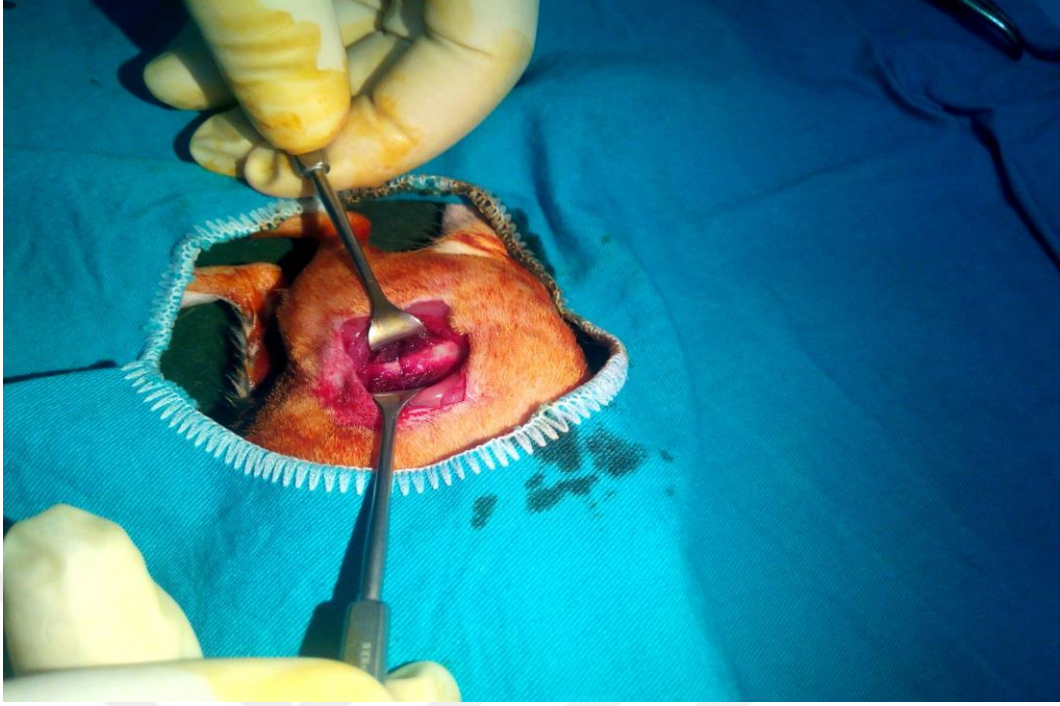


Resim 6. Femur shaftının ortaya konması

Femur shaft ortasından, kemik makası ile açık kırık oluşturuldu. Kırık hattından distale doğru anterograd olarak 2 mm'lik Kirschner teli (K-wire) pilli matkap yardımı ile diz hiperfleksiyondayken ilerletildi ve patellar ligamentin medialinden çıkması sağlandı. Tel distale doğru çekildi ve kırık hattı redükte edildikten sonra retrograd olarak proksimale doğru ilerletildi. Kanal içinde olan telin dışarıda kalan kısmı tel kesme makası yardımı ile kesildi. K telinin dizde ve kalçada cildi rahatsız etmemesine dikkat edildi. Kırık hattında stabilitenin kontrolü yapıldı.

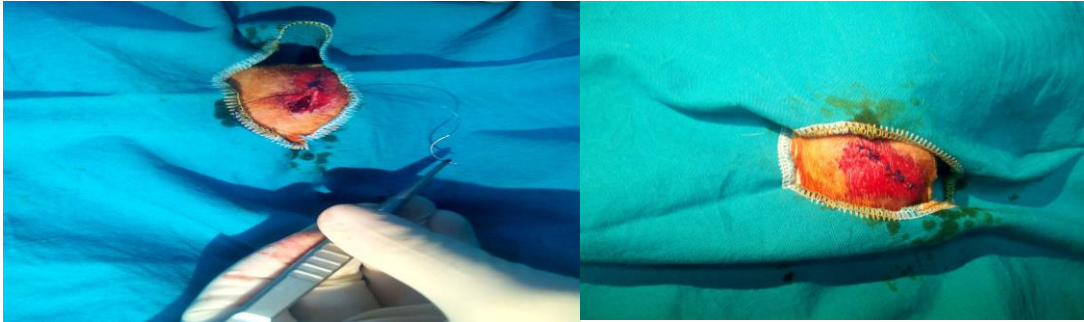


Resim 7. Kırık hattından pilli motor yardımı ile retrograde k-teli gönderilmesi ve kırık tespiti sağlanması



Resim 8. Kırık tespiti kontrol edilmesi

Açılan insizyon yeri kemik tespiti yapıldıktan sonra steril 10 cc SF ile yıkanmıştır ve 2/0 ipek ile primer basit suture tekniği ile dikilmiştir.



Resim 9. İnsizyonunun primer sutureasyonu

Daha sonra yara yeri povidon iodür ile silinerek ameliyata son verildi. Cerrahi işlem sonrasında tüm ratların kafeslerinde atelsiz serbest hareket etmelerine izin verildi.



Resim 10. İnsizyonunun betadine ile temizlenmesi ve ratların serbest halde bir rakı olması

Ratların bakımları ve beslenmeleri Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında, veteriner hekim kontrolünde ve bakım sorumluları tarafından sağlandı. Gebe ratların 3. Haftada doğum yapmaları sağlandı, doğum sonrası 3 hafta yavruları emzirilmek üzere yanlarında bırakıldı. Bütün ratlar işleminden 6 hafta sonra sakrifiye edildiler. Sakrifikasyonamacı ile aşırı doz anestezi (100mg/kg Ketamin) uygulandıktan sonra servikal dislokasyon uygulandı. Sakrifiye edilen deneklerin femurları eski insizyon yerinden girildi, kalça ve dizden dezartiküle edilerek ve çevre yumuşak dokulardan temizlenerek eksize edildi.



Resim 11. Femurun kalça ve dizden dezartiküle edilip çevre yumuşak dokulardan temizlenmesi.

Eksize edilen femurlar biyomekanik, radyolojik ve histopatolojik çalışma yapılmak üzere %10 tampon formalinsolüsyonuna yerleştirildi.

4. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

4.1. Biyomekanik Değerlendirme

Test için 6. haftada sakrifiye edilen kontrol grubundan 10 adet rat, çalışma grubundan 10 adet rat çalışmaya alındı. Sakrifiye edilen ratlardan tüm yumuşak dokuları disseke edilerek ve bütünlüğü korunarak alınan femurlar vakit kaybetmeden oda sıcaklığında (23°C) ÜNE (üç noktadan eğme) testine tabi tutuldular. Bu test MMK Holding mekanik laboratuvarında bulunan ZWICK/Z100 çekme makinesine (Zwick Roell AG, Ulm, Germany) cihazına ek 2 aparat yerleştirilerek yapılmıştır.



Resim 12. Biyomekanik ölçümlerin yapıldığı ZWICK/Z100 çekme makinası

Femurlar eğilme kuvveti ön-arka planda olacak şekilde alttaki aparat serbest olarak yerleştirildiler. Mesnet aralığı 20mm dir. Çekme kuvveti aparata yerleştirilmiş olan rat femurlarının orta kısmına, kallus hattına gelecek şekilde simetrik tarzda uygulandı.



Resim 13. Çekme makinesine aparatların ve kemiklerin yerleştirilmesi

Femurlara uygulanan çekme kuvvetine 0 N (Newton) ile başlandı. Ağırlık artırımını 20mm/dk olacak şekilde femurlar kırılıncaya kadar devam edildi. Kırılma noktasında uygulanan nihai yük sisteme bağlı bilgisayar tarafından kaydedildi.

4.2. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan 40 adet ratın 20 tanesi 6.haftada sakrifiye edildikten sonra, her gruptan 10'ar rat olacak şekilde 2 ayrı gruba ayrıldı. Sakrifiye edilen her denekten çevre yumuşak dokular temizlendikten sonra alınan femurlar, M.K.Ü Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda %10'luk nötral formolin solüsyonu içinde 48 saat saklandı. Daha sonra spesmenler %10' luk formik asit solüsyonu içinde dekalsifiye edildi. Yaklaşık bir hafta içinde dekalsifiye olan femurlar ototeknikonda dehidrasyon, şeffaflama ve parafinizasyon aşamalarından geçirildikten sonra parafin içine gömülerek bloklandı. Kırık hattına dik geçen ve kallus merkezine yakın 5-6µm kalınlığında longitudinal kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eosin (H.E) boyasıyla boyandı. Bu şekilde hazırlanan preparatların histolojik değerlendirmesi doku mikrografları dijital

fotograf makinesi bağlantılı binoküler araştırma mikroskobu ile patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Tüm preparatlar fibröz doku, kırık, yeni kemik ve olgun kemik oranlarına göre Huo ve arkadaşlarının önermiş olduğu skala ile değerlendirildi [88] (tablo.4).

Bu skalaya göre;

Tablo 4:Histopatolojik değerlendirmede kullanılan skorlama sistemi

Grade	Histolojik bulgular
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz doku, az miktarda kırık
3	Esit oranda fibröz ve kırık doku
4	Ağırlıklı kırık, az miktarda fibröz doku
5	Kırık doku
6	Ağırlıklı kırık, az miktarda immatür kemik
7	Esit oranda kırık ve immatür kemik doku
8	Ağırlıklı immatür kemik, az miktarda kırık doku
9	immatür kemik ile kırık iyileşmesi
10	Matür kemik ile kırık iyileşmesi

4.3 Radyolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan 40 adet ratın diğer 20 tanesi 6.haftada sakrifiye edildikten sonra, her gruptan 10'ar rat olacak şekilde 2 ayrı gruba ayrıldı. Sol femurları kalça ve dizden dezartiküle edildi. Femurlar yumuşak dokulardan kabaca sıyrıldıktan sonra röntgen kasetlerine yerleştirilerek ön-arka ve yan planda, tüp mesafesi 40 cm, kullanılan enerji düzeyi 40 kV, 100 mA/0.03 sn olacak şekilde femur grafileri çekildi. Bu grafiler daha objektif olabilmesi için birden çok Ortopedi ve Travmatoloji ile Radyoloji bölümünden ayrı ayrı uzman doktorlar tarafından değerlendirilerek Lane ve Sandhu'nun [89] radyolojik skorlama sistemi ile sayısal olarak puanlandırıldı (tablo.5).

Tablo.5 : Radyolojik değerlendirmede kullanılan skortama sistemi

Skor	Radyolojik bulgular
0	İyileşme yok
1	Kallus formasyonu
2	Kaynama başlangıcı
3	Kırık hattının kaybolmaya başlaması
4	Tam kaynama

5. BULGULAR VE İSTATİKSEL ANALİZ

5.1. Biyomekanik Bulgular

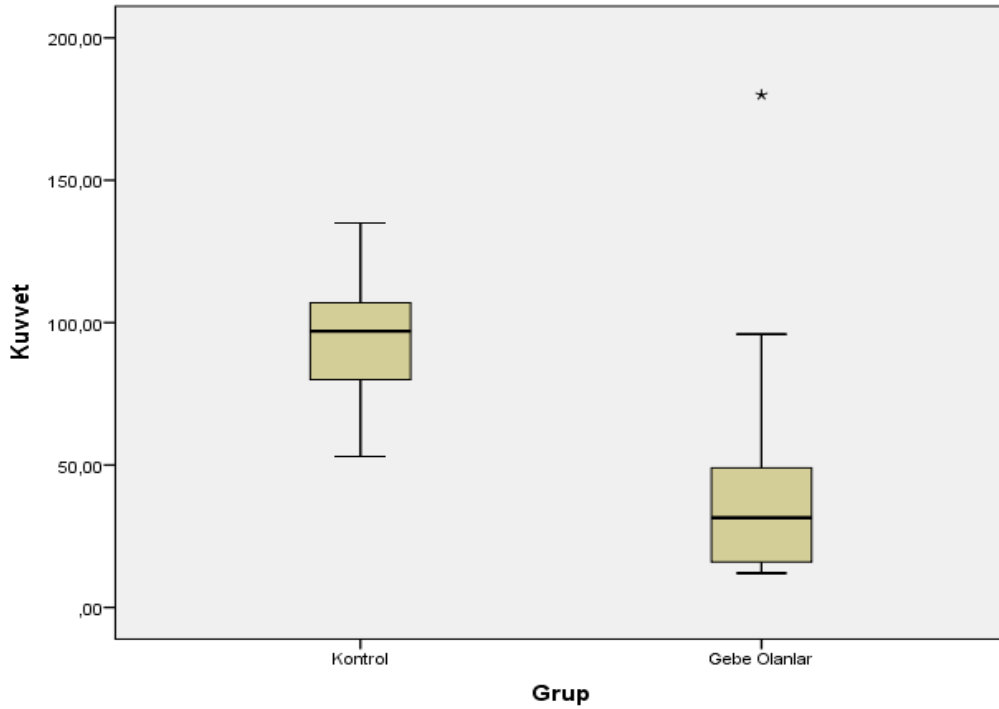
Biyomekanik çalışma için çalışma başlandıktan sonraki 6. haftada kontrol grubu ve çalışma gruplarından alınan 10'ar adet rat sakrifiye edildi. Femurlar yumuşak dokudan temizlendi, sonra vakit kaybetmeden üç nokta bükme testine (three point bending) testine tabi tutuldu. İntramedullar materyal çekildikten sonra hem kontrol grubundaki hem çalışma grubundaki rat femurunda teste cevap verecek ölçüde bütünlük mevcuttu. Test sırasında kallus dokularının bükülme testine verdikleri cevap ölçülüp grafiklendi. Tablo 6 da her iki grubun biyomekanik çalışma sonunda elde edilen kırılma kuvvetlerinin newton cinsinden değerleri görülmektedir.

Tablo 6. Biyomekanik değerlendirme sonuçları (Newton olarak)

	Kontrol grubu (gebe olmayan)	Çalışma grubu (gebe olan)
Rat 1	102	96
Rat 2	80	16
Rat 3	107	31
Rat 4	135	180
Rat 5	27	12
Rat 6	125	19
Rat 7	102	48
Rat 8	86	32
Rat 9	92	49
Rat 10	53	14

6. hafta çalışma ve kontrol gruplarının biyomekanik çalışma verileri ilk olarak grafiğe döküldü(Şekil 12). Kontrol grubu ile çalışma grubunun biyomekanik verilerin

karşılaştırılmasında IBM SPSS 23.0 versiyon (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) yazılım programı kullanıldı. Bütün istatistiklerde $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi. $P = 0.008$ olduğu için istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Bu da gebelik ve laktasyon döneminin kırık kaynaması üzerine olumsuz etki ettiğini, gebe olmayan dişilerde kırık kaynamasının daha güçlü olduğunu gösterdi.



Şekil 12. Biyomekanik sonuçların ortalama kuvvet değerlerini gösteren grafik

5.2. Histopatolojik Bulgular

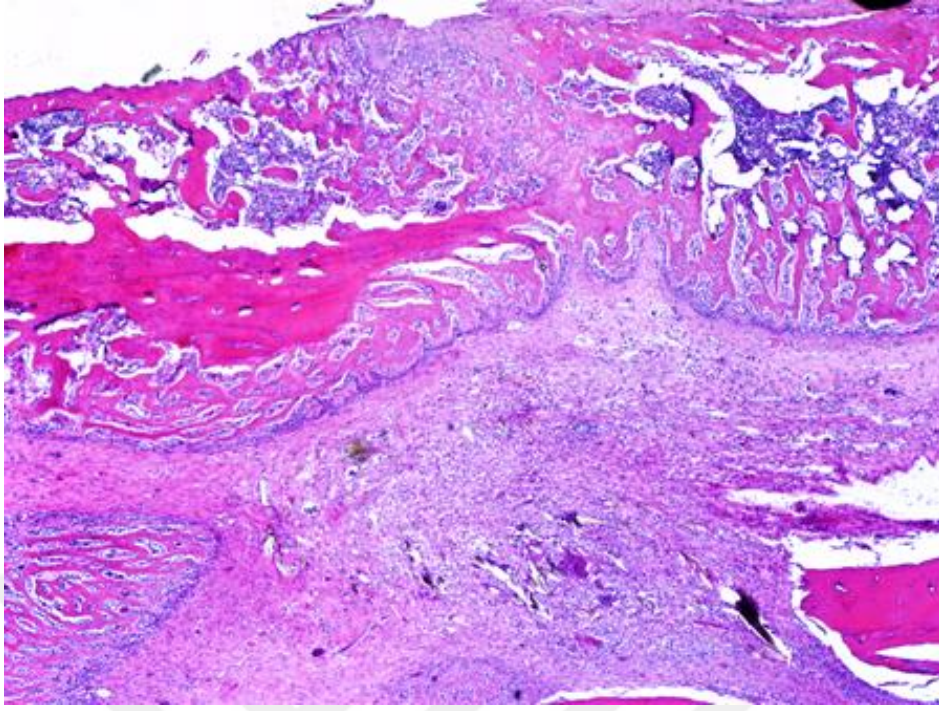
Çalışmanın 6. haftasında sakrifiye edilen femurlar materyal ve metod bölümünde anlatıldığı şekilde histolojik inceleme için hazırlandı. Her bir femurdan longitudinal olarak dört adet kesit alındı. Her bir kesit Huo ve arkadaşları tarafından tariflenen şekilde skorlandı[88]. Kontrol grubundan alınan örneklerdeki kallus oluşumu büyük oranda düzenli bir görünüme sahipti ve çoğunluğunun matür kemik dokusu ile iylemiş olduğu görüldü. Çalışma grubundan alınan örneklerde ise daha çok fibröz doku yapımı, kıkırdak doku ve immatür kemik yapıları izleniyordu.

Kontrol grubundaki ratlardan alınan femurların histolojik değerlendirmelerinin ortalama skoru 9 iken çalışma grubundaki ratlardan alınan femurların histolojik değerlendirme ortalama skoru 6,6 olduğu tespit edildi. Her iki gruba ait histolojik skor dağılımı tablo 7 de verilmiştir.

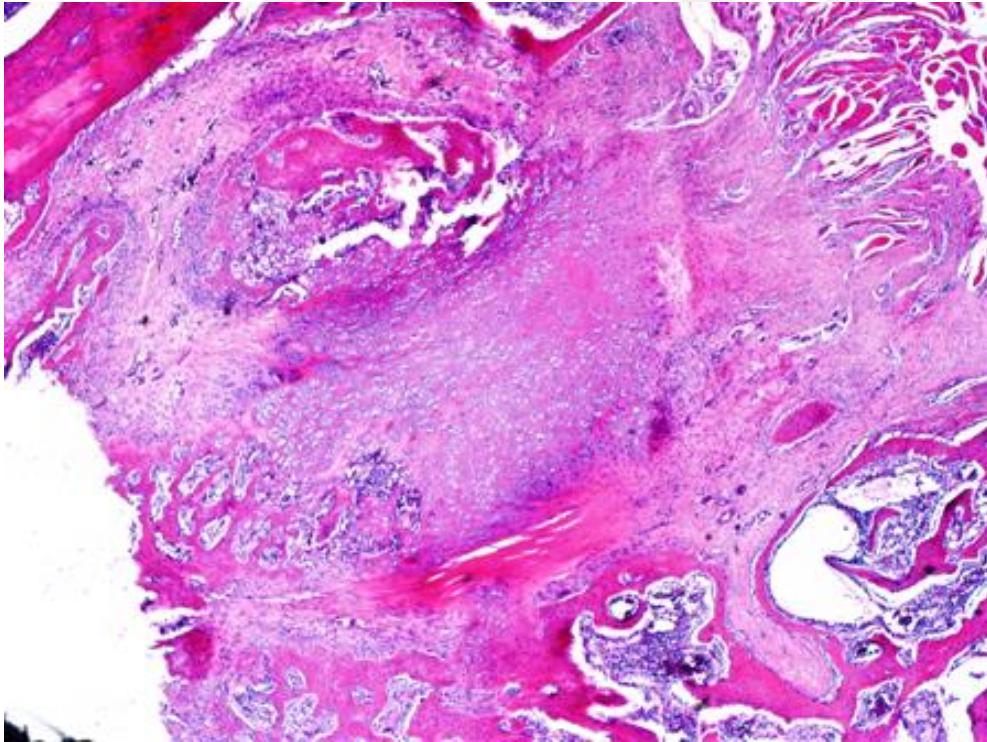
Tablo 7. Histopatolojik değerlendirme sonuçları

	Kontrol grubu (gebe olmayan)	Çalışma grubu (gebe olan)
Rat 1	9	10
Rat 2	8	8
Rat 3	10	8
Rat 4	8	7
Rat 5	10	6
Rat 6	10	6
Rat 7	7	6
Rat 8	8	6
Rat 9	10	6
Rat 10	10	6

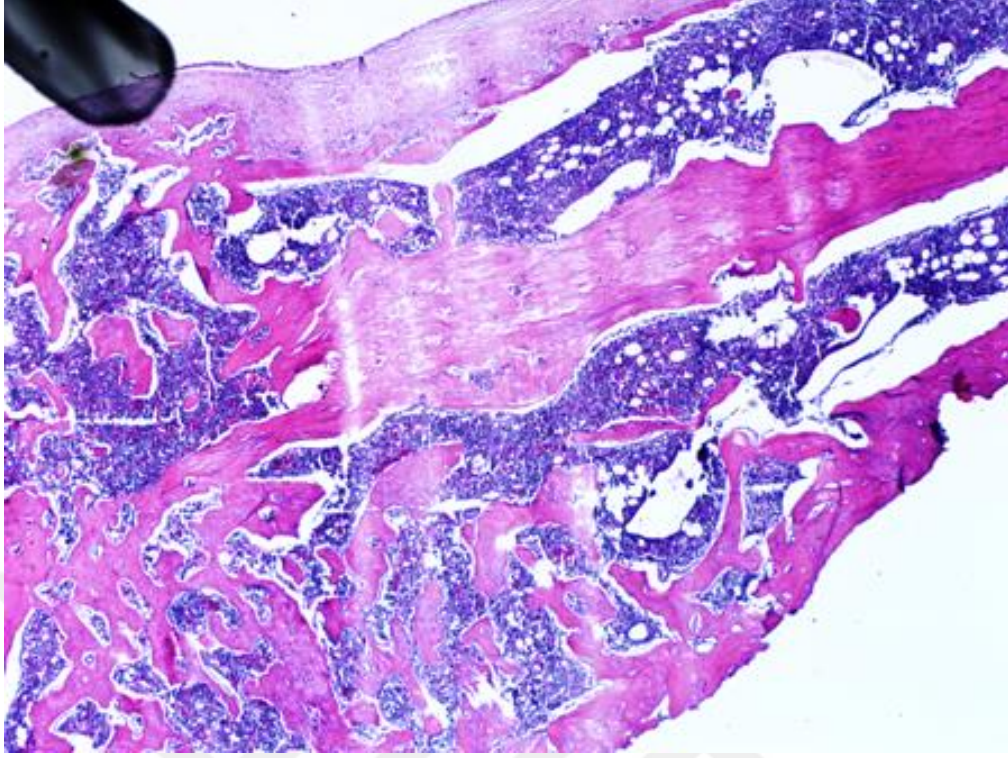
İstatistiksel analiz, çalışma gruplarından alınan veriler ile kontrol grubu verileri arasında IBM SPSS 23.0 versiyon (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) yazılım programı kullanılarak yapıldı. Bütün istatistiklerde $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi. $P = 0,004$ olarak bulundu. Bu da histopatolojik olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu gösteriyordu. Bu bize yine gebelik ve laktasyon döneminin kırık iyileşmesi üzerinde histopatolojik olarak olumsuz etkisi olduğunu, gebe olmayan ratların kırıklarının daha olgun kallus dokusu ile iyileştiğini, gebe olan rat kırıklarının daha çok fibröz doku ve kırık zemininde immatür kemik ile iyileştiğini gösterdi.



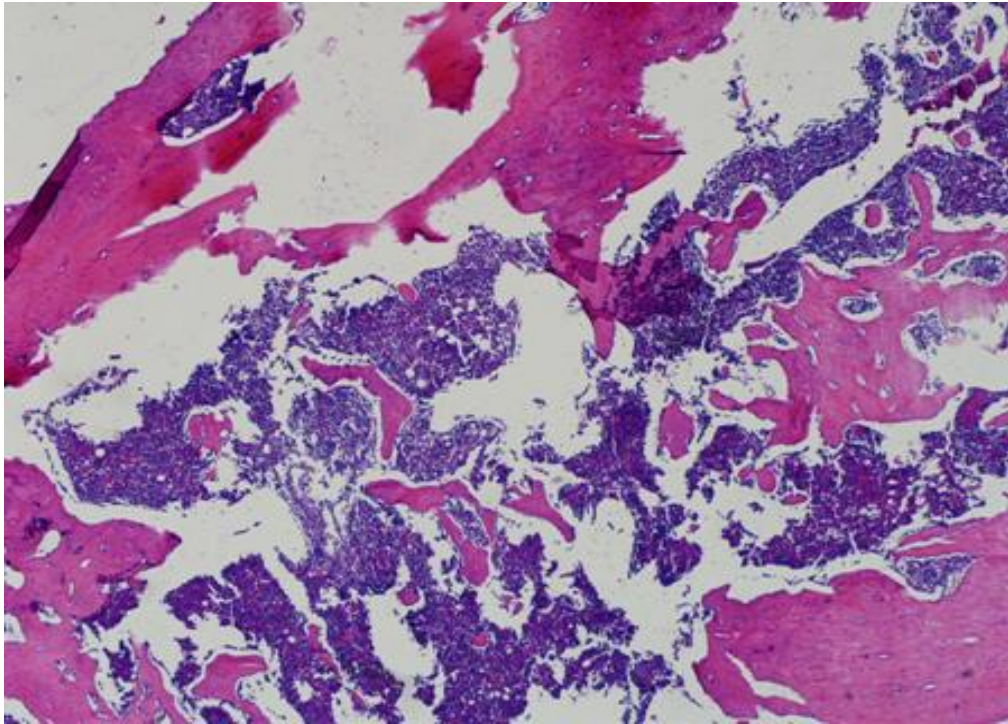
Resim 14. Çalışma grubunda az miktarda kıkırdak doku arasında immatür kemik



Resim 15. Çalışma grubunda ağırlıklı olarak kıkırda çok az miktarda immatür kemik



Resim 16. 6.hafta Kontrol grubunda yaygın İmmatür kemik dokusu



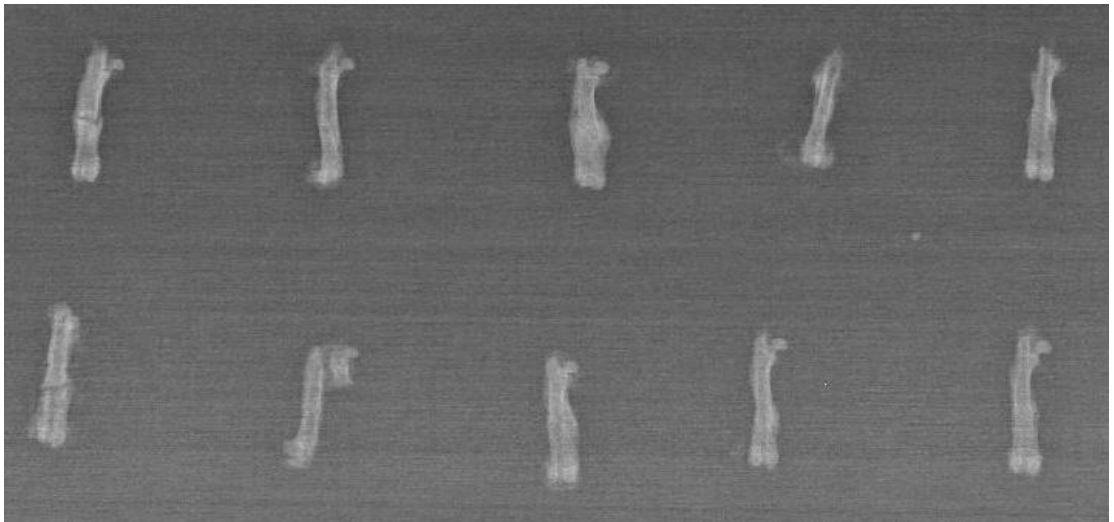
Resim 17. 6.hafta Kontrol grubunda Matür kemik alanları

5. 3 Radyolojik Bulgular

Ortopedist ve radyolologların ortalama puanları deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmadı. Ortopedist karşılaştırma $p= 0.118$ radyolog değerlendirme $p=0.071$ olarak bulundu (Tablo 8).

Tablo 8. Radyolojik puanlarının ortalama değerleri

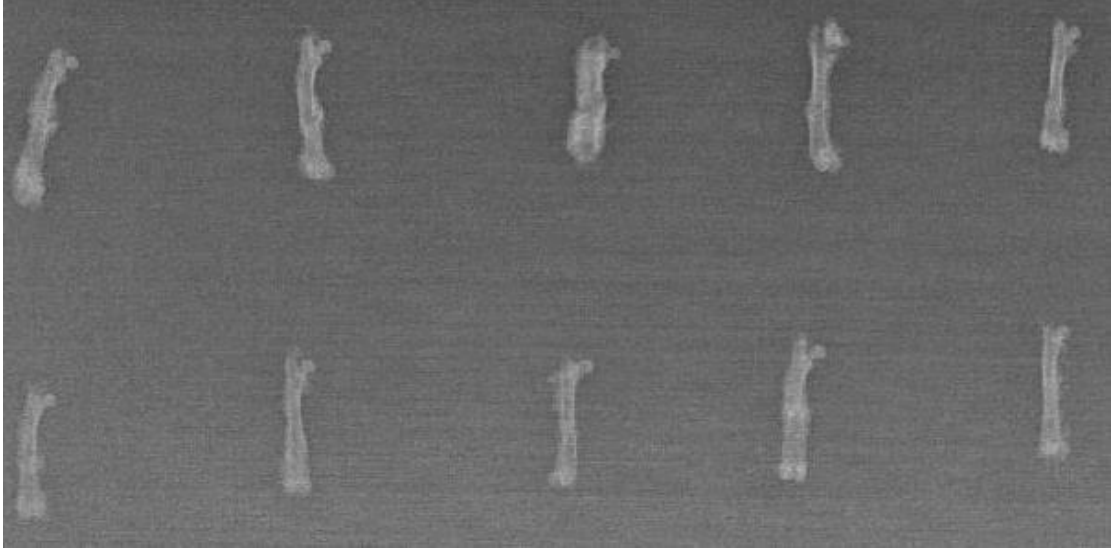
	Kontrol grubu (gebe olmayan)	Çalışma grubu (gebe olan)
Rat 1	2	2,5
Rat 2	3,5	3
Rat 3	2,5	2
Rat 4	4	2
Rat 5	1	1
Rat 6	3	2,5
Rat 7	4	1,5
Rat 8	2,5	2
Rat 9	3,5	1
Rat 10	0,5	1



Resim 18. Kontrol grubunda 6. hafta direk grafi



Resim 19. Kontrol grubunda 6. hafta tek kemik direk grafi



Resim 20. Çalışma grubunda 6. hafta direk grafi



Resim 21. Çalışma grubunda 6. hafta tek kemik direk grafi

Tablo 9 . Biyomekanik, histopatolojik ve radyolojik bulguların analiz p değerleri

	BİYOMEKANİK	PATOLOJİ	RADYOLOJİ- RAD	RADYOLOJİ- ORT
Mann-Whitney U	19,000	13,500	27,000	30,000
Wilcoxon W	74,000	68,500	82,000	85,000
Z	-2,344	-2,843	-1,806	-1,563
Asymp. Sig. (2-tailed)	,019	,004	,071	,118
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,019 ^b	,004 ^b	,089 ^b	,143 ^b

6. TARTIŞMA

Kemikler, vücudun şekil alması ve hayati organların korunması gibi görevlerinin yanında kaslara ve tendonlara yapışma yeri sağlayarak harekette görev almaktadır , kemikler aynı zamanda çeşitli mineraller için depo kaynağı oluşturmaktadır. Kemik, çevre uyaranlara yanıt vererip devamlı remodelize olan ve kırık sonrası kendi kendini tamir etme özelliği olan bir dokudur[1].

Dıştan veya içten gelen kuvvetler sonucu kemiğin anatomik bütünlüğünde bozulma olmasına kırık denir[36]. Kırık oluştuktan sonra kemik dokusunun geniş rejenerasyon kapasitesi sayesinde, orijinal yapısı ve fonksiyonu tamamen eski haline gelebilir. Kendine özel bu rejenerasyon veya remodeling gösterme kapasitesi nedeni ile kemik iyi bir dinamik doku örneğidir.

Kırık iyileşmesi kırığın oluştuğu andan itibaren başlar ve kemik tekrar eski haline gelene kadar devam eder [36]. Kırık oluştuktan sonra çeşitli fizyolojik olaylar gelişir ve kemik bütünlüğü yeniden sağlanmaya çalışılır. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar bırakmadan aslına en yakın şekilde iyileşir [39, 41].

Kırık iyileşmesi; 3 safhada gerçekleşir; inflamasyon, onarım ve remodelasyon [54]. Bu iyileşme süreci içinde hem kemiği çevreleyen yumuşak doku, hem de medulla aktif olarak rol oynar [90]. Kırık iyileşme sürecindeki hücreler arası fiziksel ve biyokimyasal etkileşimlerin anlaşılması, bu süreçlere etki edebilecek faktörlerin araştırılmasını sağlamıştır[43].

Kemik iyileşmesinde iki önemli faktör vardır, bunlar bölgenin damarlanma miktarı ve mekanik dayanıklılığıdır. Kırık iyileşme sürecinde; travmanın şiddeti, şekli ve çevre yumuşak dokuların hasar derecesi, tedavinin nasıl yapıldığı ve kişinin yaşı, hormonal tablosu, sistemik sorunları, genel sağlık durumunun da etkili olduğu gösterilmiştir [72, 91]. Kırığın, açık ya da kapalı olması, segmental ya da transvers

olması ve defektif ya da parçalı olması tedavi yaklaşımını ve sonucunu etkiler. Kemik iyileşmesi doku gerilimi sınırlı olduğu takdirde en uygun şekilde gerçekleşir. Aksi halde kaynamama ile sonuçlanır.[92]. Az sayıda kırık çeşidi tedavi gerektirecek şekilde iyileşme sorunları gösterir, bunun dışında konservatif (atel, alçı tespiti, çeşitli bandajlar vb.) veya cerrahi müdahalelerle sorunsuz şekilde iyileşirler [93, 94]. Günümüze kadar kırık iyileşmesini arttırmaya yönelik çeşitli yöntemler denenmiştir. Kırık iyileşme sürecinin hızlandırılması için yapılmış çalışmalardan bazıları klinikte kullanım alanı olarak; tekrarlayan tedavi gereksinimlerini, işgücü kaybını, morbidite miktarını ve tedavi masraflarının azalmasını sağlamış, kaynama oranlarını iyileştirerek kişiyi kısa sürede normal hayatına döndürmeyi sağlamıştır[94, 95]. Bunların bir kısmı; elektrik stimülasyonu, mekanik stimülasyon ve ultrasaund'dur[93, 96]. Biyolojik olarak ise otojenik ve allojenik kemik greftleri, sentetik greftler, otojen kemik iliği ve birçok büyüme faktörleri araştırılmış, ancak bunların bir bölümü klinik kullanım alanı bulurken özellikle son dönemlerde üzerinde sıkça çalışılan büyüme faktörleri genel olarak henüz araştırma aşamasındadır [90, 97, 98]. Tespit ve cerrahi tekniğin seçiminde kemiğin kalitesi, kırığın tipi, anatomik lokalizasyonu gibi faktörler esas alınır. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörlerden diğerleri ise kırığın şekli ve yaralanmanın şeklidir. Açık ya da kapalı kırık olması, segmental ya da tek transvers bir kırık olması tedavi yaklaşımını ve sonucunu etkiler. Kırık olduğu anda ortamda bulunan hücre çeşitliliği, faktörlerin düzeyi de iyileşmeyi etkileyen faktörlerdendir.[99, 100].

Kapalı kırıklarda kaynama, kırık hematomunun boşalmaması ve çevre yumuşak doku hasarının daha az olmasından dolayı açık kırıklara göre daha iyidir. Yapılan deneysel çalışmalarda kapalı kırık yöntemi de kullanılmıştır. Açık kırık modelinde ise kaynama daha geç olmakta ve gruplar arasındaki kaynama oranlarının karşılaştırılması daha kolay olmaktadır [101]. Açık osteotomi ile oluşturulan kırıkta kaynamanın geç olması ve kaynamamaya yatkınlık oluşturması nedeniyle kullanılacak tedavi yönteminin etkinliğini göstermede daha başarılı olabileceği belirtilmiştir[102, 103]. Biz çalışmamızda kaynama oranlarının karşılaştırılmasının daha kolay ve daha anlamlı olmasından kaynaklı açık osteotomi modelini tercih ettik.

Literature baktığımızda osteotomi sonrası kırık tespiti; intramedüller tespit, eksternal fiksator ve plak uygulaması yöntemleri gibi farklı şekillerde yapılmıştır [100,

103]. Özellikle intramedüller tespitin benzer çalışmalarda ve ratlarda tercih edilen bir yöntem olduğu görülmüştür [100, 104-106]. Kırık iyileşmesinde biyomekanik açıdan intramedüller çivilerin yükü taşıyan olmaktan çok yükü paylaşan bir yapıya sahip olmaları nedeniyle, kırık kaynamasında internal atel gibi davranarak, kemiğe uygun miktarda yük gelmesini sağlamaktadır. Biz bu çalışmamızda uzun kemik kırıklarında altın standart olan intramedullar çivileme tekniği kullandık. Osteotomi hattından diz eklemine doğru 2 mm 'lik K teli gönderdik,sonrasında retrograde olarak proksimle doğru diz ve kalça eklemlerini açmadan tespit uyguladık. Tespit sonrası, diz ve kalça eklem hareketleri kontrol edilip, herhangi bir kısıtlılık olmadığı görüldü ve anestezi etkisi geçtikten sonra diz ve kalça eklem hareketlerine izin verilerek ratlar serbest bırakıldı. Bu teknik uygulama ve gerekli malzemenin temini açısından kolay bir teknikti fakat rijid bir tespit sağlayamıyordu. Bu dezavantajı sekonder kırık iyileşmesinin gözlenmesi, kallus dokusunun rijid olmayan tespitlerde daha fazla olması nedeniyle avantaj olarak kabul ettik. Ratların femurlarının küçük olmasından dolayı literatürde çoğunlukla intramedullar tespit seçilmesi de bunu destekliyordu. Kırık sonrası intramedullar tespit yaptığımız hayvanlara ekstra bir tespit ya da alçı uygulamadık.

Kırık iyileşmesi üzerine çeşitli yöntemlerin etkilerinin araştırıldığı hayvan çalışmalarında ratlar, fareler, tavşanlar, köpekler, koyunlar ve domuzlar gibi çok geniş hayvan çeşidinin kullanılabilceği literatürde belirtilmiştir [102]. Bu çalışmada; denek sayısının fazla olması, kolay temin edilebilirliği, şartlara hızlı uyumu, enfeksiyona dirençli olmaları ve izogenetik olmaları nedeniyle ratlar kullanıldı. Ratlarda, kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda kemik modeli olarak, tibia ve femur kullanılmıştır[107, 108]. Bunun nedeni manüplasyonunun kolay olması, eksojurunun kolay olması ve histopatolojik preparatlarının kolay hazırlanmasıdır. Bundan başka Winstar tipi ratların femurları insaninkine yakın morfolojiye sahiptir. [109]. Klinik çalışmalara göre maliyetin düşük olması, etik sorunlar, gruplar arası değişkenliğin daha az olması ve yüksek sayıda denek kullanılabilmesi gibi sebeplerden dolayı hayvan deney modelleri temel kemik biyolojisi ve kırık iyileşmesinin biyolojik temellerinde birçok problemin çözümüne yardımcı olmuştur.

Kırık iyileşme süreçleri için literatür taraması yapılırken birden çok,değişik zaman dilimlerinin rehber alındığı görülmüştür. Genel olarak sakrifikasyonun post-operatif 3. günden başladığı ve sırasıyla 7., 10., 14., 21., 24. ve 28. gün ile 6., 10., hatta

12. haftaya kadar uzatılmış olduğu çalışmalar olduğu da görülmüştür. Bu süreçlerden en sık 6. haftadaki iyileşmenin incelendiği dikkati çekmektedir. Hem bundan dolayı hemde ratların gebelik ve laktasyon süreçlerinin toplam 6. Hafta sonlanması nedeni ile biz çalışmamızda sakrifikasyonu 6. haftada yapıp değerlendirmemizi iyileşmenin en çok olduğu ve gebelik ile laktasyon sürecinin sonlandığı 6. haftada yaptık.

Gebelikte vücudun metabolik ve hormonal tablosu değişir. Değişen bu metabolik ve hormonal durumlardan kemik doku dahil diğer doku ve sistemler etilenir.

Literatür taraması yaptığımızda çalışmamızla ilgili benzer herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızla benzer doğrultuda çalışmalar olduğunu gördük.

Frankle ve Borrelli'nin anabolik-androjenik oranlarının farklı preparatlarla yaptıkları kırık iyileşmesi araştırmasında 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan biyomekanik çalışmalarda anabolik-androjenik oranları farklı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadığı gibi aynı zamanda testosteron tedavisi almayan kontrol grubunda da biyomekanik testlerde farklılık saptanmadığı bildirilmiştir[110].

Heybeli'nin yaptığı bir çalışmada, orşiektomi sonucu androjen eksikliği oluşturulan rat femur kırığı modelinde, kırık iyileşmesini önemli derecede olumsuz etkilediği görülmüştür. Testosteron replasmanı ile bu etkinin bir miktar düzeltilebildiği görülmüştür. Dördüncü haftada yapılan deneylerde, testosteron tedavisi almış ratların kontrol grubu ile arasında Eğilme Dayanımı ortalamaları arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmamasına rağmen, sekizinci haftada yapılan testlerde anlamlı farklılık olduğu görülmüştür.

Kırık iyileşmesinin histolojik analizinde literatürü incelediğimizde birçok yöntemin kullanılmış olduğunu gördük. Huo ve arkadaşları kırık bölgesindeki hücresel farklılaşmayı 1 den 10'a kadar puan vererek derecelendirmişlerdir[88]. Allen ve arkadaşları kallus dokusunun iyileşme aşamalarının 0'dan 4'e kadar puanlamışlardır [111]. Bunlara ek olarak Modifiye Lane-Sandhu histolojik değerlendirme skalası da kullanılmıştır (159). Bu skalada korteks, spongios kemik ve kemik iliği ayrı ayrı değerlendirilerek toplam 20 puan üzerinden derecelendirilmektedir[105]. Biz bu çalışmamızda huo ve arkadaşlarının histolojik skorlama sistemini kullandık.

Literatürde kırık iyileşmesinin radyolojik değerlendirilmesinde daha çok direkt grafiler ile kırık uçları arasındaki köprüleşmenin durumu değerlendirilmiş ve çeşitli puanlama sistemleri kullanılmıştır [112]. Biz bu çalışmamızda yaygın olarak kullanılan

Lane ve Sandhu'nun [89] radyolojik skorlama sistemini kullandık. Sonuçlar birden fazla orthopedist ve radyolog tarafından değerlendirildi. Sonuçların bu şekilde daha objektif olacağı düşünüldü.

Literatürde kemik dokusuna veya kırık iyileşme modellerine uygulanan biyomekanik testlerde çoğunlukla üç noktadan eğme veya kemiğin uç kısımlarından tespit sonrası çekme testleri yapılmıştır. Elde edilen yük-yer değiştirme grafiklerinden de en yüksek değerler ya da hesaplanan biyomekanik parametreler karşılaştırılmıştır [113, 114]. Bizde çalışmamızda üç nokta bükme testini (three point bending) uygulayıp gruplar arasındaki farklılıkları karşılaştırdık. Biyomekanik değerlendirmede ölçüme geçilmeden önce ratların femurlarının yumuşak dokudan tamamen temizlenmesine özen gösterildi. Doğru ölçüm yapabilmek için bu işlemin yapılması gerekiyordu. Bunu yaparak yumuşak dokuların kırılma kuvvetini etkileme olasılıklarını engellemiş olduk. Kırma esnasında tüm rat femurlarının kaynama alanından kırılması sağlanmaya çalışıldı. Kırma sonucunda ortaya çıkan değerler sistem tarafından bilgisayar ortamına aktarılarak ölçüldü.

Çalışmamızda gebeliğin ve laktasyonun kırık kaynaması üzerine radyolojik, biyomekanik ve histopatolojik sonuçlarını mukayese ettik. Radyolojik sonuçların değerlendirmesinde çalışma ve kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark saptanmadı.

Biyomekanik veriler, üç nokta eğilme testine tutulan callus dokusunun maksimum defleksiyon değerinin bilgisayar tarafından ölçülmesi ile elde edildi. Çalışmamızda test sonucunda elde edilen ortalamaların gruplar arası farklılıkları incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmıştır ($P<0,05$). Gebelik ve laktasyon sürecinin kırık kaynaması üzerinde olumsuz etki ettiği, gebe olmayanların kırıklarının daha güçlü kallus ile iyileştiğini düşündürdü.

Çalışmamızın histopatolojik değerlendirmesinde kontrol grubunda immatür kemik dokusunun ile matür kemik dokusunun gelişmiş olduğunu gördük. Çalışma grubunda ise çoğunlukla ağırlıklı kıkırdak, az miktarda immatür kemik dokusu mevcuttu. Histolojik bulgular ve aldıkları histolojik puanlar karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile çalışma grubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulduk. Bu farklılık bize yine gebelik ve laktasyon sürecinin kırık kaynaması üzerine histopatolojik olarakta

olumsuz etki ettiğini, gebe olmayanlarda kırık iyileşmesinin histopatolojik olarak daha olgun kallus formasyonu ile iyileştiğini gösterdi.



7. SONUÇ

Çalışmamızda elde ettiğimiz biyomekanik ve histopatolojik bulgular, gebelik ve laktasyon sürecinin hem biyomekanik olarak hemde histopatolojik olarak iyileşme üzerine olumsuz etki ettiğini göstermektedir. Gebelik ve laktasyon sürecinde oluşabilecek herhangi bir kırık daha dikkatli, daha yakından ve daha radikal tedavi edilmeli. Bu sonuçlara göre biz gebelik ve laktasyon döneminde değişen metabolik ve hormonal tablonun kırık iyileşmesini geciktirmiş olabileceği kanısına vardık. Bu çalışma daha kapsamlı yapıldığında sonuçlarının dahada anlamlı olacağını düşünmekteyiz.

Daha ayrıntılı ve kapsamlı yapılacak çalışmada gebelik ve laktasyon sürecindeki kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen faktörlerin ortaya konulması, tedbir almak, kırık iyileşmesini arttırmak ve hızlandırmak adına faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. *Boström MPG, Boskey A, Kaufman JK. Form and functional of bone. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SA, eds. Orthopaedic Basic Science. 2nd Ed. Aurora, IL American Academy of Orthopedic Surgeons, 2000:320-369.*
2. *Ege R. Kırıkların Etyopatolojisi. Travmatoloji, 4. Cilt, Kadioğlu Matbaacılık, Ankara, 2- 61, 1989.*
3. *Wood G. General principles of fracture treatment. In: Canale (Ed) Campbell's Operative Orthopaedics, Mosby, Philadelphia, 2669-70, 2003.*
4. *Jungueria CL, Carnerio J, Kelley O: Bone. In: Basic Histology. Appleton and Lange, New Jersey, 1995, pp. 132-151.*
5. *L.Carlas Jungueira, Jose Corneiro, Robert O'Kelley. Temel Histoloji. İstanbul: Barış Kitapevi. 1998: 132-150.*
6. *Lian, J.B., Stein, G.S., Canalis, E., Gehron-Robey, P., et al: Bone formation: osteoblast lineage cells, growth factors, matrix proteins and the mineralization process, in Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, 4th ed., Favus, M. 1., Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999, chap. 3.*
7. *Rodan, G.A., Bone homeostasis. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. 95(23): p. 13361-2.*
8. *Sommerfeldt, D.W. and C.T. Rubin, Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. Eur Spine J, 2001. 10 Suppl 2: p. S86-95.*
9. *MİLLER'in ORTOPEDİ KİTABI, 4th Ed. Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006: 1-19*
10. *Yetkin H, Yazıcı M., (ed). Miller'in Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 1.*
11. *Junqueira LC, Carneiro J: Basic Histology, 10th ed., McGraw-Hill, New York, Chapter 8, page: 144-146, 2003.*
12. *Buckwalter, J.A., et al., Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. Instr Course Lect, 1996. 45: p. 371-86.*
13. *Schenk RK: Biology of fracture repair. In Browner BD. Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG (ed). Skeletal Trauma Vol 1. Third edition. Saunders Co, Philadelphia 2003;29-73.*

14. Hing, K.A., *Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering?* Philos Trans A Math Phys Eng Sci, 2004. **362**(1825): p. 2821-50.
15. Kutsal Y.G.,(ed). *Osteoporoz.2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 39.*
16. Cowin, S.C. *Bone Mechanics Handbook. 2nd edn. Boca, Raton, London, New York,Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2:1-24.*
17. Gartner LP and Hiatt JL: *Color Textbook of Histology. Second ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 2001, pp. 134-154.*
18. Bancroft JD, Stevens A: *Theory and Practice of Histological Techniques. 4th ed.Churchill Livingstone, Newyork, Chapter 15, page 309-339, 1996.*
19. Kierszenbaum AL: *Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Çev. Demir R). Palme Yayıncılık, Ankara, 2006, s. 118-145.*
20. Marie, P.J., *Cellular and molecular alterations of osteoblasts in human disorders of bone formation. Histol Histopathol, 1999. 14(2): p. 525-38.*
21. Junguiera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O.(1998) *Temel Histoloji. 8. Baskı İstanbul: Barış Kitabevi Ltd.Şti. 132-151.*
22. Loveridge, N., *Bone: more than a stick. J Anim Sci, 1999. 77 Suppl 2: p. 190-6.*
23. Buckwalter, J.A., et al., *Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. Instr Course Lect, 1996. 45: p. 387-99.*
24. Çetinus E, Akgümüş M, Cever İ, Atay ÖF, Bakariş F. *Kırık iyileşmesi üzerine kalsitonin hormonunun etkisi. Exper. Res. 2000; 11: 179-83.*
25. Karsenty, G., *The genetic transformation of bone biology. Genes Dev, 1999. 13(23): p. 3037-51.*
26. Puzas, F. J. and Lewis, G. D., *Biology of osteoclasts and osteoblasts, in Orthopaedics. Principles of Basic and Clinical Science, Bronner, F., and Worrell, R.V., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap. 3.*
27. Glowacki, J., *Angiogenesis in fracture repair. Clin Orthop Relat Res, 1998(355 Suppl): p. S82-9.*
28. Brinker, M.R., et al., *Pharmacological regulation of the circulation of bone. J Bone Joint Surg Am, 1990. 72(7): p. 964-75.*
29. Miller MD. *Bone. Miller M (Ed), Review of Orthopaedics. Philadelphia: Saunders, 2004: 266-305.*
30. Yetkin H, Yazıcı M., (ed). *Miller'ın Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 5.*

31. Buckwalter JA, Einhorn TA, Marsh JL: Bone and joint healing. In Bucholz RW, Heckman JD (ed). *Fractures in Adults Vol 1. Fifth edition. Lippincott Co, Philadelphia 2001; 245- 71.*
32. Schenk RK: *Biology of fracture. In: Browner B, Jupiter J, Levine A, Trafton P (eds) Skeletal Trauma, Saunders, Philadelphia, 2003, pp. 29-74.*
33. Marks, S.C., Jr. and S.N. Popoff, *Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. Am J Anat, 1988. 183(1): p. 1-44.*
34. Buckwalter AJ, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. *Bone biology part II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. J Bone Joint Surg. 1995; 77: 1276-89.*
35. Kierszenbaum A.L. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, 1st ed. Mosby Inc., St. Louis, Chapter 5, page 131, 2002.*
36. Brand RA. *Fracture Healing. In Evarts CM, (ed). Surgery of Musculoskeletal System. Newyork: Chuchill Livingstone, 1983: 65-71.*
37. Netter F.H, *Kırıklar, Dislokasyonlar ve Burkulmalar. İn: The Netter Collection of Medical Illustrations. Cilt 8. Kısım 3. Travma, Değerlendirme ve Tedavi. Çeviri Editörleri: Arasıl T, Ak KG. İstanbul; Güneş Tıp Kitap Evi. 2009: 22-27.*
38. Wraighte PJ, Scammell BE. *Principles of fracture healing. Acute Care. 2007; 3; 243-51.*
39. Alturfan, A. K., Akalın, Y. (2002). *Ortopedik Travmatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 10-14.*
40. Kılıçoğlu, S. S. (2002) *Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası; 55(2): 143-150.*
41. . Rowe, N.L., Williams, J. L. (1985) *Maxillofacial Injuries. Edinburgh London Melbourne and New York: Churchill Livingstone. 50-52.*
42. Muscler FG. *Bone Healing and Grafting. In: Orthopaedic Knowledge Update 8, Rosemont, 29-37, 2005.*
43. McKibbin, B., *The biology of fracture healing in long bones. J Bone Joint Surg Br, 1978. 60-b(2): p. 150-62.*
44. Einhorn, T.A., *The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res, 1998(355 Suppl): p. S7-21.*

45. Phillips, A.M., *Overview of the fracture healing cascade*. Injury, 2005. **36 Suppl 3**: p. S5-7.
46. Cornell, C.N. and J.M. Lane, *Newest factors in fracture healing*. Clin Orthop Relat Res, 1992(277): p. 297-311.
47. *Brond AR, Rubin TC: Fracture Healing. Surgery of the Musculoskeletal System. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York, page 93-114, 1990.*
48. *Türek, S. L. (1980) Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları. Florida- Miami: Mount Sina Tıp Merkezi ve Miami Kardiyoloji Enstitüsü; 32-151.*
49. *Weber, B. G., Cech, (1973) O. Pseudoarthrosen. Verlag Hans Huber, Bern.*
50. Bastian, O., et al., *Systemic inflammation and fracture healing*. J Leukoc Biol, 2011. **89**(5): p. 669-73.
51. *Waisman, B.N. W., Sledge, C. B. (1986) Orthopaedic Radiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.*
52. Claes, L., S. Recknagel, and A. Ignatius, *Fracture healing under healthy and inflammatory conditions*. Nat Rev Rheumatol, 2012. **8**(3): p. 133-43.
53. *Miller MD: Miller'ın Ortopedi Kitabı (Çev. Yetkin H ve Yazıcı M) Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006, s. 1-23.*
54. *Cruess RL: Healing of bone, tendon and ligament In: Fractures. Philadelphia, Lippincott Company, 1984, pp. 147-167.*
55. *Skinner HB, Diao E, Gosselin R, Lowenberg DW, Paiment G. Musculoskeletal Trauma Surgery. In Skinner HB, (ed). Current Diagnosis and Treatment in Orthopedics. California: A Simon-Schuster Company, 1995: 51-115.*
56. Kolar, P., et al., *The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing*. Tissue Eng Part B Rev, 2010. **16**(4): p. 427-34.
57. *Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C: Rockwood and Green's Fractures in Adults. Sixth ed., Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2006, pp. 297-330.*
58. Wray, J.B., *ACUTE CHANGES IN FEMORAL ARTERIAL BLOOD FLOW AFTER CLOSED TIBIAL FRACTURE IN DOGS*. J Bone Joint Surg Am, 1964. **46**: p. 1262-8.
59. *Chung, R., Cool, J. C., Scherer, M. A., Foster, B. K. & Xian, C. J. Roles of neutrophil-mediated inflammatory response in the bony repair of injured growth plate cartilage in young rats. J. Leukoc. Biol. 2006; 80:1272-1280.*

60. Alexander, K.A., et al., *Osteal macrophages promote in vivo intramembranous bone healing in a mouse tibial injury model*. J Bone Miner Res, 2011. **26**(7): p. 1517-32.
61. Xing, Z., et al., *Multiple roles for CCR2 during fracture healing*. Dis Model Mech, 2010. **3**(7-8): p. 451-8.
62. Andrew, J.G., et al., *Inflammatory cells in normal human fracture healing*. Acta Orthop Scand, 1994. **65**(4): p. 462-6.
63. Gerstenfeld, L.C., et al., *Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation*. J Cell Biochem, 2003. **88**(5): p. 873-84.
64. Ai-Aql, Z.S., et al., *Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis*. J Dent Res, 2008. **87**(2): p. 107-18.
65. Lienau, J., et al., *Differential regulation of blood vessel formation between standard and delayed bone healing*. J Orthop Res, 2009. **27**(9): p. 1133-40.
66. Santavirta, S., et al., *Immunologic studies of nonunited fractures*. Acta Orthop Scand, 1992. **63**(6): p. 579-86.
67. Weinstein SL and Buckwalter JA: *Turek Ortopedi ilkeler ve Uygulamaları (Çev. Alpaslan AM) Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009, s. 57-71.*
68. Baron T, Tran Van P, Vignery A. *Local control of bone remodelling: a suggested role for receptor mediated endocytosis*. New York, *Excerpta Medica* 1982; 123-127. 8- 6.
69. Isogai, Y., et al., *Parathyroid hormone regulates osteoblast differentiation positively or negatively depending on the differentiation stages*. J Bone Miner Res, 1996. **11**(10): p. 1384-93.
70. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). *Miller'ın Ortopedi Kitabı*. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 19.
71. Oral O. *L-Dopa'nın (Allojenik greft uygulanan ve uygulanmayan) kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel araştırılması (2000) Doktora tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul; 4-22.*
72. Ege R. *Travmatoloji. Kırıklar, Eklem ve Diğer Yaralanmalar 5. Baskı*. Ankara:2003; 55- 94.
73. Ballı, B. *Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler*. Bitirme tezi. İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi. İstanbul; 2004.

74. Bassett CAL. et al. *Biophysical principles of affecting bone structures. The Biochemistry and Physiology of Bone. G. H. Bourne (Ed.), Acad. Press, Inc. NewYork. 1971: 1-76.*
75. Martin, R.B. Burr, D.B., *Mrechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation of Compact Bone. Raven Press, New York, 1989, chaps.2,4,7 and 8.*
76. Woll, T.S. and P.J. Duwelius, *The segmental tibial fracture. Clin Orthop Relat Res, 1992(281): p. 204-7.*
77. Miller MD: *Miller'in Ortopedi Kitabı (Çev. Yetkin H ve Yazıcı M) Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006, s. 24-44.*
78. Persson, B.M., et al., *Favourable results of acrylic cementation for giant cell tumors. Acta Orthop Scand, 1984. 55(2): p. 209-14.*
79. Jensen, J.E., et al., *Nutrition in orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg Am, 1982. 64(9): p. 1263-72.*
80. Kutsal Y.G.,(ed). *Osteoporoz.2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 46.*
81. Çankaya B. *Kemik. İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Seminer çalışması. 2004.*
82. Brinker M.R., Miller D., *Basic science. In: Miller D.(ed): Review of Orthopaedics, (2nded). W.B. Saunders, Phladelphia:1996; p 1-30.*
83. Uzzan, B., et al., *Effects on bone mass of long term treatment with thyroid hormones: a meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab, 1996. 81(12): p. 4278-89.*
84. Kutsal Y.G.,(ed). *Osteoporoz. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 47.*
85. Bernard, G.W., *Healing and repair of osseous defects. Dent Clin North Am, 1991. 35(3): p. 469-77.*
86. Oral O. *Laser'in Ağız Cerrahisi Girişimlerinde İyileşme Üzerine Etkilerinin Deneysel Araştırılması, Doktora, 1987.*
87. Caplan A.I., Pechak D. *The cellular and molecular biology of bone formation. In: Peck W.A.(Ed). Bone and Mineral Research. New York: Elsevier, 1987:117.*
88. 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.*
89. Lane, J.M. and H.S. Sandhu, *Current approaches to experimental bone grafting. Orthop Clin North Am, 1987. 18(2): p. 213-25.*

90. Hannouche, D., H. Petite, and L. Sedel, *Current trends in the enhancement of fracture healing*. J Bone Joint Surg Br, 2001. **83**(2): p. 157-64.
91. *ASAE standarts, Shear and Three-point bending test of animal bone. ANSI/ASAE S459 DEC01, USA, 2003.*
92. Fleming, J.E., Jr., C.N. Cornell, and G.F. Muschler, *Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering*. Orthop Clin North Am, 2000. **31**(3): p. 357-74.
93. *Schemitsch EH, Bhandari M: Bone healing and grafting. In Koval KJ(ed). Orthopaedic knowledge update-7.AAOS, 2002;19-29.*
94. Claes, L. and B. Willie, *The enhancement of bone regeneration by ultrasound*. Prog Biophys Mol Biol, 2007. **93**(1-3): p. 384-98.
95. Lieberman, J.R., A. Daluiski, and T.A. Einhorn, *The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications*. J Bone Joint Surg Am, 2002. **84-a**(6): p. 1032-44.
96. Solheim, E., *Growth factors in bone*. Int Orthop, 1998. **22**(6): p. 410-6.
97. Einhorn, T.A., *Enhancement of fracture-healing*. J Bone Joint Surg Am, 1995. **77**(6): p. 940-56.
98. *Moucha CS, Einhorn TA. Enhancement of skeletal repair. Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG (ed). Skeletal Trauma. Third edition. Philadelphia: Saunders Co, 2003; 639-659.*
99. Jackson, R.A., et al., *The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model*. J Orthop Res, 2006. **24**(4): p. 636-44.
100. Zimmermann, G., et al., *TGF-beta1 as a marker of delayed fracture healing*. Bone, 2005. **36**(5): p. 779-85.
101. Li, G., et al., *rhBMP-2, rhVEGF(165), rhPTN and thrombin-related peptide, TP508 induce chemotaxis of human osteoblasts and microvascular endothelial cells*. J Orthop Res, 2005. **23**(3): p. 680-5.
102. *Öztuna V. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan deneysel hayvan modelleri. Totbid Dergisi 2007; 6: 47-55.*
103. Nunamaker, D.M., *Experimental models of fracture repair*. Clin Orthop Relat Res, 1998(355 Suppl): p. S56-65.
104. Bostrom, M.P. and P. Asnis, *Transforming growth factor beta in fracture repair*. Clin Orthop Relat Res, 1998(355 Suppl): p. S124-31.

105. Kirker-Head, C.A., et al., *Healing bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2 and copolymer*. Clin Orthop Relat Res, 1998(349): p. 205-17.
106. Kaygusuz MA, Ataşlı N, Aydođdu İ, Özen S, et al: *GM-CSF'nin kırık iyileşmesi üzerine etkisinin sıçan tibiaları üzerinde araştırılması*. Acta Orthop Traumatol Turc.1999;33:205-10.
107. Kaygusuz A, Atağlı N, Aydođdu Ğ; *GM-CSF nin kırık iyileşmesi üzerine etkisinin rat tibiaları üzerinde araştırılması*; Acta Orthopedica Turcica 33,375-382,1999.
108. Cao, Y., et al., *1Alpha,25-dihydroxy-2beta(3-hydroxypropoxy)vitamin D3 (ED-71) suppressed callus remodeling but did not interfere with fracture healing in rat femora*. Bone, 2007. **40**(1): p. 132-9.
109. Jager M, Sager M, Lensing-Hohn S, Krauspe R: *The critical size bony defect in a small animal for bone healing studies (I): Comparative anatomical study on rats' femur*. Biomed Tech (Berl) 2005, 50(4):107-10.
110. Frankle, M. and J. Borrelli, *The effects of testosterone propionate and methenolone enanthate on the healing of humeral osteotomies in the Wistar rat*. J Invest Surg, 1990. **3**(2): p. 93-113.
111. Einhorn, T.A., et al., *A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair*. J Bone Joint Surg Am, 2003. **85-a**(8): p. 1425-35.
112. Orhan Z, Alper M, Şenel F. *Ekstrakorporeal şok dalgası tedavisinin sıçanlarda kırık iyileşmesi üzerine etkileri*. Acta Orthop Traumatol Turc 2001; 35: 351-357.
113. Molster, A.O., *Biomechanical effects of intramedullary reaming and nailing on intact femora in rats*. Clin Orthop Relat Res, 1986(202): p. 278-85.
114. Çömelekođlu Ü, Mutlu H, Yalın S. *Normal ve osteoporotik sıçan femurunda kemiğin biyomekanik kalitesinin biyomekanik testle ve sonlu elemanlar analizi ile belirlenmesi*. Acta Orthop Traumatol Turc 2007; 41: 53-57.