



T.C

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

**RATLARDA DEFEKTİF KIRIKLARDA UYGULANAN
FARKLI GREFTLERİN SONUÇLARI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zafer AYDOĞAN

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Raif ÖZDEN

HATAY - 2015

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

RATLARDA DEFEKTİF KIRIKLARDA UYGULANAN FARKLI
GREFTLERİN SONUÇLARI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zafer AYDOĞAN
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Raif ÖZDEN

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

**Tezin Adı: RATLARDA DEFEKTİF KIRIKLARDA UYGULANAN FARKLI
GREFTLERİN SONUÇLARI**

Tezi Hazırlayanın Adı: Dr. Zafer AYDOĞAN

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Yusuf ÖNLEN
Tıp Fakültesi Dekan V.

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.

Yrd. Doç. Dr. Raif ÖZDEN
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

- 1.Prof.Dr. Aydın KALACI
2. Doç.Dr. Yunus DOĞRAMACI
3. Yrd. Doç.Dr. Onur HAPA

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim döneminde bana ortopedinin temel ilkelerini öğreten ve kazandıran, bilgi ve cerrahi tecrübelerini bizimle paylaşarak günden güne daha iyi ve bilgili olmamıza yardımcı olan, bölüm başkanımız değerli hocam sayın Prof. Dr. Aydıner KALACI ya, uzmanlık eğitimim boyunca değişik ameliyat yaklaşımlarıyla bize özgüveni aşıl原因an, yetişmemde büyük emeği bulunan, bizlerden esirgemediği bilgi ve tecrübelerini taşıyacağım, değerli hocam sayın Doç. Dr. Yunus DOĞRAMACI'ya, beş yıllık asistanlık eğitimim süresince bizlerden her fırsatta tecrübesini ve bilgisini esirgemeyen, bize fizyoterapist nosyonunu kazandıran değerli hocam sayın Prof. Dr. Hasan HALLAÇELİ'ye sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin her aşamasında yanımda olan bilgi ve becerilerini esirgemeyen değerli hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Raif ÖZDEN'e, yeni bilgi ve becerilerini bize aktararak yetişmemizde büyük emeği olan değerli hocam sayın Doç. Dr. Vedat URUÇ'a ve asistanlığımın ilk haftasında ortopediyi bana sevdiren, ameliyathanede ve yanında kendimizi güvende hissettiğimiz, bize bir abi kadar yakın olan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İ. Gökhan DUMAN'a şükranlarımı sunarım. Ayrıca asistanlığımın ilk senesinde çalışma fırsatı bulduğum değerli hocamız Prof. Dr. Ahmet Nedim YANAT'a saygı ve şükranlarımı sunarım. Tez hazırlama sürecinde yardımlarını esirgemeyen patoloji bölümünden Prof. Dr. Mehmet YALDIZ'a, istatistik çalışmalarında yardımcı olan Prof. Dr. Cahit ÖZER'e ve Tosalı Holding çalışanları ile intörn kardeşlerime teşekkür ederim.

Yoğun ve stresli asistanlık sürecinde yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarım Dr. Nidal SAĞLAM, Dr. Volkan KIZILKAYA, Dr. Evren ÖZŞEKER, Dr. Hasan MULLAOĞLU ve Dr. Cemil Emre GÖKDEMİR ve ameliyathane ve serviste beraber çalışma fırsatı bulduğum tüm teknisyenlerimize, hemşirelerimize ve personellerimize teşekkür ederim.

Yetişip bugüne gelmemde büyük emekleri olan, fedakarlık timsali babam İbrahim AYDOĞAN ve annem Emile AYDOĞAN'a ve kardeşlerime ve en sıkıntılı zamanlarımda bile hep yanımda olan bana desteği ve sevgisi ile güç veren sevgili eşim Çisem AYDOĞAN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
TABLO DİZİNİ	IX
ŞEKİL DİZİNİ	X
RESİM DİZİNİ	XI
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kemik Dokusu	2
2.1.1. Kemik dokusunun tanımı	2
2.1.2. Kemik histolojisi	2
2.1.3. Kemik matriksi	3
2.1.4. Kemiğin hücresele biyolojisi	4
2.1.5. Kemiği saran yapılar	5
2.1.6. Kemik kan akımı	5
2.2. Kırık Tanımı ve Tipleri	6
2.3. Kemik Oluşumu	9
2.4. Kemik Yaralanması ve Tamiri	11
2.5. Kırık İyileşmesi Evreleri	12
2.5.1. Enflamasyon	13
2.5.2. Onarım	13
2.5.3. Yeniden şekillenme	14
2.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	16
2.6.1. Sistemik faktörler	16
2.6.2. Lokal faktörler	19
2.7. Kemik Greft Uygulamaları	21

3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Çalışma Planı	28
3.2. Cerrahi Teknik	29
3.3. Biyomekanik Değerlendirme	33
3.4.Histopatolojik Değerlendirme	35
4.BULGULAR	36
4.1. Biyomekanik Bulgular	36
4.2. Histopatolojik Bulgular	38
5.TARTIŞMA	44
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	51
9. KAYNAKLAR	52
10. ÖZGEÇMİŞ.....	60
11.EKLER.....	61

ÖZET

İskelet sistemi hareket için esas bir yapıdır. Uygulanan mekanik güç kemiğin taşıyabileceğinden fazla ise kırılır. Travma, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler, kas iskelet sistemi tümör cerrahisi, revizyon artroplasti cerrahisi ve spinal cerrahi gibi rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler artan sıklıkla kullanılmaktadır.

Kemik grefti olarak otogreftler ve allogreftler kullanılır. Kemik yerine geçebilecek maddeler arasında ise seramikler (dogal ve sentetik), demineralize kemik matriksi, kemik morfojenik protein, otolog kemik iligi, büyüme faktörleri ve kompozit greftler tercih edilebilir. Bu çalışmada amaç uygulanan farklı greftlerin oluşturulan kemik kırık defekt modellerinde iyileşme üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

80 adet Wistar-Albino tipi erkek sıçan Kontrol ve Çalışma (kortikokansellöz allogreft, demineralize kemik matriksi ve sentetik cam seramik) grubu olarak 20'er adet olarak dörte ayrıldı. Sedasyon anestezi altında tüm sıçanların sağ femur diafiz bölgelerinde cisim çapının 2 katı kadar defektif kırık elektrikli testere ile oluşturuldu(80). Kırık sonrası femur kırıkları retrograd 2 mm Kirschner Teli(K-Wire) ile tespit edildi. 1. grup kontrol grubu olarak kabul edilerek defektif bölgeye herhangi bir madde uygulanmadı. 2.grubtaki defektif bölgeye allogreft, 3.guptakilere demineralize kemik matriksi, 4.gruba biyoaktif cam seramik uygulandı. Eşit sayıda sıçanda kırık oluşturulduktan 6 hafta sonrası sakrifiye edilerek, kırık iyileşmesi araştırılmak üzere (biyomekanik ve histopatolojik) değerlendirildi.

Biyomekanik ve histopatolojik inceleme sonucunda kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı fark saptandı. Çalışma grupları kendi aralarında değerlendirildiklerinde ise anlamlı bir fark saptanmadı.

Bu bulgulara göre, rat femur defektif modelinde, lokal olarak uygulanan greftlerin, biyomekanik ve histopatolojik olarak iyileşme üzerine olumlu etki gösterdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Rat, Greft

ABSTRACT

Skeleton system is a main structure for movement. If the mechanical force is bigger than which the bone can tolerate, it will be broken. Trauma, bone infections, congenital abnormalities and bone defects which occur during the attempts as musculoskeletal tumor surgery, revision arthroplasty surgery and spinal surgery can be treated with bone grafts and severe materials which can be used instead of bone. Recently the usage of these materials increases day by day.

Autografts and allografts can be used as bone grafts. The materials which can be used instead of bone are; ceramics (natural or synthetic), demineralized bone matrix, bone morphogenic protein, autologous bone marrow, growth factors and composite grafts. The aim of this study is to determine the level of bone fracture healing which treated by using different kinds of grafts.

For this study we used 80 male Wistar-Albino rats and we made 4 different groups. Each group contained 20 rats. The first group was control (sham) group and the second was corticocancellous bone graft, third was demineralized bone matrix and the last one was synthetic bioactive glass ceramic group. All the rats, under dissociative anesthesia, were operated through right femur diaphysis and were constituted a defective fracture two-fold of matter by using with an electrical mini saw (80). After this process the fragments of fractured femur were immobilized retrogradely with 2 mm Kirshner wire (K-Wire). In first group we only immobilized the fracture with K-wire but no graft applied. In 2nd, 3rd and 4th groups we applied allograft, demineralized bone matrix, bioactive glass ceramic respectively to the defective bone regions. After 6 weeks we injected high doses of anesthetic drug for euthanasia to each rat and extirpated the right femurs. To determine the level of fracture healing we analyzed the femurs both biomechanically and histopathologically.

Biomechanical and histopathological observations revealed substantial discrepancies between control and other groups but no substantial discrepancies between 2nd, 3rd and 4th groups.

According to this findings, the grafts which can be used for strengthen the fracture of bones can provide benefits and positive biomechanical and histopathological effects on recovery on femur defective model in rats.

Key Words: Fracture Repair, Rat, Graft

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalen fosfataz
BMP	: Kemik morfojenik proteini
Ca+2	: Kalsiyum
CDGF	: Kondroblast kökenli büyüme faktörü
CS	: Cam seramik greft
DBM	: Demineralize bone matriks
ECDGF	: Endoteliyal hücre kaynaklı büyüme faktörü
ECGF	: Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü
FDGF	: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
Mgr	: Miligram
MDGF	: Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü
NSAI	: Nonsteroid anti inflamatuvar
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PG	: Prostoglandin
PPMH	: Pluripotent Mezenkimal Hücreler
PTH	: Paratiroid hormonu
TCP	: Trikalsiyum fosfat
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü-β
vb	: ve benzeri
μgr	: mikrogram

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Otogreft ve allogreftlerin karşılaştırılması	24
Tablo 2. Deney hayvanları dağılım tablosu	28
Tablo 3. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan skorlama sistemi	35
Tablo 4. Biyomekanik değerlendirme sonuçları (Newton olarak)	36
Tablo 5. Histopatolojik değerlendirme sonuçları	38

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Kortikal ve spongioz kemik yapısı	3
Şekil 2. Kırık iyileşmesi dönemleri	13
Şekil 3. Enflamasyon dönemi	15
Şekil 4. Onarım dönemi	15
Şekil 5. Yeniden şekillenme dönemi	15
Şekil 6. Biyomekanik sonuçların ortalama kuvvet değerlerini gösteren grafik	37
Şekil 7. Histopatolojik sonuçların ortalama skorlarını gösteren grafik	39

RESİM DİZİNİ

Resim 1. Ratın hazırlanması.....	30
Resim 2. Farklı çalışma gruplarından uygulama örnekleri	31
Resim 3. Farklı çalışma gruplarından eksize edilen femur örnekleri	32
Resim 4: Biyomekanik tespit cihazı	34
Resim 5: Cihaza eklenmiş kırma aparatları	34
Resim 6: 6. Hafta kontrol grubu	40
Resim 7: 6. Hafta allogreft grubu	41
Resim 8: 6.Hafta DBM grubu	42
Resim 9: 6. Hafta Cam Seramik grubu	43

1. GİRİŞ

İskelet sistemi, insan vücudundaki organ ve sistemlerin düzgün bir şekilde çalışabilmesi için gerekli desteği sağlayan önemli bir yapıdır. Bu sistem çevresel faktörler ve insan faktörleri ile birlikte sıklıkta yaralanmaya maruz kalmaktadır. İskelet sistemi yaralanmaları travmanın şiddetine bağlı olarak basit bir yumuşak doku yaralanmasından kırık oluşumu gibi ciddi bir duruma kadar farklılıklar göstermektedir (1).

Kırık basitçe kemiğin fiziksel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanabilir. Kırık oluşumu ile birlikte patoloji sadece kemik dokusuyla sınırlı kalmaz. Çevre yumuşak dokular, farklı organ sistemleri de bu olaydan olumsuz etkilenir. Kemik kırılması ve tedavi sürecindeki aşamalar kişiyi kötü yönde etkilediği gibi yapılan sağlık harcamaları da ekonomiyi olumsuz etkiler.

Kırık iyileşmesi esnasında temel rol oynayan iki etken kanlanma ve yeterli stabilitedir. Bunun dışında kemik dokunun durumunun ve konfigürasyonunun, periostun ve çevre kas ve yumuşak dokuların da kırık iyileşmesindeki rolleri bilinmektedir. Bu faktörlerin sağlıklı fonksiyon görmesi yanı sıra birbirleriyle olan ilişkisi de kırık iyileşmesini etkilemektedir. Kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalar; kırığın tespit şekilleri, kırığı sistemik ve lokal etkileyen faktörler, kırık üzerine elektrik ve ses stimülasyonu, hiperbarik oksijen uygulanması üzerine yoğunlaşmıştır. Durum böyle olunca birçok bilim adamı kırık iyileşmesini daha iyi anlamak ve iskelet sisteminin normal iyileşmesini sağlamak için yeni yaklaşımlar geliştirmeye çalışmaktadır.

Kemik dokusunun geniş bir rejenerasyon kapasitesi vardır ve orijinal yapısını ve fonksiyonunu tamamen eski haline getirebilir. Ancak bazen travma, enfeksiyon, kistler ve tümörler gibi nedenlerden ötürü oluşan kemik defektleri, kemik dokusu ile iyileşemeyebilir. Böyle durumlarda iyileşmeyi kolaylaştırmak veya başlatmak için kemik defektlerinin kemik greft materyalleri ile doldurulması gerekebilir.

Bu çalışmada ratların sağ femurlarında defektif kırık oluşturup intramedüller tespit yapılarak 6. haftada farklı greftlerin kırık iyileşmesi üzerindeki etkileri histopatolojik ve biyomekanik olarak araştırıldı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kemik Dokusu

2.1.1. Kemik dokusunun tanımı

Kemik, iskelet sisteminin temelidir. Kemik dokusu vaskülarizasyonu iyi olan, yaşayan ve sürekli değişen mineralize olmuş bağ dokusudur. Sert, dayanıklı, rejenarasyon kapasitesi olması ve karakteristik büyüme mekanizmalarının olması kemik dokusunun önemli özellikleridir. Kemik dokusu hücreler ve interselüler matriksten oluşmaktadır. Kemik dokunun hücrelerinin büyük kısmı (osteositler) burada bulunmaktadır. Matür kemikte matriksin ağırlığının %40'nı organik materyaller (genellikle kollagen doku), %60'mı da kalsiyum (Ca) ve fosfattan zengin inorganik tuzlar oluşturmaktadır. Bunların hepsi kemik yapısına özgü mekanik özellikler kazandırır (2).

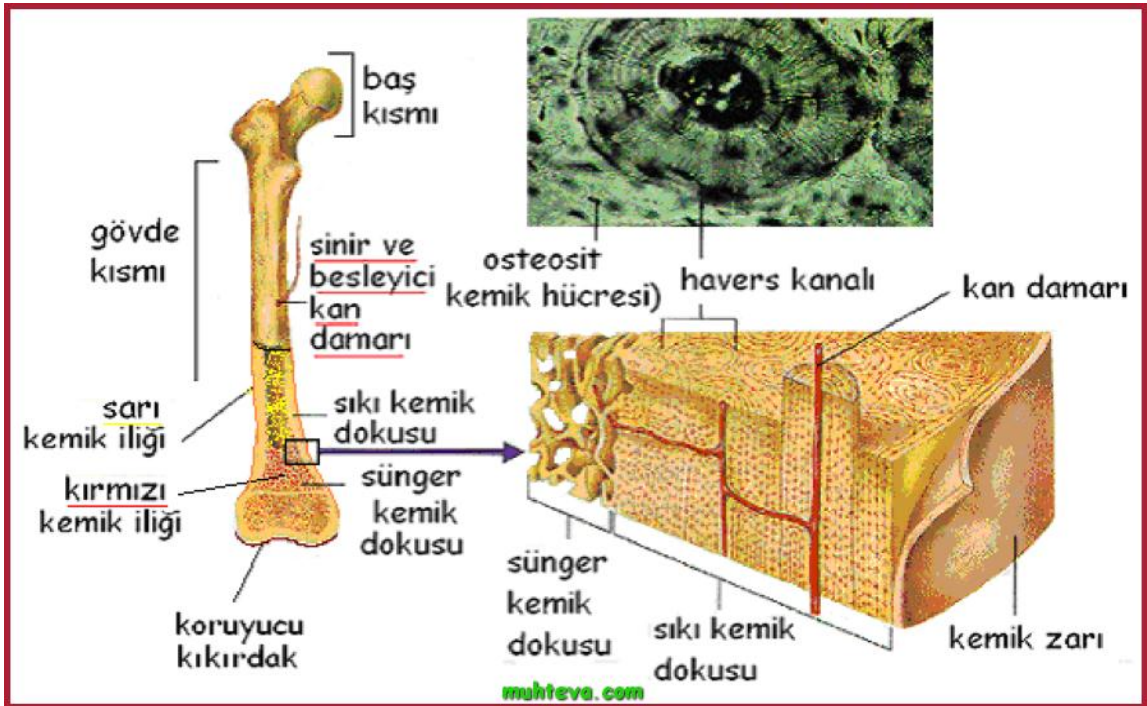
2.1.2. Kemik histolojisi

Kemik doku, hareketi sağlayan lökomotor sistemin en önemli parçasıdır. Kemik yapı lamellerdir ve iki çeşittir; kortikal ve spongioz. İmmatür ve patolojik kemik örgülü yapıdadır ve lameller kemiğe göre fazla sayıda osteosit içerecek biçimde rastgele düzenlenmiştir. İmmatür kemik lameller kemiğe göre daha zayıf ve esnektir. Lameller kemik strese dayanıklı iken örgülü kemik dayanıksızdır (3).

Kortikal (Kompakt) Kemik: İskeletin %80' ini oluşturur. Sıkıca paketlenmiş osteonlar ya da arterioller, venüller, kapillerler, sinirler ve olasılıkla lenfatik kanalları içeren haversiyan (veya Volkmann) kanallarıyla bağlı haversiyan sistemlerinden oluşur (Şekil 1). Kortikal kemik spongioz kemiğe göre daha yavaş bir dönüşüm hızına, göreceli

olarak yüksek bir Young modülüsüne, torsiyon ve bükülmelere karşı on kat daha yüksek bir dirence sahip yapıdadır (3).

Spongioz (Trabeküler) Kemik: Kompakt dokunun içerisinde bulunan ve kemik trabeküllerinin birbirleriyle birleşmesi ile oluşan dokudur (Şekil 1). Trabeküller kemik üzerine gelen basınçlara karşı kemiğin dayanıklılığını sağlar. Böylece kemik zorlayıcı etkilerin altında yeniden biçimlenme gösterir. Buna Wolf'un tansformasyon yasası denir. Yüksek yüzey/alan oranı oluşturarak yüksek metabolik aktivite işlevi sağlar ve kemiğe yansıyan çeşitli yüklere (özellikle kompresif) karşı kemiğin dayanma gücünü artırır (4)



Şekil 1. Kortikal ve spongioz kemik yapısı

2.1.3. Kemik matriksi

Kemik matriksinin %65'ini inorganik, %20'sini organik komponentler, kalan %10'unu su ve %5'ini ise diğer organik moleküller ve amorf inorganik tuzlar oluşturur (5,6). Organik komponentleri baslıca kollajen(%90) ve kollajen dışı matriks proteinleri (%10)(glikoproteinler, proteoglikanlar, gamakarboksiglutamikasit, büyüme faktörleri ve

sitokinler) oluşturur (7,8). Kollajen içeriğinin büyük çoğunluğu Tip I kollajen oluşturur. Tip I kollajen içeriğindeki aminoasitlerin özellikle de hidroksilizin ve hidroksiprolinin sayesinde tensil kuvvetlere karşı daha dayanıklıdır(4). Kompresif kuvvetten proteoglikanlar sorumludur. Özellikle Ca^{+2} ve fosfat (PO_4) başta olmak üzere karbonat, sitrat, magnezyum, potasyum sodyum ve florid inorganik maddeler arasında bulunur. Ca^{+2} ve fosfat başlıca hidroksiapatit kristalleri ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) şeklinde bulunur (9,10). Kemiğin sertliği ve gücü kollajen ile hidroksiapatit kristallerinin birlikteliğine bağlıdır.

2.1.4. Kemiğin hücresel biyolojisi

Kemik doku içerisinde kemiğin sürekli değişimini ve canlılığını sağlayan hücreler vardır. Bu hücrelerin bir kısmı organik yapıyı hazırlarken bir kısmı da yıkım olaylarında rol alır. Üç tip hücre bulunur:

Osteoblastlar: Pluripotent mezankimal hücrelerden kaynaklanır. Kemik matriksinin organik kısımlarını sentezleyen ve sekresyonunu yapan hücrelerdir (9,11). Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitel hücreleri gibi yan yana dizilim gösterirler. Matriks yapımına başlayınca kübik halden prizmatik hale dönüşürler. Osteoblastlar, kemik organik matriksinde Tip I kollajen ve kollajen olmayan proteinleri sentezlerler. Ekstrasellüler matriksteki fibrillerin düzenini sağlarlar, alkalen fosfataz (ALP) enzimi sayesinde osteoid materyalin mineralizasyonuna katkıda bulunur ve salgıladığı sitokinler aracılığıyla osteoklast rezorpsiyonuna aracılık eder.

Osteositler: Yapı olarak osteoblastlara göre daha yassı ve elipsoidirler ve çekirdek yapıları daha yoğundur. Osteoblastlardan köken alırlar ve matriks lakünaları arasına yerleşmişlerdir. Osteositler kemiğin iç haberleşmesinden sorumludurlar. Kemiğe uygulanan fiziksel kuvvetlerin yorumlanması ve uygun cevabın verilmesini sağlarlar ve yeniden yapılanmadan sorumlu hücrelerdir (12,13). Osteositlerin ömrü birkaç yıl kadardır. Osteosit ölümüyle birlikte matriks rezorpsiyonu da başlar (14).

Osteoklastlar: Osteoklastlar dallanmış yapıda, çok büyük (150 mikron) ve hareketli hücrelerdir (8). Fonksiyonları kemiği ortadan kaldırmaktır. Bunu proton salgılayarak yaparlar. Kemiği demineralize ederler, lizozomal ve non-lizozomal yol ile kemik matriksini destrukte ederler. Osteoklastın aktivitesini bifosfanat, kalsitonin, östrojen hormonu, TGF β (Transforme edici büyüme faktör β) azaltırken, PTH, D vitamini ve tiroksin artırır (12,15). Aktif osteoklastlarda kemik matriksine bakan yüzde düzensiz yapıda fırçamsı kenarlar bulunur ve bu bölge kemik rezorpsiyonu için mikroçevre oluşturur (16).

2.1.5. Kemiği saran yapılar

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri; kemik yapan hücreler ve bağ dokusundan oluşan, endosteum ve periosteum olarak adlandırılan tabakalar ile örtülüdür.

Periosteum: kemiği saran bağ doku zarı olup iki tabakadan oluşur. Dış tabaka kollajen ve fibroblastlardan oluşan fibröz yapıda olup daha az hücre içerir ve ligaman, tendon ve eklem kapsüllerinin yapışmasına izin verir. İç kısımda hücreden daha zengin ve daha vasküler olan kambiyum adı verilen osteojenik tabaka bulunur (17). Periosteum çocuklarda çok daha kalın olup kemiğin enine büyümesinden ve kortikal kemik birikiminden sorumludur. Yasla beraber periosteumun osteojenik ve kondrojenik kapasitesi azalır (18,19).

Endosteum: Kemiğin içindeki bütün boşlukları örter, tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ve az miktarda bağ doku içerir. Havers kanalları dahil kemiğin bütün boşluklarını ve kemik iliğini barındıran süngerimsi duvarları örter (8). Periosteum ve endosteumun temel görevleri kemiğin beslenmesi, büyümesi ve onarımı için gerekli olan osteoblast yapımını sağlamaktır.

2.1.6. Kemik kan akımı

Kemiğin normal büyümesi, şekillenmesi ve tamiri için gerekli maddeler ve oksijen kan akımıyla kemiğe ulaşır. Kalp kan atımının yaklaşık %5-10' unu kemiğe ulaşır (20). Kemiğin kan ile beslenmesi üç yolla olur (Şekil 1).

Metafizo-epifiziel sistem: Periartiküler damar ağlarından doğarlar. Proksimal ve distal, metafiziel ve epifiziel arterler olarak anastomozlar yaparlar. Nutrisyonel ve periostal sistemle birlikte medüller vasküler yapıyı oluştururlar (21).

Periosteal sistem: Esas olarak diyafiziel korteksin dıştaki 1/3' ünü besleyen kapillerlerden oluşan düşük basınçlı bir sistemdir (22). Periostal arterler çevre yumuşak doku ve kas dokusu için de dolaşım desteği sağlar.

Besleyici (nutrient) arter sistemi: Sistemik dolaşımı sağlayan ana arterlerden direkt olarak yüksek basınçla çıkarlar ve olgun diafiziel korteksin 2/3 iç tabakasını beslerler (22). Nutrient arter sistemi erişkin kemiğinde yüksek basınçlı bir sistemdir (17, 21).

Matür kemikteki arteryel akım yüksek basınçlı besleyici arteryal sistemin ve düşük basınçlı periosteal sistemin net etkisinin bir sonucu olarak sentrifugaldır (içten dışa doğru). Endosteal sistemin bozulduğu tamamen deplase bir kırıktaki basınç gradienti tersine döner. Periosteal sistem basıncı baskın hale gelir ve kan akımı sentripedal hal alır (dıştan içe doğrudur). Bu da kırık iyileşmesinde kilit önemi olan periosteal kemik yapımına izin verir.

Kemiğin sıvı bileşenleri; ekstrasvasküler %65, haversiyen %6, laküner %6, kırmızı kan hücreleri %3 ve diğer %20'den oluşmaktadır. Hipoksi akımı, hiperkapni akımı ve sempatektomi akımı kemik kan akımını arttırıcı etki yaparlar. Kırık iyileşmesinin ana belirleyicisi kemik kan akımıdır. Kırık bölgesinde oluşan damar yaralanmalarında ilk tepki olarak kemik kan akımında bir azalma görülmektedir. Zamanla kemik kan akımı artar ve 3-5 ayda normal seyrine geri döner.

2.2. Kırık Tanımı ve Tipleri

Dıştan yada içten etki eden kuvvetlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulması ve çevre yumuşak dokuların olumsuz yönde etkilendiği patolojik olay kırık olarak tanımlanmaktadır. Kırıklar, bu duruma neden olan kuvvetlerin şiddetine ve kemiğin bu şoku absorbe edebilme yeteneğine göre küçük bir çatlaktan (fissür), bir veya

birçok kemiğin kırılmasına ve komşu eklemlerde çıkık oluşturabilmesine (kırıklı-çıkık) kadar değişiklik gösterebilirler. Kırık sonrası oluşan fizyolojik reaksiyonlar, bütünlüğün sağlanmasına yöneliktir. Mekanik, moleküler ve biyolojik faktörlerin etkileşimi kırık iyileşmesinde etkilidir (14).

Kırığı oluşturan nedenler ile kırık bölgesi yaşlara göre farklılık göstermektedir. Yeni doğan döneminde doğum travmaları, çocuklarda düşme, dayak ve trafik kazaları, gençlerde spor ve trafik kazaları, orta yaşlarda trafik ve iş kazaları ve ileri yaşlarda düşmeler ve tümöral olaylar kırık oluşturan başlıca nedenlerden bazılarıdır. Yeni doğanlarda doğum travmasına bağlı olarak en çok klavikula, femur cismi ve humerus kırıkları görülür. Çocuklarda humerus suprakondiler kırıkları başta olmak üzere dirsek çevresi ve önkol kemikleri ile femur cisim kırıklarına sık rastlanır. Genç ve orta yaşlarda tibia, femur ve radius distali en çok kırılan kemiklerdendir. İleri yaşlarda femur boynu, trokanterik bölge, humerus proksimali ve radius distali en çok kırık görülen bölgelerdir (7,23).

Kırık oluşumu normal anatomi ve fizyolojiye sahip olan kemikte dıştan gelen etkenler veya kas ve ligamentlerin içten oluşturduğu zorlamanın şiddeti, yönü, hızı ve etkileme süresine göre meydana gelmektedir (24).

Travmatolojik yolla oluşan kırıkların başlıca nedenleri; trafik kazaları, düşme, çarpma, iş kazaları, yaralanmalar, göçük altında kalma (deprem, maden kazaları vb.), kesici- delici alet yaralanmaları sayılabilir (24).

Patolojik kırıklarda; mevcut olan kemik ya da kemiğe etki eden organ hastalığı sonucu basit travma ile bazende travma olmaksızın kendiliğinden oluşan kırıklardır. Bunların oluşum nedenleri arasında kemik tümörleri, kemik enfeksiyonları, osteoporoz ve bazı metabolik kemik hastalıkları bulunmaktadır (24).

Stress kırıklarında tekrarlayan yorgunluk ve sürekli zorlama sonucunda major bir travma olmadan fissür veya tam kırık oluşabilir. Eğitimi yeterli olmayan askerlerde, sporcu ve dansçılarda kas yorgunluklarından sonra görülen kırık bunlara örnek verilebilir (24).

Kırık Tipleri

1) Kemik dokunun sağlamlığına göre

- Normal kemikte (travmatik) kırık
- Hastalıklı kemikte (patolojik) kırık
- Stress (yorgunluk) kırığı

2) Kırık hattının dış ortamlarla ilişkide olup olmamasına göre:

- Kapalı kırıklar
- Açık kırıklar

3) Kırığı oluşturan kuvvete göre

- Direkt mekanizma ile olan kırıklar
- İndirekt mekanizma ile olan kırıklar
- Direkt ve indirekt mekanizma kombinasyonu ile olan kırıklar

4) Kırık sayısına göre:

- Tek kırık hattı
- Çoklu kırık hattı

5) Kırığın derecesine ve kırık hattına göre

a) Ayrılmış (deplase) kırıklar

- Transvers kırık
- Oblik kırık
- Spiral kırık
- Kopma kırığı
- Parçalı kırık

b) Ayrılmamış (non-deplase) kırıklar

- Çatlak (fissür, linear kırık)
- Yeşil ağaç (green stick) kırığı
- Torus (Buckle) kırığı
- Çökme kırıkları

- Kompresyon (sıkışma) kırıkları
- Dişlenmiş (impakte) kırıklar
- Epifizin ayrılmamış kırıkları

6) Kırılan kemiğin histolojik yapısına göre

- Spongioz bölge kırıkları
- Kortikal bölge kırıkları

7) Kırığın kemikteki anatomik lokalizasyonuna göre

- Epifiz bölgesi kırıkları
- Cisim kırıkları
- Distal bölge kırıkları
- Proksimal bölge kırıkları
- Kırıklı – çıkıklar

8) Komşu organ yaralanmasının olup olmamasına göre

Travmaya ait kırıklarda genel belirti ve bulgular; ağrı, duyarlılık, hematoma, ekimoz ve işlev bozukluğudur. Kırığa özgü belirti ve bulgular ; hastanın duruşunda bozukluk, deformite, krepitasyon ve anormal harekettir (25). Genel olarak kırık düşünülen bu bölgenin alt ve üstündeki eklemleride içine alacak şekilde grafi alınır. Patolojik kırık, vertebra kırığı, eklem içi kırığı ve şüpheli durumlarda tomografi yaptırılır

2.3. Kemik oluşumu

Enkondral kemik oluşumu

Embriyolojik yaşamdan büyüme tamamlanıncaya kadar iskeletin kıkırdaktan oluşmuş kısımlarının kemik yapıya dönüşmesi olayına endokondral kemikleşme denir. Doğum sonrası stabil olmayan kemik kaynaması da aynı yolla olur (6,26,27).

Osteoprogenitör hücreler kıkırdak matriks salgılar ve kondrositlere dönüşürler. Hyalin veya hyalin benzeri çoğunlukla tip II kıkırdak oluşumu görülür. Bunu kıkırdağın mineralizasyonu ve vaskülarizasyonu takip eder. Vaskülaritenin artışıyla hücreler kıkırdağın rezorbsiyonuna başlar. Rezorbe olan kıkırdağın ortasında medüller boşluk oluşur. Hematopoetik kemik iliği bu alanda gelişir. Osteoprogenitör hücreler kıkırdağimsi septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayacak olan osteoblastlara dönüşür. Sonraki aşamada ise immatür kemik ve kalsifiye kıkırdak karışımı osteoklastlarca rezorbe edilerek yerine osteoblastlarca matür kemik dokusu oluşturulur (27). Enkondral kemik oluşum örnekleri; embriyonik uzun kemik oluşumu, uzun kemiklerin boyuna büyümesi, demineralize kemik kullanılarak oluşan kemik (28).

Embriyonik uzun kemik oluşumu

Genellikle intrauterin 6. haftada mezenşimal taslaktan oluşur. Enkondral kemik oluşumu embriyonik uzun kemik oluşumundan sorumludur. Yaklaşık 8. haftada mezenşimal modeli vasküler tomurcuklar işgal ederek osteoblastlara dönüşen ve primer kemikleşme merkezlerini oluşturan osteoprogenitör hücreleri getirirler. Kıkırdak modeli büyümesi apozisyonel ve intersitisyel büyüme ile olur. Kıkırdak taslağının merkez kısmının kapiller tomurcuklarla gelen miyeloid öncü hücrelerce rezorbsiyonu sonucunda kemik iliği oluşur. Kemik uçlarında sekonder kemikleşme merkezleri oluşur ve bunlar immatür kemiklerin uzunlamasına büyümesinden sorumlu olan epifizyal büyüme merkezlerini meydana getirir. Bu büyüme süreci sırasında epifizyal arter, metafizyal arterler, besleyici arterler ve perikondral arterlerden oluşan zengin bir arteryel kaynak vardır (29).

İntramembranöz kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme kıkırdak bir model olmadan kemik oluşumudur (30). İntramembranöz kemikleşmenin olacağı bölgedeki mezenkim hücrelerinden fibroblastlar gelişerek kollojen sentezlerler. Fibriller yapıdaki kollojenin membran yapısı oluşturmasından dolayı bu adı almıştır.

Bu membran içindeki mezenkim hücrelerinden osteoblastlar farklılaşır. Osteoblastlar organik matriks sentezine başlarlar. Bir kısım osteoblast, sentezlenip

kalsiyum yoğunluğu artmış olan matriks içinde kalarak osteosite dönüşür. Kemikleşmenin başladığı bu ilk yapı primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Bu merkezlerin histolojik görünümüne spikül (iğnecik) adı verilir. Spiküller aralarında kapiller ve diğer hücrelerin bulunabileceği ağısı yapı oluştururlar. Bu ağısı alanda kemik iliği gelişir (31).

Büyüme tamamlanıncaya kadar kafatası sürekli genişlemektedir. Çap artışının sağlanması için kemiğin iç yüzeyinde konumlanmış osteoklastların kemik rezorpsiyonu yapması, dış yüzeyinde yerleşen osteoblastların da bu oranda sentez yapması gerekmektedir (32).

Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri periost ve endostunu oluştururlar. Distraksiyon osteogenezisinde de kemikleşme aynı mekanizma ile olur. Kırıkta model olmaksızın kollojenin kalsifiye matrikse dönüşümü ile gerçekleşir (27,33).

Apozisyonel Kemik Yapımı

Kemiğin enine genişlemesi ve remodelasyonu bu şekilde olur. Periost ile çevrili kemiklerde, periost içindeki osteoblastlarca sentezlenen osteoid ile tabakalar halinde yeni kemik oluşumu gerçekleşir. Remodelasyonda da gerekli sahalarda osteoblastik aktivasyonla osteoid sentezi yapılır (27).

2.4. Kemik yaralanması ve tamiri

Dıştan ya da içten gelen kuvvetler sonucunda kemiğin anatomik bütünlüğünde bozulma olmasına kırık denir (34). Kırık oluştuktan sonra çeşitli fizyolojik olaylar silsilesi ile kemik bütünlüğü yeniden sağlanmaya çalışılır. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar bırakmadan aslına en yakın şekilde iyileşir (35,36,37). Kırık iyileşmesi kırığın olduğu andan itibaren başlar, kemik tekrar eski halini alıncaya kadar devam eder (34). Kırık iyileşmesinin 2 tipi vardır. Primer ve sekonder (38,39,40).

Primer kırık iyileşmesi

Kırık uçlarının tam redüksiyonu sonrası görülen iyileşme türüdür. Kallus oluşumu görülmez. Bu nedenle rejenerasyon, fibröz ve kondral iyileşme safhaları olmadan direkt kemik oluşumu görülür. Kırık hattında canlı osteojenik hücrelerden osteoklast ve osteoblast farklılaşması olur. Osteoklastlar havers kanallarını genişletirler. Osteoblastlarda genişleyen bu kanallara yerleşerek konsantrik lameller kemik oluştururlar. Periost reaksiyonu görülmez (41,42).

Sekonder kemik iyileşmesi

Kırık iyileşmesi kallus gelişimi ile olur. Embriyolojik kemik oluşumuna benzediği için enkondral kemikleşme de denir (43). Bu iyileşme sürecindeki her faz bir önceki ve bir sonraki fazla iç içedir (1,43).

Cruess ve Dumart' a göre sekonder kırık iyileşmesi 3 evrede oluşur (44).

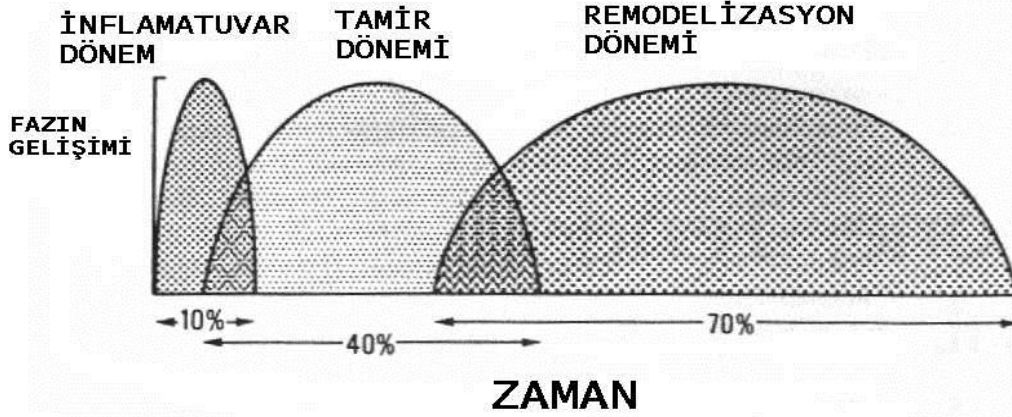
Enflamasyon

Onarım

Yeniden şekillenme (Remodeling)

2.5. Kırık İyileşmesi Evreleri

Kırık iyileşmesi zarar görmüş bir kemik dokunun bu hasara cevap verme ve yenilenme sürecidir. Histolojik olarak iyileşme evreleri sırayla değil birbiriyle iç içe görülür (45). Bunlar; enflamasyon, onarım ve yeniden şekillenmedir (Şekil 2) (46,47).



Şekil 2. Kırık iyileşmesi dönemleri

2.5.1. Enflamasyon

Kemiğin kırılmasıyla sadece kemik değil; kan damarları, kas ve periosteum gibi yumuşak dokular da zarar görür ve kırık bölgesinde bölgesel bir kanama olur. Tüm travmalarda olduğu gibi kırık sonrasında da verilen ilk cevap inflamasyon yani “yangı”dır ve bu dönem ilk 5 günü kapsar.

Oluşan travmayla birlikte kırık uçları periost ve çevre yumuşak doku hasarı oluşturur. Yırtılan küçük damarlar ve lenfatiklerden sızan kan ve lenf sıvıları aynı bölgede toplanır. Kanama olan bölgeye pıhtılaşmayı sağlamak amacıyla trombotik faktörler salınır. Pıhtılaşma başlayınca da hem kırık uçları arasında hem de periost altında hematom meydana gelir. Hematom kırık uçlarını bir arada tutar ve sekonder iyileşmede önemli bir rol alır. Kırık bölgesindeki hematom 48 saat içinde organize olarak fibrin bakımından zengin bir hal alır. Lökosit ve makrofaj diapedezi ile fibrin matriks oluşur (3) (Şekil 3).

2.5.2. Onarım

Tamir sürecindeki ilk basamak kırık hematomunun organizasyonudur. Bu organize olmuş hematoma stabilizasyon oluşturmaktan çok osteojenik hücrelerin

proliferasyonunu ve göçünü sağlayacak olan fibrin ağı oluşumuna katkıda bulunur (48,49). Çeşitli mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler farklılaşarak yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde ve destek hücreleri meydana getirir. Onarım evresi kırık oluşumundan birkaç saat sonra başlar ancak 7-12 gün içinde belirgin hale gelir.

Onarım mekanizmasında rol alan hücreler kırık bölgesindeki granülasyon dokusundan, periosteumun osteojenik tabakasından ve nadiren de endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başlayınca öncelikle kılcal damarlarla hematoma içine giren fibroblastlar değişikliğe uğrarlar. 3. gün sonunda kırık uçlarda bulunan mezenşimal hücreler yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. Yaşlanmayla birlikte bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri azalır (24,50).

Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosta ait damarlar, geç dönemde ise besleyici damarlar kılcal damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Onarımın ilk zamanlarında kırık oluşumu (kırık kallus) belirginleşir. Kırık kallusun damarlanmasından sonra kemik gelişimi başlar. Periostun iç (kambiyum) tabakasındaki Pluripotent Mezenkimal Hücreler (PPMH) kırık bölgesindeki erken dönem kemik yapımında rol alırlar. Bunlar doğrudan osteoblastlara farklılaşarak periostal intramembranöz kemikleşmeyi başlatırlar. Kırık sonrası 4. günde PPMH'in çoğalması ve farklılaşması ile kallus oluşumu başlar. Bu noktada yeni kemik oluşumu belirgindir (Şekil 4). Kırık kemik uçları iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapı oluşturur. Tüm bu onarım evresi 2-40 gün arasında oluşur. Onarım evresinin ortalarında gereksiz ve etkisiz kallus dokusunun geri emildiği yeniden şekillenme başlar.

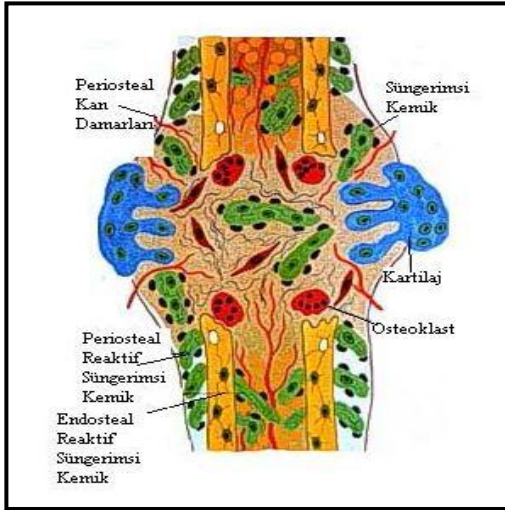
2.5.3. Yeniden şekillenme

En uzun evre olup, aylar hatta yıllar sürebilir. Bu dönem, mineralize kallusun normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümünü ve aşırı yapılmış olan kallusun rezorpsiyonunu içerir (1,51,52). Bu süreç boyunca onarım evresinde oluşan birincil kemik lameller kemikle yer değiştirir (53). Kemik iliği boşluğunun tekrar oluşması ile kırık iyileşmesi sona erer (Şekil 5).

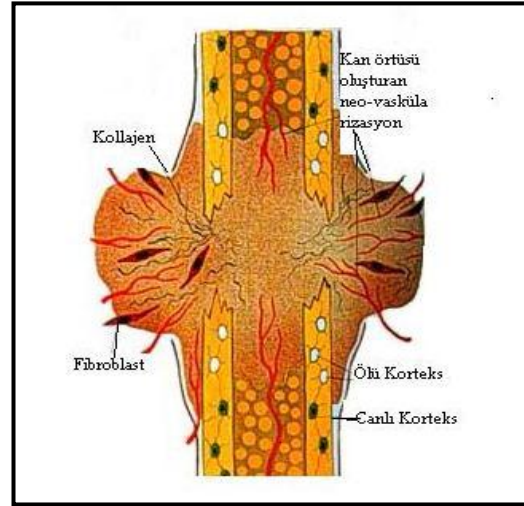
Yeniden şekillenme döneminde başlıca 4 süreç öne çıkar:

- 1- Mineralize kırıkdağın osteoid doku ile yer değiştirmesiyle primer spongiozanın oluşumu,
- 2- Spongioz dokunun yerini yeni lamellar kemik paketlerinin alması,
- 3- Kompakt kemik uçlarındaki kallusun yerini lamellar kemikten yapılmış sekonder osteonların alması,
- 4- Medüller boşluğu kaplayan kallus dokusunun uzaklaştırılarak, boşluğun yeniden düzenlenmesi (54).

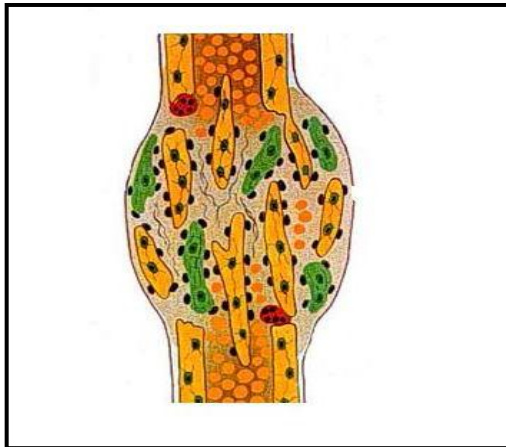
Bu dönemde hücre ve matris değişiklikleri olur ancak asıl önemli değişim kemiğin mekanik stabilitesindeki progresif artıştır (55).



Şekil 3. Enflamasyon dönemi



Şekil 4. Onarım dönemi



Şekil 5. Yeniden şekillenme dönemi

2.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kırık iyileşme süreci organize olmuş birçok hücre tipinin yardımıyla gerçekleşen, bu süreç boyunca birçok faktörün etkili olduğu, karışık fizyolojik bir süreci içermektedir. Kırığın olduğu yer, kırık yerinin kanlanma özellikleri, kırığın açık veya kapalı oluşu ve kullanılan ilaçlar (örneğin; steroidler, nonsteroid antienflamatuarlar, antikoagulanlar) gibi birçok değişken kırık iyileşmesine etki etmektedir. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler sistemik ve lokal olmak üzere başlıca iki ana grupta incelenebilir (45,56).

2.6.1. Sistemik faktörler

Yaş

Kırık iyileşmesinde hasta yaşı önemlidir. Çocukluk çağında revaskülarizasyon ve mezenşimal hücre farklılaşması hızlı seyrederken ileri yaşta revaskülarizasyon ve hücre farklılaşması yavaşladığından kemik iyileşmesi de yavaşlar. Bu nedenle çocuklarda ki kırık iyileşmesi erişkinlerden daha hızlıdır (55).

Beslenme durumu

Basit açlık durumu gibi kan glikoz ve protein dengesini etkileyen durumlar kırık iyileşmesini olumsuz şekilde etkileyebilir (57).

Hormonlar

Büyüme Hormonu (Human growth hormone): Kırık iyileşmesine etkisi tartışmalıdır. Büyüme hormonu miktarındaki azalmanın kırık iyileşmesini yavaşlattığına ait çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca bu hormon miktarındaki fizyolojik sapmaların kırık iyileşmesinde çok az etkisi olduğuna ait çalışmalar da bulunmaktadır. Büyüme hormonunun, kallus hacminde artışa sebep olduğu belirtilmektedir (58).

Paratiroid Hormon (PTH): Vücutta kalsiyum dengesini sağlayan temel hormondur. Osteoklast sayısını çoğaltıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve

osteositleri uyararak osteolizi hızlandırıcı etkileri bulunmaktadır. Net sonuç kemik kaybı ve kırık iyileşmesinin yavaşlamasıdır (59,60).

Kalsitonin: PTH'un antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Kalsitoninin en önemli etkisi plazma Ca^{+} konsantrasyonunu düşürmektir. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı bulunmaktadır. Ancak iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır.

İnsülin: Kırık iyileşmesini hızlandırır. Proteine bağlı kalsiyum artışını etkileyerek kırık iyileşmesine olumlu etkisi olur. İnsülinin kemikteki kollajen sentezini stimüle edici etkisi önemli bir durum olarak belirtilmiştir (61).

Tiroid Hormonu: Paratiroid hormonu gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder. Kırık iyileşmesine de yardım ettiği ileri sürülmüştür.

Kortikosteroidler: Kortizon kırık iyileşmesine olumsuz etki eder. Mezanşimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli moleküllerin sentezini azaltıp, kırık iyileşmesini geciktirir ve kallus oluşumunu azaltır. Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü (FDGF), epidermal kaynaklı büyüme faktörü (EGF), ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (62).

Sistemik hastalıklar

Diyabetes mellitus, anemi, raşitizm gibi hastalıklar kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerdeki proteolitik enzimler matriksi bozar ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi ile ilgili hastalıklardaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur.

Vitaminler

A vitamini normal dozda mezankimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine olumlu yönde etkiler. Eksikliğinde osteoblast ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir (45,51, 44). A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırıkta aşınma meydana gelir. Osteoklastlara dönüşüm fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir (51). C Vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler (63). D Vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etkiler (51). B6 Vitamini eksikliği ve K Vitamini antagonistleri (warfarin) kırık iyileşmesine olumsuz yönde etki ederler (64).

İlaçlar

Antikoagülanların hastalarda oluşabilecek kırıklarda iyileşme sürecinde önemli bir farklılık saptanmamıştır. Steroid olmayan antienflamatuvarların kırık iyileşmesi üzerine inhibe edici etkisinin olduğu düşünülmektedir. Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir (51, 65). İndometazinin yüksek dozlarda kırık iyileşmesini durdurduğu gösterilmiştir (25, 51).

Diğer faktörler

Merkezi sinir sistemi travmaları bulunan hastalarda uzun kemiklerde ve eklemlerde artmış bir osteogenesis olduğu saptanmıştır.

Günde iki saat kadar 2-3 atmosfer basıncında uygulanan hiperbarik oksijen uygulamasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (51).

Nikotin kullanımının kırık iyileşmesindeki inhibe edici etkisi deneysel modellerde gösterilmiştir. Sigaranın C ve E vitaminlerinin antikanserojen etkisini azalttığı belirlenmiştir ve sigara tiryakilerinin kemiklerinin daha çabuk kırıldığı not edilmiştir.

Polipeptid yapıda olan büyüme faktörleri hücre fonksiyonunun lokal düzenleyicisidirler. Kırık oluşumu sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda bulunmamaktadır. Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf, sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici "coupling" faktörlerden olan prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörlere ihtiyaç vardır. Prostoglandinler hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenirler. İltihap hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Kemik uyarıcı faktörler farklılaşmamış mezanşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar (50,66,67).

2.6.2. Lokal faktörler

Travmaya bağlı nedenler

Travmanın şiddetine bağlı olarak kemik ve yumuşak doku hasarı oluşur. Çok parçalı, açık ve kirli yaralanmalarda kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir. Kırık sahasının kanlanması iyi değilse ve kırık fragmanları canlı değilse kallus oluşumunda sorunlar görülebilir. Kırığın deplase olması, travmanın şiddetinin büyük olması kan dolaşımını bozarak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (2). Eklem içine uzanan kırıklarda; eklem sinovial sıvısında bulunan kollajenazlar, başlangıç matriksini bozar ve iyileşmenin ilk evresini yavaşlatırlar.

Tedaviye bağlı nedenler

Yeterli şekilde ve sürede tespit kırık kaynamasının en önemli unsurudur. Stabil bir fiksasyon ve erken yük verilmesine olanak sağlayan tespitler mikro hareketlerle kırık iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Stabilizasyon yapılırken kanlanmayı olumsuz yönde bozan yumuşak doku ve kemikteki tahribat kaynamayı olumsuz etki yapar.

Kemik kırık iyileşmesinde biyolojik internal tespit çok önemlidir. Konsept kırık iyileşmesinde stabilite ve biyolojik integrasyon arasında iyi balans sağlanmasıdır. Kırık tedavi prensipleri anatomi, stabilite, biyoloji ve mobilizasyondur. Ayrıca kırık tespitinde metod ve teknikler yeni implantların çıkması ile sürekli değişmektedir. Kırık tedavisinde konvansiyonel intramedüller çividen kilitli çiviye, reamerizeden reamerize edilmeyen çivilemeye, plak tespitinde kesin tespitten (absolutely stable), göreceli (relatively stable) fiksasyona, kompresif plak fiksasyonundan kilitli internal tespite kırık iyileşmesini olumlu yönde etkileyen faktörlerden bazılarıdır.

Travma veya komplikasyonlara bağlı nedenler

Kemiklerde dejeneratif, metabolik, tümöral, enfeksiyon, radyasyon gibi nedenlere bağlı olarak kırılmaya eğilim artabilir ve ufak bir travma ile kırıklar oluşabilir. Kırılan kemik bölgesinde lokal malign tümörler ya da enfeksiyon varlığında bölgedeki malignite ve enfeksiyona ait hücreler nedeniyle kırık iyileşmesinde sorunlar görülebilir. Tüm bunlara neden olan olguların tespiti yapılmadan sağlıklı bir kırık iyileşmesinden söz etmek oldukça güçtür.

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

Enfeksiyon

Mevcut enfeksiyonun kırık iyileşmesindeki olumsuz etkileri ile kaynamamaya neden olduğu bilinmektedir. Enfeksiyöz materyal fibröz kallus oluşumunu engeller. Enfeksiyon kırık bölgesine eksojen olarak açık yaralanmalarla, iatrojenik olarak cerrahi müdahalelerle çok nadir olarak da sistemik enfeksiyonun kırık bölgesine gelmesi ile meydana gelebilir (59).

2.7. Kemik Greft Uygulamaları

Kemik defektlerinin tedavisi ve restorasyonu uzun bir geçmişe sahiptir. Modern tıpta Dr Philip von Walter kemik defektlerinin tedavisinde greft uygulamalarını yapan ilk cerrah olarak kabul edilir (1821). 1920 lerden sonra kemik grefti uygulamaları sık uygulanan bir cerrahi işlem halini almıştır ve günümüzde de sıklıkla uygulanmaktadır.

Kemik grefti uygulamaları iki amaca hizmet eder. Bunlar kaybolan bir kemiğin yerine koyulması veya kemik formasyonun düzeltilerek yapısal bütünlük ve fonksiyonun yeniden sağlanmasıdır.

Travma, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler, kas iskelet sistemi tümör cerrahisi, revizyon artroplastisi cerrahisi ve spinal cerrahi gibi rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek maddeler artan sıklıkla kullanılmaktadır (68, 69). Kemik grefti olarak otoplastik ve allogreftler kullanılır. Kemik yerine geçebilecek maddeler arasında seramikler (doğal ve sentetik), demineralize kemik matriksi, BMP (kemik morfojenik protein), otoplastik kemik iligi, büyüme faktörleri ve kompozit greftler sayılabilir.

Klinik başarı, oluşan kemiğin yeniden şekillenme sonucu çevre kemik dokusu ile yapısal olarak bütünleşmesi (integration) ve oluşan kemiğin fonksiyon görmek için yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olması ile belirlenir.

Greft materyallerinin kemikle bağlanması dört mekanizma ile olur (70,71).

1-Osteojenez

2-Osteokondüksiyon

3-Osteoindüksiyon

4-Osteointegrasyon

Osteojenez, osteoblastların ve prekürsör hücrelerin greft materyali ile birlikte defekt bölgesine transplante edildiği durumlarda gerçekleşir. Osteokondüksiyon, greft materyalinin prekürsör hücreler ve osteoblastların içerisine doğru büyümesi için bir çatı görevi gördüğü durumlarda gerçekleşir. Eğer kullanılan materyal dereceli olarak rezorbe oluyorsa yerini kemik dokusuna bırakır. Rezorbe olmayan materyaller remodeling sırasında yer değiştirmez ve içerisine kemik apoziyonu ile sınırlıdır. Osteoindüksiyon,

bir veya daha fazla ajanın etkisi ile farklılaşmamış lokal bağ dokusu hücrelerinin farklılaşması sonucunda yeni kemik oluşumunu başlatır. Osteointegrasyon greftin arada fibröz doku oluşumuna yol açmayacak şekilde alıcı kemik yüzeyine kimyasal olarak tutunabilmesidir.

Kullanılan greft materyalleri osteointegrasyon, osteogenezis, osteokondüktif veya osteoindüktif özelliklerin birine veya birden fazlasına sahiptirler. Bu özelliklerin bazıları sentetik materyallerde ve saflaştırılmış büyüme faktörlerinde de bulunmaktadır. Bu da doku mühendisliğini, mevcut maddelerin kombinasyonları veya yeni materyaller ile kırık iyileşmesi için en uygun ortamın ve greftleme metodlarının geliştirilmesi yoluna itmiştir. Bu sayede greftleme tekniklerinin maliyetinin azaltılması ve tedavide yeniliklerin elde edilmesi amaçlanmaktadır (74).

Yakın zamana kadar ortopedik cerrahların elinde kemik kaynağı olarak sadece otolog kemik ve allogreftler bulunmaktaydı. Doku mühendisliği uygulamalarının gelişmesi ile günümüzde cerraha birçok farklı seçenek sunmak mümkün olmuştur. Bunlar otolog kemik greftleri, allogreftler ve kemik grefti yerini tutabilecek maddelerdir.

Otolog Kemik Greftleri

Bireyin bir bölgesinden alınıp gerekli bölgeye nakil edilen, canlı osteoblast ve osteoprogenitör hücreleri içeren grefttir. Halen greft materyallerin altın standardı olarak kabul edilir. Otojen kemik greftlerinde kemik iyileşmesi osteojenez, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon yoluyla olur (72). Avantajları, biyouyumluluk ve osteojenik etkileri yüksek olması ile antijenik özelliklerinin ve ek maliyetinin olmamasıdır.

Kemik İliği

Kemik iliği tek başına osteojenik greft olarak kullanılabilir. Aspirasyon sonrası elde edilen kemik iliği; sitokinler, diğer kemik iliği kökenli hücreler gibi osteoblastik progenitorler ve hızlı revaskularize olan emilebilir biyolojik fibrin matrisi içerir. Kemik iliği, iliak kanattan aspire edilip periferik kan ile 20-40 kat seyreltikten hemen sonra

kullanılmalıdır. Kemik iliği, diğer materyaller ile karıştırılarak kullanıldığında, tedavi yanıtını arttıırırlar (73).

Allogreftler

Genetik olarak farklı aynı canlı türünden elde edilen greft tipidir. Allogreftler; poroz yapıları içinde progenitor hücrelerin ve endotelyal hücrelerin tutunduğu birçok kimyasal alan bulundurlar. Aynı zamanda, osteoklastlar tarafından rezorbe edildiklerinde serbest kalan kemik matriks içinde büyüme faktörleri de içerirler. Allogreft kemikte, osteoindüktif özellik taşıyan az miktarda kemik morfojenik proteini de bulunur. Demineralizasyon, allogreft kemik matriksindeki büyüme faktörlerinin biyoyararlanımını artırır (74). Modern allogreft kemik elde etme işlemleri esnasında uygulanan ileri yıkama basamakları ile greftin içinde kalan hücre sayısı azaltılır. Bu yıkama basamakları ile immunojenik antijenler ve virüs kaynaklı hastalık geçme riski de azaltılmış olur.

Allogreftlerin standart otogreftlere göre avantajları şunlardır (75):

1. Otojen kemik alımı sırasında ortaya çıkan morbidite önlenir.
2. Otogreftin yeterli olmadığı büyük kemik kayıplarında yeterli miktarda greft sağlanır.
3. Otojen kortikal greftlere göre daha büyük miktar ve değişik boyutlarda allojen kortikal kemik sağlanabilir.
4. Jel, toz, fiber ve macun olarak birçok şekilde allogreftler islenebilir.

Bu da amaca yönelik kullanım kolaylığı sağlar. Morselize ve kansellöz kemik yongalar, kortikokansellöz ve kortikal greftler, osteokondral greftler ve tüm kemik segmentleri gibi birçok değişik ürün elde edilebilir.

Allogreft ve otogreftlerin farklı özellikleri karşılaştırmalı olarak tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Otogreft ve allogreftlerin karşılaştırılması

Kemik grefti	Yapısal dayanıklılık	Osteokondüksiyon	Osteoindüksiyon	Osteogenezis
Otogreft				
Kansellöz	Yok	+++	+++	+++
Kortikal	+++	++	++	++
Allogreft				
Kansellöz-Donmuş	Yok	++	+	Yok
Kansellöz-Dondurulup kurutulmuş	Yok	++	+	Yok
Kortikal-Donmuş	+++	+	Yok	Yok
Kortikal-Dondurulup kurutulmuş			Yok	

Morselize ve Kansellöz Allogreftler: Osteokondüktifler ve kompresyona karşı mekanik olarak destek sağlarlar. Kemik kistlerinde küretaj sonrası oluşan kaviterin doldurulmasında ve periartiküler metafiz kırıklarında eklem yüzeylerinin kaldırılması sonucu oluşan kemik boşlukların doldurulmasında morselize allogreftler kullanılabilir. Dondurulup kurutulmuş ve vakumla paketlenerek kullanıma hazırlanırlar.

Osteokondral ve Kortikal Allogreftler: Pelvis, kostalar, femur, tibia ve fibuladan elde edilerek majör kemik ve eklem kayıplarında kullanılırlar. Ekstremitelerde koruyucu cerrahiler sonrası, büyük kemik kayıplarını rekonstrükt etmek için sık olarak kullanılırlar. Ayrıca periprotetik kırıkların tedavisinde hem yapısal hem de mekanik destek sağlarlar. Osteokondüktif özellik taşıyan bu greftler, derin dondurularak veya dondurulup kurutulmuş olarak saklanabilirler. Düşükte olsa HIV taşıma potansiyelleri vardır (76).

Demineralize Kemik Matriksi (DBM)

Osteokondüktif ve farklı derecelerde osteoindüktif bir materyal olarak kemik kayıplarını ve boşlukları doldurmak için tercih edilir. DBM çok çabuk olarak yeniden damarlanır ve otolog kemik iliği için iyi bir taşıyıcıdır. Demineralize kemik matriksinin biyolojik aktivitesi, ekstrasellüler matrikste bulunan proteinler ve büyüme faktörleri ile gerçekleşir. Dondurulmuş-kurutulmuş toz, ezilmiş granüller veya yongalar, jel veya macun şeklinde kullanılabilir (76). Uzun kemik kaynamamaları ve kırık sonucu oluşan kemik kayıplarında otolog kemik greftleri gibi DBM'nin de iyileşme etkisinin olduğu bazı çalışmalar bulunmaktadır (77,78,79). Ayrıca otolog kemik grefti kullanılmayan hastalarda alternatif olarak DBM kullanılabilir.

Seramik Matriksler

Hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat (TCP) gibi kalsiyum fosfat birleşikleri ve kalsiyum sülfat tuzları seramik matriksler olarak adlandırılırlar. Hızlı rezorbe olanlar, yavaş rezorbe olan seramikler ve enjekte edilebilen seramik çimentolar olarak 3 gruptan oluşur (75). Hızlı rezorbe olanlar poroz TCP implantları, TCP tozlarının naftalin gibi taşıyıcılar kullanılarak sıkıştırılması ile olur. TCP, hidroksiapatite göre daha hızlı çözünür ve rezorbe olur. TCP'nin granül formu kemik grefti olarak daha kullanışlıdır (75). Yavaş rezorbe olanlara örnek olarak hidroksiapatit kristalleri verilebilir. Hayvan ve insanlarda yapılan çalışmalar sonucunda hidroksiapatit poroz implantların fibrovasküler doku ile kaplanarak lameller kemiğe dönüştüğü gözlenmiştir ve oluşan kemik otojen grefte benzer görünümde (75). Enjekte edilen seramik çimentolar a-TCP, dibazik dikalsiyum fosfat ve tetrakalsiyum fosfat monoksit karışımlarından meydana gelir. Maddeler likid macun şeklinde karıştırılır ve ardından belirgin ısı oluşmadan kristalize olarak sertleşir. Klinik olarak açık ve kapalı olarak kırık sahasına ve kemik kaybı olan bölgeye uygulanabilir. Radius distal uç kırıklarında, humerus proksimal uç kırıklarında, vertebra kompresyon kırıkları tedavisinde enjekte edilebilen seramik çimentolar kullanılır (75).

Biyoaktif Camlar

Silikon dioksit (%45), kalsiyum oksit (%24,5), disodyum oksit (%24,5) ve pirofosfatın (%6) birleşmesinden meydana gelir. Uygulandığında kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin ilerlemesini sağlayan poroz matriksi meydana getirir (76). Granül, blok ve çubuk şeklinde ürünler vardır. Absorbe olan ve olmayan tipleri bulunur. Antibiyotikler ile ve kemik yapımını arttıran maddeler ile karışım halinde kullanılamazlar. Hidroksiapatit implantlardan daha dayanıklıdırlar (70).

Cam İyonomerleri

Kalsiyum-aluminyumflorosilikat cam tozu ile polikarboksilik asitin polimerizasyonu sonucu elde edilir. İşlem esnasında ekzotermik reaksiyon oluşmaması nedeniyle kemik çimentosundan üstündür. Antibiyotik ve kemik oluşumunu uyaran maddeler ile kanştınlabılır. Toz formundadır ve rezorbe olmaz. Kompresif gücü ve elastisitesi kortikal kemik ile eşdeğerdedir (70).

Aluminyum Oksit

Aluminyum oksit, birkaç biyoaktif materyalin karışımından oluşur. Ancak tek başına greft olarak kullanılmaz. Aluminyum seramikler, biyoaktif camlar gibi implant ve kemik arasında iyon değişimi yapmazlar. Bu yüzden osteointegrasyonu sağlayamazlar. Bunun yerine, implantın üzerindeki streslere bağlı olarak, çevreleyen kemikle arasında mekanik bir bağ oluşur. Aluminyum seramikler çok sert ve katıdırlar. Eğilmeye bağlı kırılmaya karşı seramikler, hidroksiapatitlere göre çok daha dayanıklıdırlar. Granül ve blok formları bulunur. Rezorbe olmazlar. Antibiyotik ve kemik oluşumunu uyaran maddeler ile karıştırılmazlar. Kemik greftini genişletmek için, açık kama osteotomilerinde, eklem protezlerinde kaplama olarak kullanılırlar (70).

Kemik Morfojenik Proteinleri (BMP)

Kemik morfojenik proteinleri, düşük molekül ağırlıklı kollajen olmayan glikoproteinlerdir. Bu protein ailesi çok sayıda büyüme ve farklılaşma faktörü içeren bir

grup olan TGF- β (transforme edici büyüme faktörü- β) grubuna dahil olan dimerik moleküllerden oluşmaktadır. BMP adı ile anılan proteinler; osteojenik proteinler, kırık kaynaklı morfojenik proteinler ya da büyüme ve farklılaşma faktörleri gibi çeşitli isimlerle anılan otuzdan fazla molekül bu aile içinde yer almaktadır ve hepsi birlikte TGF- β grubunun üçte birinden fazlasını oluştururlar.

Kemik morfojenik proteinleri, tüm kemik proteinlerinin ağırlık olarak %0,1'ini oluştururlar. DBM, kemik morfojenik proteinlerinin kanşımından oluşur ve immünojeniktir. Ancak saf BMP, immünojenik ve türlere özgü değildir. Rekombinant gen teknolojisi ile kemik morfojenik proteinleri ayrı ayrı üretilmiştir. Klinik kullanımda ise BMP kanşımları saflaştırılmış kemik ekstraterinden elde edilmektedir.

Gelecekte BMP'ler revizyon artroplastisinde, femur başı avasküler nekrozunda, omurga füzyonunda ve enjekte edilebilir formlarıyla minimal invaziv cerrahide yaygın kullanım alanı bulacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma Planı

Biz bu deneysel çalışmamızda farklı greft materyallerinin oluşturulan rat femur defektif kırıklarındaki iyileşme üzerine etkileri incelendi. Bu amaçla 80 adet Wistar-Albino tipi erkek rat Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Çalışmaya başlanmadan önce Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve İnceleme Komisyonundan deney hayvanları etik kurul onayı alındı (Karar tarihi: 25.12.2014, Karar No:2014 / 11/1). Wistar -Albino tipi ratlar 12 haftalıktan büyük olacak şekilde ayrılmıştır. Ağırlıkları 280-320 gram arasında olan erkek ratlar seçildi. Çalışma Mustafa Kemal Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Rastgele oluşturulan gruplar dörte ayrıldı(Tablo 2).

Tablo 2. Deney hayvanları dağılım tablosu

	Rat sayısı
Kontrol	20
Çalışma 1	20
Çalışma 2	20
Çalışma 3	20

Çalışma 1 grubuna kansellöz allogreft(TranZgraft®, TBI/TISSUE BANKS INTERNATIONAL, CA, USA), çalışma 2 grubuna demineralize kemik matriksi (SureFuse®, HansBiomed Corp., Seoul, Korea) ve çalışma 3 grubuna biyoaktif cam seramik(BonAlive® putty, BonAlive Biomaterials Ltd, Turku, Finland) oluşturulan kemik defekt alanına uygulandı(Resim 56). Kontrol grubundaki ratlara herhangi bir

madde uygulanmadı. Çalışma boyunca ratlara herhangi bir diyet kısıtlaması uygulanmamıştır. Denekler fizyoloji laboratuvarındaki optimal rat barınağında, ortalama 22 °C sıcaklıkta ve 12 saat ışık-12 saat karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Kuru fare yemi ile beslendi. Bütün grublardaki ratlar 6. haftada yüksek doz Ketamin HCL ve Xylazine verildikten sonra servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edilerek deneyler sonlandırıldı.

3.2. Cerrahi Teknik

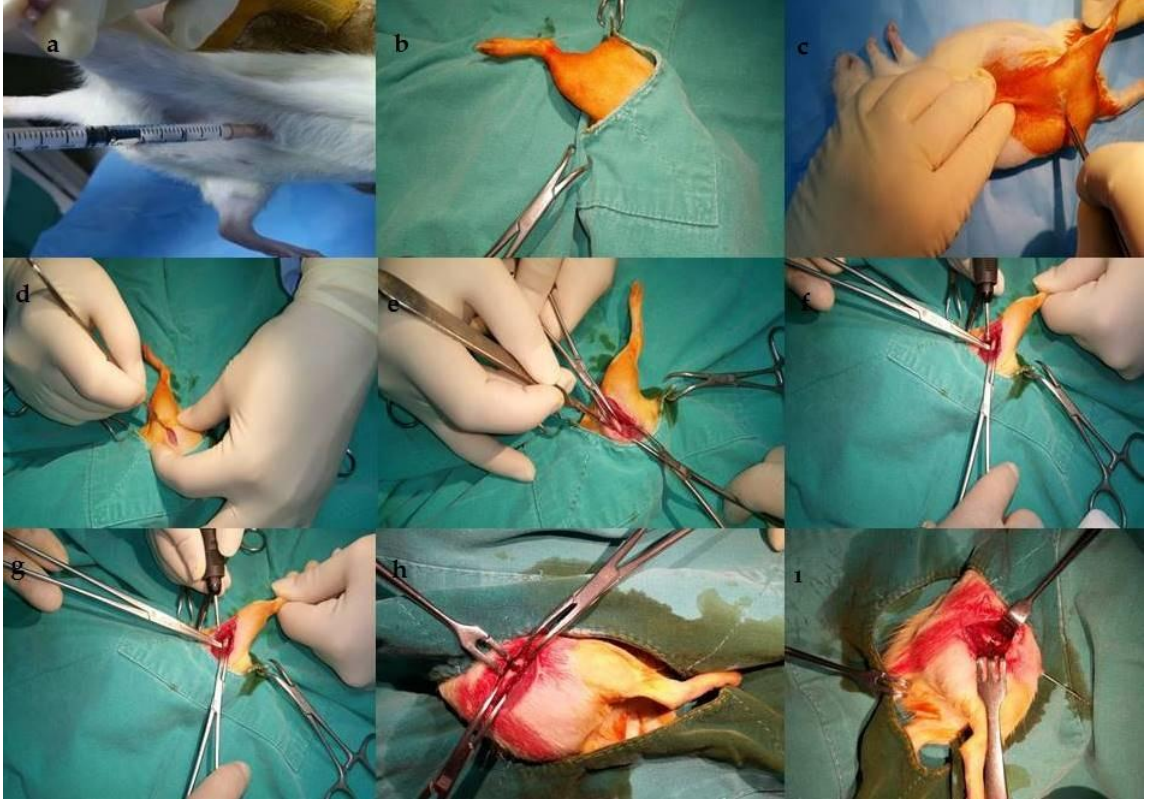
Anestezi

Her bir deneğin ağırlığı elektronik tartı ile tartılarak anestezi ilaç dozu belirlendi. 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 anestezi uygulanmıştır.

Cerrahi İşlem

Anlatılan yöntemle anestezi sağlandıktan sonra Betadine scrub (10% povidoneiodine, Merkez-Türkiye) solüsyonu ile lokal saha temizliği yapıp ratlarda steril alan oluşturulmuştur (Resim 7). İşlem öncesi ve sonrasında profilaktik antibiyoterapi olarak 50 mg/kg Sefazolin sodyum (Sefazol flk. ®, Mustafa Nevzat, İstanbul) intramuskular enjeksiyonu yapıldı.

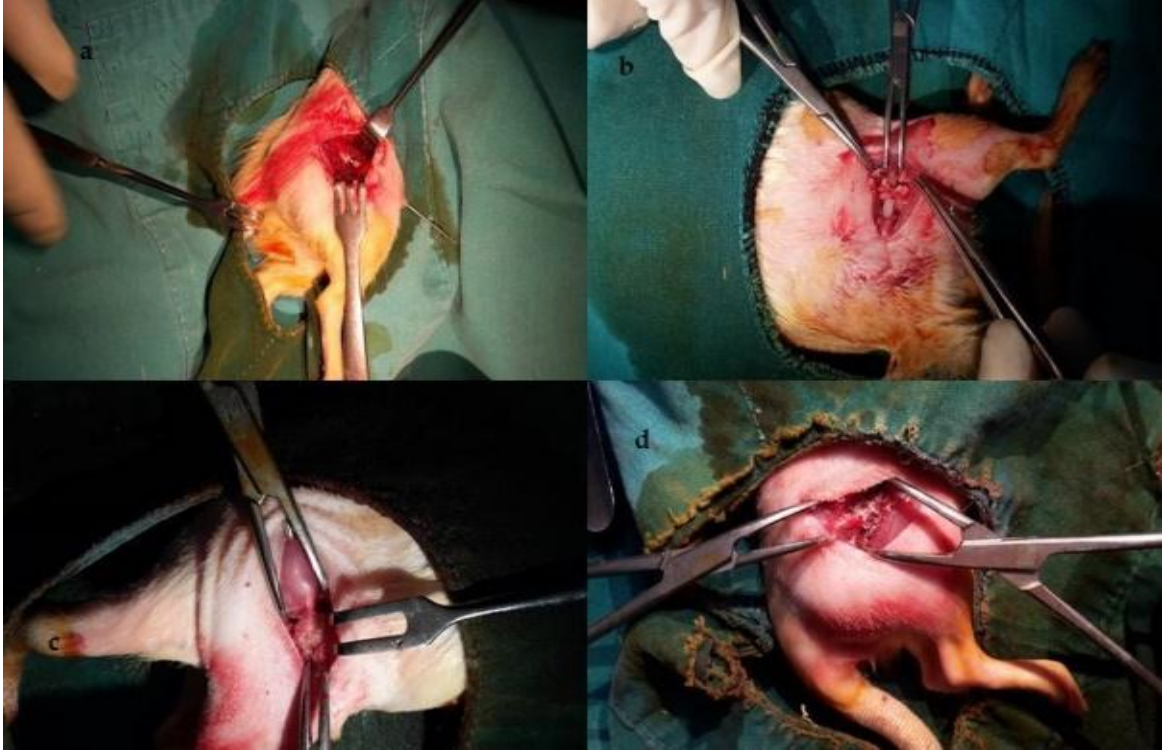
Femur cisim lateralinden 3 cm'lik longitudinal insizyon ile cilt geçildi (Resim 7). Kaslar künt disseke edilerek femur shaftı ortaya konuldu.. Femur shaft ortasından, elektrikli testere ile cismin 2 katı büyüklüğünde defekt oluşturuldu(80). 2 mm'lik Kirschner teli(K-wire) ile retrograd intramedüller girilip femur defektif kırığı tespit edildi. Kanal içinde kalan telin dışarıda kalan kısmı yan keski yardımı ile kesildi (Resim 1).



Resim 1. Ratın hazırlanması

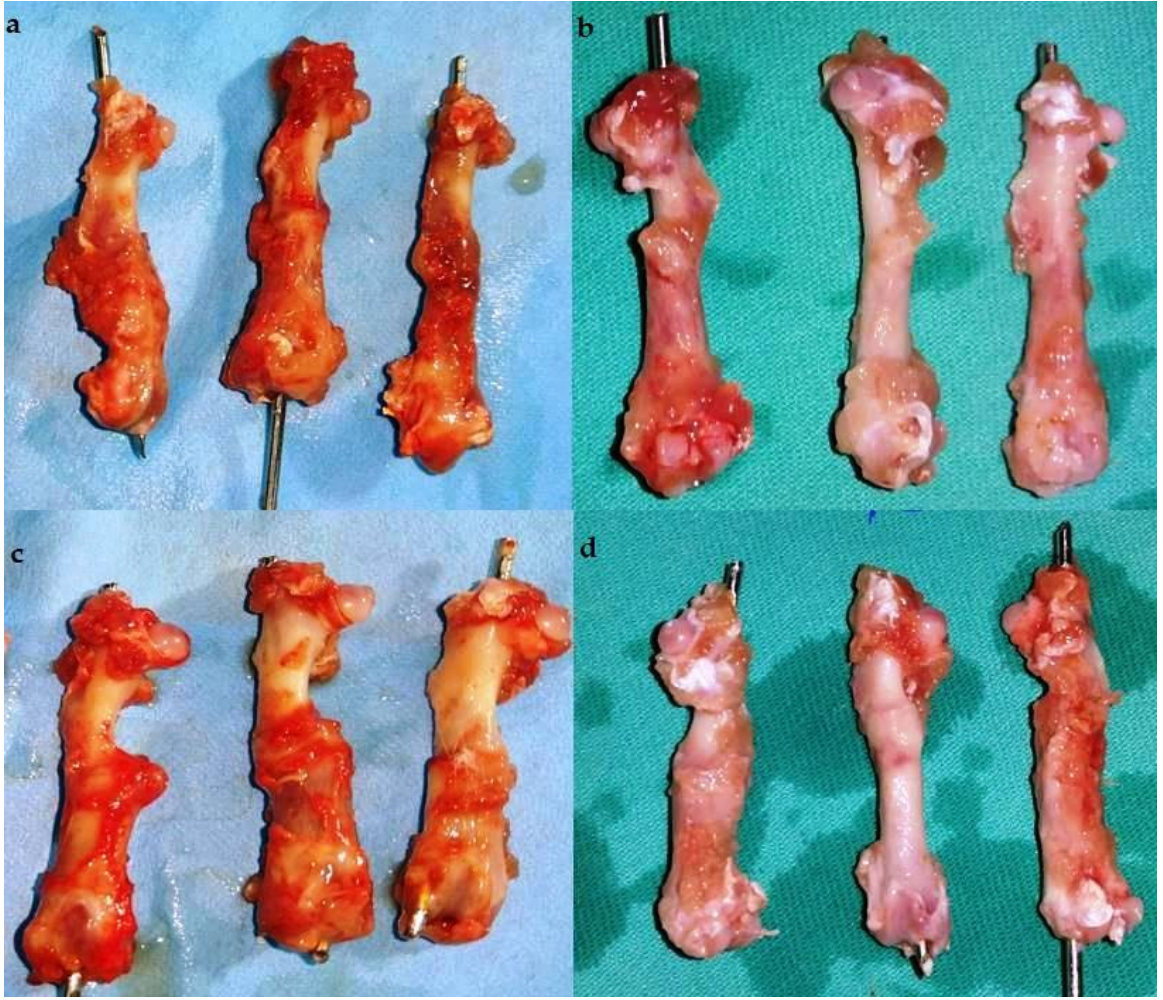
Oluşturulan femur defektif alanı kontrol grubunda boş bırakıldı. Çalışma grubu 1'e kansellöz(dondurulmuş-kurutulmuş) allogreft, çalışma grubu 2'ye demineralize kemik matriksi, çalışma grubu 3'e biyoaktif cam seramik yerleştirildi(Resim 2).

Açılan insizyon yeri greft yerleştirilmeden steril 10 cc SF ile yıkanmıştır ve 2/0 ipek ile primer basit suture tekniği ile dikilmiştir. Daha sonra yara yeri povidon iodyür ile silinerek sıçan ameliyat masasından alındı.



Resim 2. Farklı çalışma gruplarından uygulama örnekleri a)kontrol b)allogreft c)deminralize kemik matriks d)biyoaktif cam seramik

Ratların bakımları ve beslenmeleri Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında, veteriner hekim kontrolünde, bakım sorumluları tarafından sağlandı. Bütün ratlar işlemden 6 hafta sonra sakrifiye edildiler. Sakrifikasyon amacı ile aşırı doz anestezi (100mg/kg Ketamin) uygulandıktan sonra servikal dislokasyon uygulandı. Sakrifiye edilen deneklerin femurları eski insizyon yerinden girildi ve çevre yumuşak dokulardan temizlenerek eksize edildi(Resim 3). Eksize edilen femurlar biyomekanik ve histopatolojik çalışma yapılmak üzere %10 tampon formalin solüsyonuna yerleştirildi.



Resim 3. Farklı çalışma gruplarından eksiz edilen femur örnekleri. a)kontrol grubu b)allogreft grubu c)demineralize bone matriks d)biyoaktif cam seramik

3.3. Biyomekanik Değerlendirme

Test için kontrol grubundan 6. haftada sakrifiye edilen 10 adet rat, 1.çalışma grubundan(allogreft) 10 adet rat, 2.çalışma grubundan(demineralize bone matriks) 10 adet rat ve 3.çalışma grubundan (biyoaktif cam seramik) 10adet rat çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan ratlardan, allogreft grubundan 1 adet rat osteomyelit, cam seramik grubunda 1 ratta kaynama görülmediğinden 1 ratta da abse geliştiğinden 2 adet rat çalışmaya alınmamıştır. 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 Tosyalı Holding mekanik laboratuvarında bulunan ZWICK/Z100 çekme makinesine(Zwick Roell AG, Ulm, Germany) cihazına ek 2 aparat yerleştirilerek yapılmıştır (Resim 4, 5).

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

Femurlara uygulanan çekme kuvvetine 0 N (Newton) ile başlandı. Ağırlık artırımını 20mm/dk olacak şekilde femurlar kırılıncaya kadar devam edildi (117). Kırılma noktasında uygulanan nihai yük sisteme bağlı bilgisayar tarafından kaydedildi.



Resim 4: Biyomekanik tespit cihazı



Resim 5: Cihaza eklenmiş kırma aparatları

3.4. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan 80 adet ratın 40 tanesi 6. haftada sakrifiye edildikten sonra, her gruptan 10'ar rat olacak şekilde 4 ayrı gruba ayrıldı. Sadece allogreft grubunda 2 ratta abse geliştiğinde çalışmaya eklenmedi. 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 fotoğraf makinesi bağlantılı binoküler araştırma mikroskobu ile patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Tüm preparatlar fibröz doku, kıkırdak, yeni kemik ve olgun kemik

oranlarına göre Huo ve arkadaşlarının önermiş olduğu skala ile değerlendirildi (81)(Tablo3). Bu skalaya göre:

Tablo 3. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan skorlama sistemi

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

4.BULGULAR

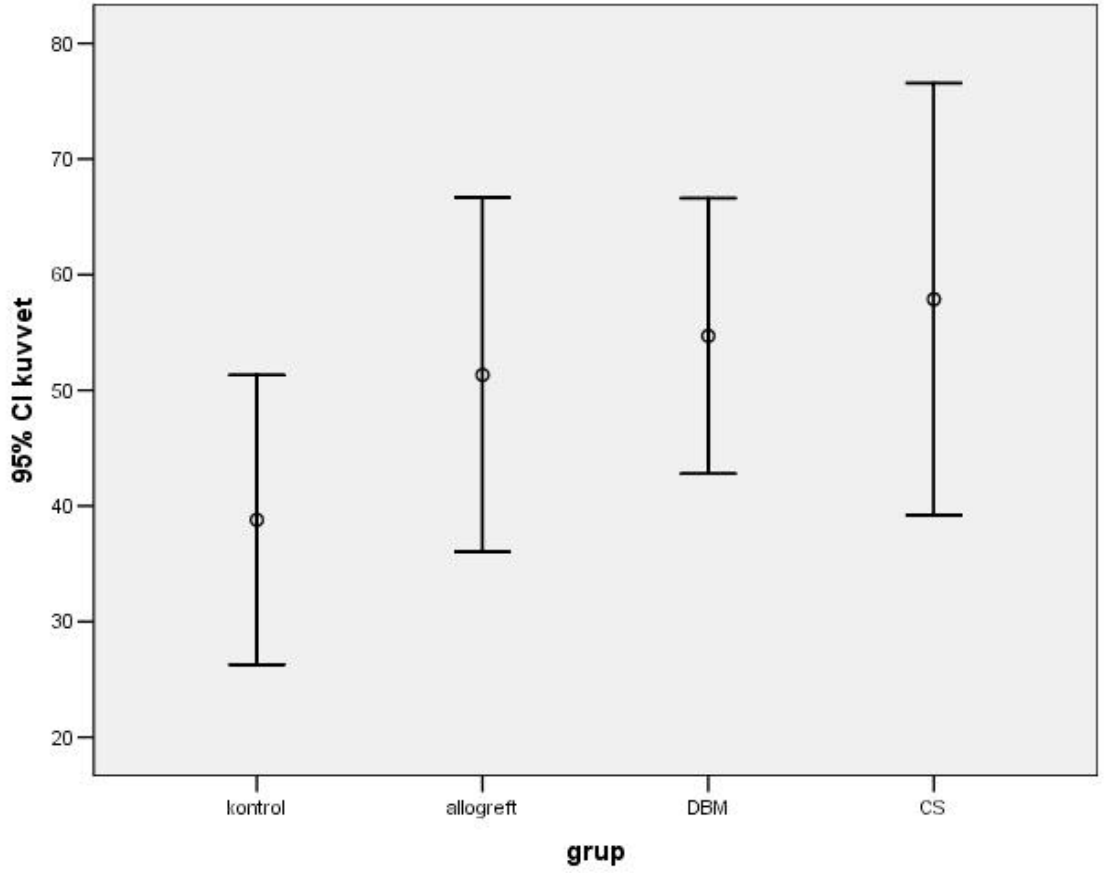
4.1.Biyomekanik Bulgular

Çalışmaya başlandıktan sonra 6. haftada kontrol grubu ve çalışma gruplarından alınan ratlar sakrifikasyon sonrası üç nokta bükme testine (three point bending) yapıldı. İntramedullar materyal çekildikten sonra kontrol grubunda 10, çalışma grubu 1 de 9 çalışma grubu 2 de 10, çalışma grubu 3 te 8 adet rat femurunda teste cevap verecek ölçüde bütünlük mevcuttu ve kallus dokularının bükülme testine verdikleri cevap ölçülüp grafiklendi. Tablo 4 de tüm grupların biyomekanik çalışma sonunda elde edilen kırılma kuvvetlerinin newton cinsinden değerleri görülmektedir.

Tablo 4. Biyomekanik değerlendirme sonuçları (Newton olarak)

Kontrol	Çalışma grubu 1 (allogreft)	Çalışma grubu 2 (dbm)	Çalışma grubu 3 (cam seramik)
45	57	45	57
43	40	50	37
55	54	90	25
13	33	62	93
69	71	69	49
21	62	32	54
37	22	50	66
53	38	37	82
24	85	53	
28		59	

6. hafta çalışma ve kontrol gruplarının biyomekanik çalışma verileri önce grafiğe döküldü(Şekil 6). Kontrol grubu ile 1, 2 ve 3. çalışma gruplarının biyomekanik verilerin karşılaştırılmasında IBM SPSS Statistics Version 22 de Kruskal Wallis analizi ile yapıldı. $P=0.198$ olduğu için istatistiksel anlamlı fark bulunamadı. İstatistiksel anlamlı fark bulunamadığından Mann-Whitney testi ile gruplar arası karşılaştırmaya gerek duyulmadı.



Şekil 6: Biyomekanik sonuçların ortalama kuvvet değerlerini gösteren grafik

4.2. Histopatolojik Bulgular

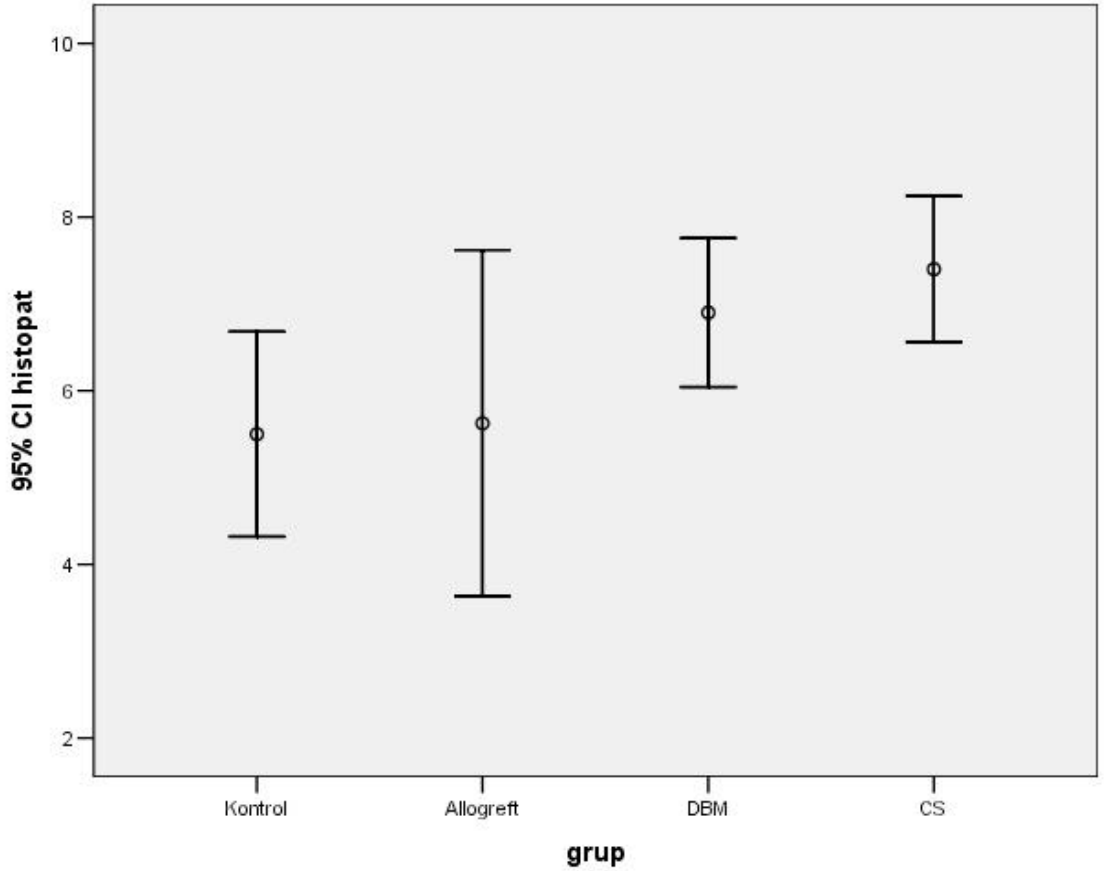
Biyomekanik incelemeyi takiben femurlar materyal ve metod bölümünde belirtildiği şekilde histolojik inceleme için hazırlandı. Her bir femurdan longitudinal olarak dört adet kesit alındı. Her bir kesit Huo ve arkadaşları tarafından belirtilen şekilde skorlandı(81). Kontrol gruplarından alınan örneklerdeki kallus oluşumu büyük oranda düzenli bir görünüme sahipti. Çalışma gruplarından alınan örneklerde ise fibröz doku yapımı görülüyordu ama bazı örneklerde bu görünüm yerini kıkırdak doku ve immatür kemiğe bırakmıştı.

Kontrol grubundaki ratlardan alınan femurların histolojik değerlendirmelerinin ortalama skoru 5.50, çalışma grubu 1 de ortalama skoru 5,62 ve çalışma grubu 2 de ortalama skoru 6,90 iken, çalışma grubu 3 ün ortalaması 7,40. Her bir gruba ait skorlamaların dağılımları Tablo 5 de verilmiştir.

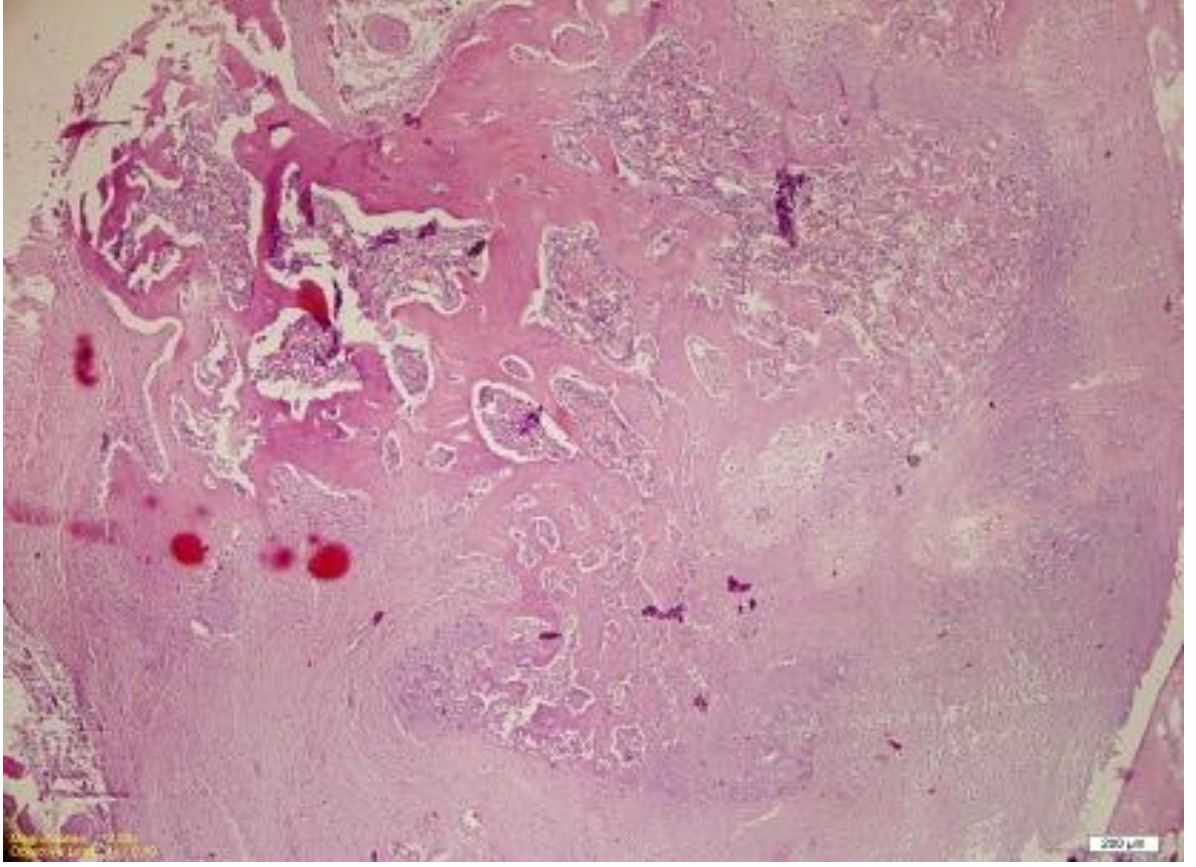
Tablo 5: Histopatolojik değerlendirme sonuçları

Kontrol	Çalışma grubu 1 (allogreft)	Çalışma grubu 2 (dbm)	Çalışma grubu 3 (cam seramik)
5	3	5	8
3	9	8	8
4	5	6	8
8	7	7	9
6	2	7	9
5	5	9	6
4	6	8	6
6	8	6	7
6		6	7
8		7	6

İstatistiksel analiz, çalışma gruplarından alınan veriler ile kontrol grubu verileri arasında IBM SPSS Statistics Version 22 de Kruskal Wallis analizi uygulanarak yapıldı. P=0,047 olarak bulundu. Bu da histopatolojik olarak örnekler arasında anlamlı bir fark olduğunu gösteriyordu. Veriler grafik ortamına aktarıldı(Şekil 7). Daha sonra bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için gruplar kendi aralarında ikişerli gruplara ayrılarak Mann-Whitney testi uygulandı. Sırayla kontrol grubu ile çalışma grubu 1 de p=0,857, kontrol grubu ile çalışma grubu 2 de p=0,049, kontrol grubu ile çalışma grubu 3 te p=0,011, çalışma grubu 1 ile çalışma grubu 2 de p=0,223, çalışma grubu 1 ile çalışma grubu 3 te p=0,087, çalışma grubu 2 ile çalışma grubu 3 te ise p=0,370 olarak bulundu. Yapılan analizler sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir farkın sadece kontrol grubu ile çalışma grubu 2 arasında ve kontrol grubu ile çalışma grubu 3 arasında olduğu görüldü..

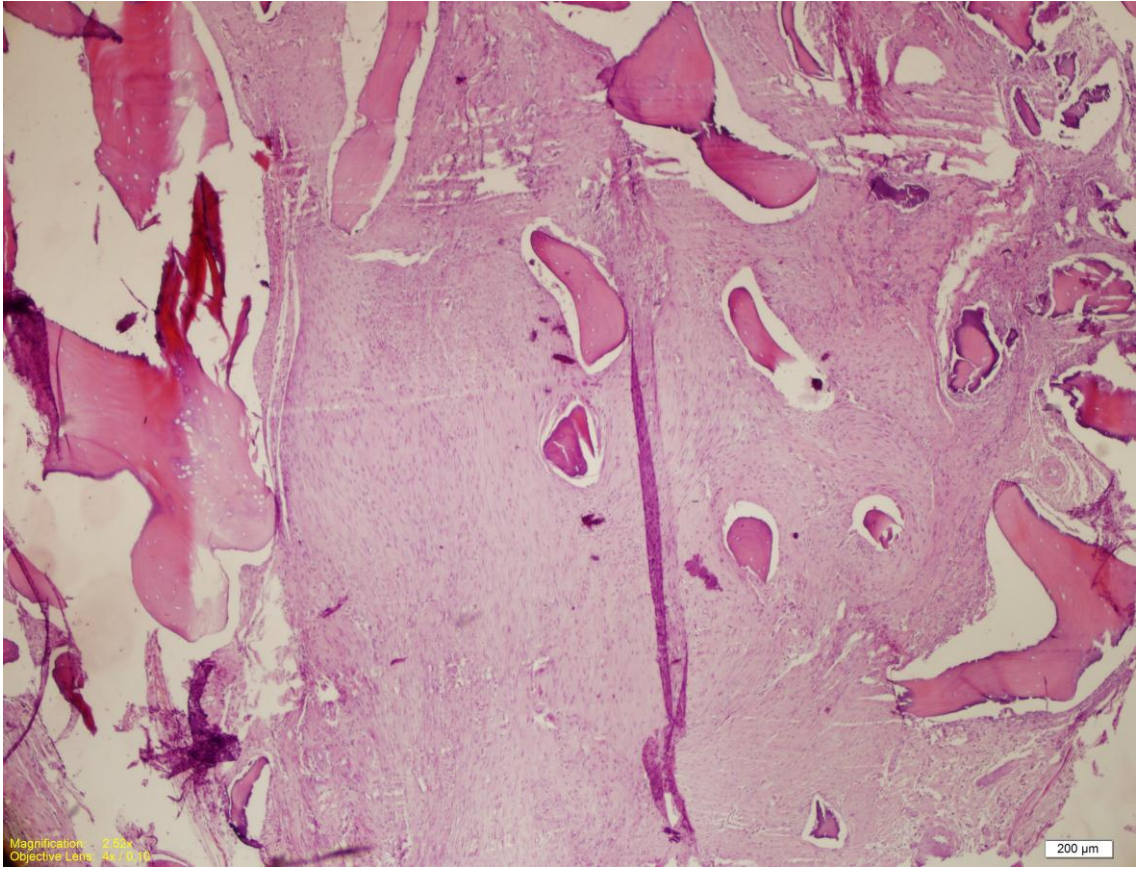


Şekil 7: Histopatolojik sonuçların ortalama değerlerini gösteren grafik



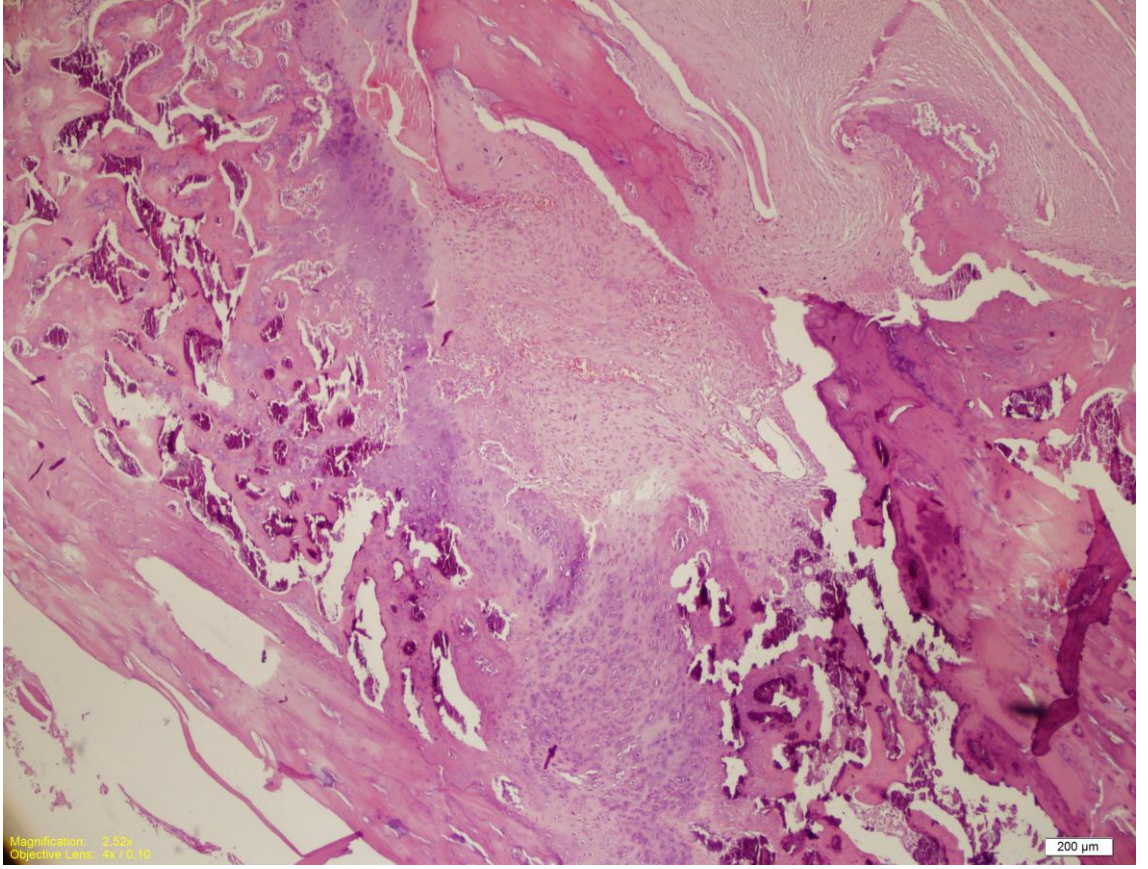
Resim 6. 6. Hafta kontrol grubu

Resim 6 da görüldüğü gibi 6. hafta kontrol grubundan alınan örneklerde kırık hattında eşit oranda fibröz ve kıkırdak doku oluşumu gözlemlendi.



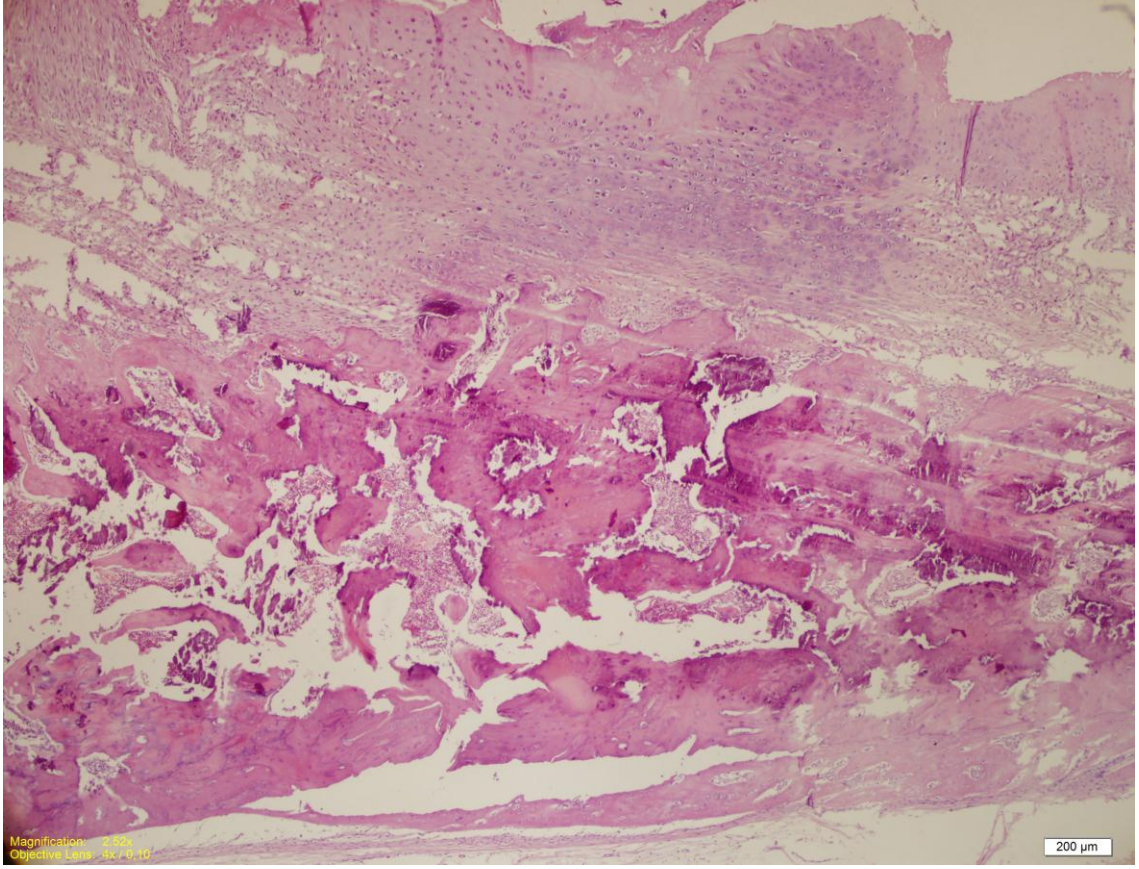
Resim 7.6. Hafta allogreft grubu

Resim 7 de görüldüğü üzere çalışma grubu 2 deki allogreft uygulanan ratlardan alınan örneklerde daha çok kıkırdak doku zemininde immatür kemik doku gözlemlendi.



Resim 8. 6.Hafta DBM grubu

Resim 8 de görüldüğü gibi çalışma grubu 2 den alınan örneklerin kesitlerinde kırık hattında daha ağırlıklı immatür kemik zemininde kırıkta doku ve fibröz doku gözlemlendi.



Resim 9: 6. Hafta Cam Seramik grubu

Çalışma grubu 3 te ise histolojik kesitlerde daha çok kıkırdak doku ve immatür kemik doku birlikte görülmektedir(Resim 9).

5. TARTIŞMA

Kemik, vücudun iskeletini oluşturan, son derece karışık ve yüksek oranda özelleşmiş bir bağ dokusudur. Yaşamsal organlara destek ve koruma sağlar. Kemik sadece mekanik bir destek sağlamakla kalmaz, özellikle kalsiyum ve fosfor gibi birtakım mineraller için depo vazifesi de görür. Kemik ayrıca hareket sistemi için de yaşamsal öneme sahiptir (12)

Kırık, içten veya dıştan gelen çeşitli kuvvetler sonucunda kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasıdır (82). Kırık oluşuktan sonra kemik dokusunun geniş rejenerasyon kapasitesi sayesinde, orijinal yapısını ve fonksiyonunu tamamen eski haline getirebilir. Kendi kendine özel bu rejenerasyon veya remodeling gösterme kapasitesinden dolayı kemik iyi bir dinamik doku örneğidir. Bu geniş rejenerasyon kapasitesine rağmen, bazen kırıklara ek olarak enfeksiyon, revizyon artroplasti cerrahisi, spinal cerrahi, kistler ve tümörler gibi nedenlerden dolayı oluşan kemik defektleri, kemik dokusu ile iyileşemeyebilir. Böyle durumlarda iyileşmeyi kolaylaştırmak veya başlatmak için kemik defektlerinin kemik greft materyalleri ile doldurulması gerekebilir (69,70).

Kemik iyileşmesinde iki önemli faktör bölgenin damarlanması ve mekanik dayanıklılığıdır. Hastaların genel sağlık durumu düzeltilmeli ve kemik iyileşmesi yanıtını engelleyecek farmakolojik ajanlardan kaçınılmalıdır. İyileşme için mekanik çevre de önemlidir. Travmanın şiddeti, şekli ve çevre yumuşak dokuların hasar derecesi, tedavinin nasıl yapıldığı ve kırığın defektif olmasında iyileşme sürecinde etkili olduğu gösterilmiştir (83,84). 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 koşullarda gerçekleşir. Aksi takdirde kaynamama ile sonuçlanır (76).

Günümüze kadar kırık iyileşmesini hızlandırmaya yönelik çeşitli teknikler denenmiştir. Kaynamayı olumlu yönde etkileyen çalışmalar rutinde kullanım alanı bulmuştur. Bunlar kısaca; elektrik stimülasyonu, mekanik stimülasyon ve ultrasondur (85,86). Kemik kaynamasını biyolojik olarak hızlandırabilecek ve yapısal bütünlüğü sağlayacak kemik greft uygulamaları yapılmıştır. Kemik grefti uygulamaları iki amaca hizmet eder. Bunlar kaybolan bir kemiğin yerine koyulması veya kemik formasyonun düzeltilerek yapısal bütünlük ve fonksiyonun yeniden sağlanmasıdır.

Yakın zamana kadar ortopedik cerrahların elinde kemik kaynağı olarak sadece otolog kemik ve allogreftler bulunmaktaydı. Kemik otogreftleri, düşük immün cevap oluşturma riskinden dolayı kemik defektlerinin tedavisinde altın standart olarak değerlendirilmektedir (87,88). Doku mühendisliği uygulamalarının gelişmesi ile günümüzde cerraha birçok farklı seçenek sunmak mümkün olmuştur. Seramikler (doğal ve sentetik), demineralize kemik matriksi, BMP (kemik morfojenik protein), otolog kemik iligi, büyüme faktörleri ve kompozit greftler bunlara örneklerdir. Kemik doku mühendisliğinin temeli, kemiğin istenen anatomik bölgesinde kemik iyileşmesi için yanıt oluşturmaktır. Bunu, polimer çatıları, hücreler ve indüktif faktörlerin çeşitli kombinasyonlarını kullanarak doku oluşumunu aktif olarak stimüle ederek ve sonucunda kemik dokusunu rejenere ve tamir ederek oluşturur. Doku mühendisliği, fonksiyonel yaşayan dokular oluşturmak için vücudun doğal doku oluşum sürecini taklit etmeye çalışmaktadır (7,87). Osteokondüktif ve osteoindüktif çatılar sıklıkla doğal kemiği taklit etmek için tasarlanırlar. Bunlar temel olarak kollojen matriksi içinde hidroksiapatit gibi poroz bir kompozit materyalden oluşmaktadır (89). Bu çatı materyalleri osteoblastları harekete geçirirler ve osteoprogenitör ataşmanın ve farklılaşmasını sağlayarak kemik doku oluşumunu artırır (90).

Kırığın şekli ve yaralanmanın tipi de kırık iyileşmesini etkileyen faktörlerdendir. Açık ya da kapalı, segmental ya da transvers bir kırık olması tedavi yaklaşımını ve sonucunu etkiler. Kırık olduğu anda ortamda bulunan hücre çeşitliliği, faktörlerin düzeyi de iyileşmeyi etkiler (91,92). Kapalı kırıklarda kaynama hematoma boşalmaması ve çevre yumuşak doku hasarının daha az olması gibi sebeplerden 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 (91). Biz çalışmamızda açık osteotomiye uyguladık çünkü kemik defekt oluşumu ve greftlerin kırık hattına uygulanması için bu gerekliydi.

Kırık iyileşmesi üzerine yapılan deneysel çalışmalarda köpekler, ratlar, tavşanlar, koyunlar ve domuzlar gibi çok sayıda hayvan çeşidi kullanılmıştır. Genel olarak büyük hayvanlar özellikle yeni alet yapım aşamasında; küçük hayvanlar ise daha çok kemik iyileşmesinin moleküler mekanizmaları ve moleküler genetiğinde kullanılması konusunda fikir birliği sağlanmıştır. Literatürde de kırık iyileşmesi ile ilgili birçok çalışmanın ratlar üzerinde yapılması bu konuda bizi yönlendirdi (93,94). Üniversitemiz deneysel hayvan araştırma laboratuvarımızda üretilen, izogenetik olan ve yeterli sayıda elde edebildiğimiz ratları deney hayvanı olarak kullanmaya karar verdik.

Ratlarda, kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda kemik modeli olarak, tibia ve femur kullanılmıştır (95,96). Manüplasyonunun kolaylığı, eksojurunun kolay olması ve histopatolojik preparatlarının kolay hazırlanması burda etkindir. Aynı zamanda Wistar tipi ratların femurları insaninkine yakın morfolojiye sahiptir (97). Bu yüzden kırık iyileşmesi çalışmalarında Wistar tipi ratlar tercih edilmişlerdir. Çalışmamızda mevcut yayınları göz önünde tutarak femuru kendimize model aldık.

Kırık modeli oluştururken açık (cerrahi) ya da kapalı(künt travma) kırık oluşturma tekniği kullanılabilir. Küçük bir kesi ile kemiğin metafizer-diafizer bölgesi ortaya konarak çekiç-osteotom, gigli testere ya da elektrikli testere ile kırık oluşturulur (80). Bununla birlikte kırık iyileşmesini araştıran çalışmalarda kullanılan diğer bir yöntem de defektif kırık modelleridir. Defektif kırık çalışmalarında amaç kırık sahasında bir boşluk oluşturup greft, growth faktörler ve hormonlar gibi modalitelerin etkinliğini araştırmak ve oluşan boşluğu kapatmaktır. Deneysel çalışmalarda en çok kullanılan model tavşan ve sıçan kafatası defekti modelidir (98). Bizim klinikte karşılaştığımız defektli kırıklar ise daha çok uzun kemiklerde olup internal ya da eksternal olarak tespit edilen kırıklardır.

Gerek kafatası gerek uzun kemik defektleri çalışmalarında en önemli kriter defektin boyutudur. Hayvanlarda kemik defektleri altı ay gibi bir sürede tedavi

verilmeksizin kendiliğinden iyileşebilir. Kendiliğinden iyileşmeyen kritik boyutlu defekt yapmak modelin temel noktasıdır. Uzun kemiklerde ise bu sınır kemik çapının iki katı kadar uzunlukta bir segmenttir (98).

Kırık oluşumundan sonra tespit yöntemleri ile ilgili olarak literatürde birçok tekniğin bahsi geçmektedir. Plakla tespit, eksternal fiksator ve intramedullar tespit uygulama bunlardan birkaçıdır (99,100). 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. Bu çalışma ile uzun kemik kırıklarında altın standart olan intramedullar çivileme tekniği kullanılmıştır. Çalışmamızda defektif kırık oluşturduktan sonra kırık hattından önce antegrad olarak distale doğru sonra retrograd olarak proksimale girerek 2 mm K-wire ile intramedullar tespit uyguladık.

Bu teknik uygulama ve gerekli malzemenin temini açısından kolaydı ama rijid olmayan tespit mevcuttu. Bu dezavantajı sekonder kırık iyileşmesinin gözlenmesi, kallus dokusunun rijid olmayan tespitlerde daha fazla olması nedeniyle avantaj olarak kabul ettik. Ratların femurlarının çok küçük olmasından dolayı literatürde çoğunlukla intramedullar tespit seçilmesi de bunu destekliyordu. Kırık sonrası intramedullar tespit yaptığımız hayvanlara ekstra bir tespit ya da alçı uygulamadık

Kaynaklarda kırık iyileşme süreçleri incelenirken değişik zaman dilimleri rehber alındığı görülmüştür. Genellikle post-operatif 3. günden başlayarak sırasıyla 7., 10., 14., 21., 24. ve 28. günde sakrifikasyon uygulanmış çalışmalar olduğu, sakrifikasyon süresinin 6., 10., hatta 12. haftaya kadar uzatıldığı çalışmalar olduğu da görülmektedir. Bununla birlikte, en sık olarak 6. haftadaki iyileşmenin incelendiği dikkati çekmektedir (93,100,101). Altıncı haftada kallusun yerini artık tamamen lameller kemik almaya başlar; mineralizasyon gözlenebilecek duruma gelir. 6. haftada sakrifikasyon uygulayarak onarım fazının sonucunu gözlemlemeyi amaçladık. Bu nedenle, sözü edilen literatürlerle uyumlu olarak, kırık iyileşmesini incelemek için postoperatif 6. hafta tercih edilmiştir.

Radyolojik değerlendirme için literatürde çok farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmalarda direkt grafilerle kırık uçları arasındaki köprüleşme durumu, kırık hattının

fark edilebilirliği, kallus genişliği gibi parametreler değerlendirilmiş. Bu parametrelerin ayırımında değerlendirme sırasında hata oranının yüksek olacağını ve yeterince objektif olmayacağını düşündüğümüz için istatistiksel olarak çalışmaya almadık.

Çalışmanın biyomekanik değerlendirmesi sırasında ölçüme geçilmeden önce ratların femurları yumuşak dokudan tamamen temizlendi. Bu doğru ölçüm için gerekliydi. Böylece yumuşak dokuların kırılma kuvvetini etkileme olasılıkları engellendi. Ayrıca kırma esnasında tüm ratların femurlarının kaynama alanından kırılmasına özen gösterildi. Kırma sonucunda ortaya çıkan değerler sistem tarafından bilgisayar ortamına aktarılarak ölçüldü.

Literatüre baktığımızda histolojik analiz olarak çeşitli yöntemler kullanıldığını gördük. Modifiye Lane-Sandhu histolojik değerlendirme skalasında korteks, spongiöz kemik ve kemik iliği ayrı ayrı değerlendirilerek toplam 20 puan üzerinden derecelendirilmektedir(95). Allen ve arkadaşları kallus dokusunun iyileşme aşamalarının 0'dan 4'e kadar puanlamışlardır (94). Literatürde bunlara ek olarak Huo ve arkadaşları kırık bölgesindeki hücresel farklılaşmayı 1 den 10'a kadar puan vererek derecelendirmişler (81). Bu skalada iyileşme kriteri olarak kırık hattının proksimal ve distal tarafında oluşan iyileşme alanındaki fibröz doku, kıkırdak doku, immatür ve matür kemik oranları skorlanmıştı. Bizde çalışmamızda histolojik değerlendirme yöntemi olarak Huo ve arkadaşlarının histolojik değerlendirme skalasını kullandık.

Allogreftler ortopedik cerrahide olasılıkla ilk defa 1900'lü yılların başında spinal füzyon ve kırık kaynama yokluğu olgularında kullanılmaya başlanmıştır. Erken dönemde kullanılan bu greftler ampute ekstremitelerden alınmıştır. 1950-1951 yıllarında Kore savaşında doku gereksiniminin artması nedeniyle Amerika Birleşik Devletleri tarafından doku bankası kurulmuştur. Bu doku bankası allogreft gereksinimini uzun yıllar karşılamıştır. 1970'li yıllarda doku bankaları ve doku bağışi yaygın hale gelmiştir. Allogreftler önceleri masif greftleme gerektiren olgularda kullanılırken son yıllarda endikasyonları otogreftte alternatif olacak biçimde genişlemiştir (102).

Çalışmamızda literatürü taradıktan sonra kemik yerine geçebilecek materyal olarak kurutulup dondurulmuş allogreft, demineralize kemik matriksi, ve biyoaktif cam greftleri kullanmaya karar verdik. Kontrol grubundaki ratların femur defektif alanını boş

biraktık. Literatürde greftlerin kırık iyileşmesi üzerindeki etkilerine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur. Tiedeman ve ark. (103), köpeklerde deneysel olarak oluşturdukları kaynamamış tibia fraktürlerinde demineralize kemik matriksi kullanmışlardır. Postoperatif 12 hafta sonra yapılan histolojik değerlendirmede, bol miktarda kartilaj, izole kalsifiye kartilaj bölgeleri ve endokondral ossifikasyon ile yeni kemik formasyonu bulmuşlardır. Boş bırakılan kontrol grubunda minimal yeni kemik formasyonu ile fibröz doku tespit edilmiştir.

Bernabe ve ark. (104) rat tibialarında oluşturulmuş cerrahi yaralarda biyoaktif cam ve kalsiyum sülfat'ın kemik iyileşmesi üzerine etkisini histolojik olarak incelemişlerdir. Postoperatif 10. günde deney grupları arasında fark olmadığını, 30. günde kalsiyum sülfat bariyeri olan grupta, biyoaktif cam kullanılan gruba göre kemik formasyonunun daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Rabie ve ark., (105) tavşan parietal kemiğinde oluşturulan kemik defektlerine endokondral otojen kemik grefti, demineralize kemik ve her ikisinin kombinasyonunu ayrı ayrı implante etmişlerdir. Tüm gruptardaki kemik iyileşmesinin kırıkta varlığı ara safhasıyla oluştuğunu, iki materyalin birlikte olduğu grupta kemik iyileşmesinin anlamlı olarak daha fazla gözlemlendiğini ve demineralize kemik tozunun hem alıcı yatağın hem de kemik greftinin osteoindüksiyonunu artırdığını bildirmişlerdir.

DKM'nin uzun kemik kaynamamaları ve kırık sonucu oluşan kemik kayıplarında otolog kemik greftlerine benzer iyileşme sonucu elde edildiğini gösteren çalışmalar bildirilmiştir. Tiedeman ve ark.(106) uzun kemik kırıklarında 10 hastadan oluşan seride kemik iliği ile DKM den oluşan kompozit grefti, 8 hastadan oluşan iliak kristadan alınan otogreftle tedavi edilen seri ile mukayese etmişler. 12 ay radyolojik izlem sonrasında DKM kullanılan hastaların 9/10 da otogreft kullanılan hastaların 6/8 tam kemik iyileşmesi sağlanmış. DKM, kemik morfojenik proteinlerinin karışımından oluşur ve immünojeniktir. Ancak saf BMP, immünojenik ve türlere özgü değildir. Rekombinant gen teknolojisi ile kemik morfojenik proteinleri ayrı ayrı üretilmiştir. Klinik kullanımda ise BMP karışımları saflaştırılmış kemik ekstraterlerinden elde edilmektedir. Yine Jonhson ve ark.(107) kısmi veya tam segmental defektli dirençli kaynamama vakasından oluşan 25 hastadan oluşan seride kompozit insan BMP ve DKM kullanmışlar. Ortalama izlem

süresi 21 ay (5- 82 ay) idi. Fonksiyonel sonuçlar, 14 mükemmel, 5 iyi ve 5 orta olarak değerlendirilmiştir.

Amorosa ve ark.(108) rat femur segmental defektif kırığında allogreft, otogreft ve scaffold ile yapılan callus dokusunun fizyolojik yük taşımasını mukayese ettikleri deneysel bir çalışmada farklı biyomekanik sonuçlar elde etmişlerdir. Dört gruba ayrılan ratlarda otogreft ve allogreftlerde benzer biyomekanik sonuçların scaffold ile tedavi edilenlerden daha iyi olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamızda defektif kemik kırıklarında uygulanan farklı greft yöntemlerinin biyomekanik ve histopatolojik sonuçlarını mukayese ettik. Radyolojik sonuçların değerlendirmesinin objektif olmayacağını düşündüğümüz için çalışmaya dahil etmedik. Dondurulup kurutulmuş kortikokansellöz allogreft, demineralize kemik matriks ve biyoaktif cam granül çalışmamızda kullandığımız materyallerdi.

Biyomekanik veriler, üç nokta eğilme testine tutulan callus dokusunun maksimum defleksiyon değerinin bilgisayar tarafından ölçülmesi ile elde edilmiştir. İstatiksel olarak çalışmamızda kontrol grubu ile çalışma grupları arasında fark bulunmamıştır. Buna rağmen callus dokusunun çalışma gruplarında makroskopik olarak daha büyük olması ve ayrı ayrı gruplardaki her verinin çalışma gruplarında daha yüksek çıkmış olması greft kullanımının defektif kırık iyileşmesi üzerine daha etkili olduğunu düşündürmektedir. Daha uzun iyileşme süreleri ile yapılacak bir çalışmada bu sonuçların daha anlamlı çıkacağını tahmin etmekteyiz.

Çalışmamızın histopatolojik değerlendirmesinde kontrol grubu haricindekilerde immatür kemik dokusunun gelişmiş olduğunu gördük. Kontrol grubunda ise çoğunlukla eşit oranda fibröz doku zemininde kıkırdak doku mevcuttu. Histolojik bulgular ve aldıkları histolojik puanlar karşılaştırıldığı zaman, kontrol grubu ile greft kullanılan gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulduk. Verilen histolojik puanlar incelendiğinde, tüm grupların kendi içlerinde birbirinden farklı birçok değer aldığı göze çarpmaktadır (Tablo 5). Ortaya çıkan bu farklı değerlerin nedeni olarak, tespitimizin rijid olmamasına bağlı farklı iyileşme dönemleri ile sonuçlanmasına bağladık. Ama tespit yöntemimizin tüm gruplarda aynı olmasına rağmen istatiksel olarak çalışma

gruplarındaki sonuçların daha anlamlı çıkması, kullanılan greft materyallerinin kırık iyileşmesi üzerine olumlu bir etkisinin olduğunu gösterdiğini düşünmekteyiz.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda; defektif kemik kırıklarında allogreft, demineralize kemik matriks ve biyoaktif cam seramiğin iyileşme üzerine biyomekanik olarak olumlu bir etkisini saptayamasakta histopatolojik bulgular iyileşme üzerine destekleyici etkinin varlığını düşündürmektedir. Bu sonuçlara göre otogreftlerin donör sahada morbitide oluşturmaları ve yeterli alınamadığı büyük kemik kayıplarında kemik yerini tutan greft materyalleri daha avantajlı görünmektedir. Bu materyallerin daha uzun dönem takip sonuçlarının bu verilere göre daha anlamlı sonuç vereceklerini umut etmekteyiz.

Ülkemiz koşullarında, otogreftler, ilk tercih edilecek materyaller olmasına karşın çok merkezli olarak kurulacak olan bir doku bankası, ortopedik cerrahi dikkate alındığında önemli bir açığı kapatacak ve ülkeyi dışa bağımlı olmaktan kurtaracaktır.

8. KAYNAKLAR

1. Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C: Rockwood and Green's Fractures in Adults. Sixth ed., Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2006, pp.297-330.
2. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. (2. Nd edition) 1997 s.132-152.
3. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'in Ortopedi Kitabı. Ankara:Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 1
4. Kutsal YG,(ed). Osteoporoz. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 37-38
5. Buckwalter JA,Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R:Bone biology-I. In Pritchard DJ(ed).Instructional Course Lectures Volume 45, AAOS,1996;371-86
6. Schenk RK:Biolojy 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
7. Hing KA: Bone repair in the twenty-first century: biology,chemistry or engineering?.Phil.Trans.R.Soc.Lond.A 2004;362:2821-50
8. Kierszenbaum AL: Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Çev. Demir R). Palme Yayıncılık, Ankara, 2006, s. 118-145.
9. Junqueira LC and Carneiro J: Temel Histoloji (Çev. Aytekin Y, Solakoğlu S). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006, s. 141-159.
10. Gartner LP, Hiatt JL: Color Textbook of Histology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2001, pp. 134-154.
11. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR and Recker R: Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. J Bone Joint Surg Am. 77: 1256-1275, 1995.
12. Lian JB, Stein GS, 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, Lippincotti Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999, chap.3

13. Grant PR. (2003) Oral Cells And Tissues. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 7-8. page 442-57
14. Serinoglu S. Mikroskopik düzeyde kırık iyilesmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2002; 55(2): 143-150.
15. Puzas FJ and Lewis GD. Biology of osteoclasts and osteoblasts, in Orthopaedics. Principles of Basic and Clinical Science, Bronner, F, and Worrell, RV, Eds, CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap. 3.
16. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. (3.nd edition) 2007 s.136.
17. Brinker MR. Bone. In review of orthopaedics 3rd Ed. (Ed. Miller MD) 2000; 1-39
18. O'Driscoll SWM, Saris DBF, Ito Y, Fitzimmons JS. The chondrogenic potential of periosteum decreases with age. J Orthop Res. 2001;19:95-103
19. Phieffer LS, Meyer RA, Gruber HE, Easley M, Wattenbarger JM. Effect of interposed periosteum in an animal physeal fracture model. Clin
20. Orthop Rel Res. 2000;376: 15-25
21. Brinker MR, Lipton HL, Cook SD and Hyman AL: Pharmacological regulation of the circulation of bone. J Bone Joint Surg Am. 72(7): 964-975, 1990.
22. Glowacki J. Angiogenesis in fracture repair. Clin Orthop Rel Res. 1998 Oct; 355 Suppl: S82-S89
23. Mark RB. Basic sciences. Bone. In: Miller MD editors. Review of Orthopaedics. Philadelphia: WB Saunders, 3rd ed, 2000;1-118.
24. Wilkins K: Travma. In: Lynn Staheli (Ed) Pediatrik Ortopedi (Çev. Yalçın S). Avrupa Tıp Kitapçılık, İstanbul, 2005, s. 203-260.
25. Ege R. Travmatoloji Kırıklar, Eklem ve Diğer yaralanmalar 5.Baskı, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 2001 Cilt:1 Bölüm:2,3,4 s:36-111
26. Us AK: Kırıklar hakkında genel bilgiler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi
27. 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

28. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology-I. In Pritchard DJ(ed). Instructional Course Lectures Volume 41, AAOS,1996;99-387
29. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'ın Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 10
30. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'ın Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 12
31. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'ın Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 16
32. Marks SC, Popoff S N. Bone cell biology: The regulation development, structure, and function in the skeleton. The American Journal of Anatomy 1988; 183: 1-44.
33. Martin RB, Burr DB, Mechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation of Compact Bone. Raven Press, New York, 1989, chaps.2,4,7 and 8.
34. Shearer JR, Roach HI, Parsons SW: Histology of a lengthened human tibia. J Bone Joint Surg 1992; 74B:39-44
35. Brand RA. Fracture Healing. In Evarts CM, (ed). Surgery of Musculoskeletal System. New York: Churchill Livingstone, 1983: 65-71
36. Alturfan A K, Akalın Y. (2002). Ortopedik Travmatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 10-14
37. Kılıçoğlu SS. (2002) Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası; 55(2): 143-150
38. Rowe N L, Williams J L. (1985) Maxillofacial Injuries. Edinburgh London Melbourne and New York: Churchill Livingstone. 50-52
39. Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1998 ;355 Supp:7-21
40. Phillips AM: Overview of the fracture healing cascade. Injury 2005; 365:5-7
41. Cornell CN, Lane JM: Newest factors in fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1992 ;277:297-311
42. Türek S L. (1980) Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları. Florida- Miami: Mount Sina Tıp Merkezi ve Miami Kardiyoloji Enstitüsü; 32-151
43. Weber BG, Cech, (1973) O. Pseudoarthrosen. Verlag Hans Huber, Bern.

44. Waisman BNW, Sledge CB.(1986)Orthopaedic Radiology. WB Saunders Company,
45. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Fractures 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Co, 1984; 1: 147-167.
46. Brond AR, Rubin TC. Fracture healing. Surgery of the Musculoskeletal system New York: Churchill Livingstone, 1990:1;93-114.
47. Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res, 355: 7-21, 1998.
48. McKibbin B: The biology of fracture healing in long bones. J Bone Joint Surg, 60B:150-162, 1978.
49. Brighton CT. Principles of fracture healing. Part I. The biology of fracture repair. AAOS Intern Course Lect 1984; 33: 60-82
50. Cruess RL, Dumont J. Fracture healing. Can J Surg 1975; 18 (5): 403-413 Ege R. Travmatoloji-Kırıklar, eklem ve diğer yaralanmalar. Cilt 1, 5. baskı. Ankara 2001.
51. Brinker MR, Miller MD. Basic sciences, Review of Orthopaedics. (2nd ed.) WB Saunders Co, Philadelphia, 1996 s1-26.
52. Khan SN: Bone growth factors. Orthop Clin North Am, 31: 375–388, 2000.
53. Weinstein SL, Buckwalter JA: Turek Ortopedi ilkeler ve Uygulamaları (Çev. Alpaslan AM) Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009, s. 57-71.
54. Miller MD: Miller'ın Ortopedi Kitabı (Çev. Yetkin H ve Yazıcı M) Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006, s. 1-23.
55. Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. Clin Orthop Rel Res 1989 Nov ;248: 283-293
56. Bucholz RW, Heckman JD. Healing of the musculoskeletal system. In: Rockwood CA, Green DP editors. Fractures in adults. Lippincott Williams & Wilkins (LWW), 1996: 267-304
57. Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. Arch Trauma Surg. 2001;121:426-428.

58. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periosteum during healing in rats. Interaction of fracture hematoma and periosteum in the initial step of the healing process. *J Orthop Res*;5(1): 64–70,2002
59. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res* 1999, 14: 1805-1815.
60. Brinker MR., O'Connor DP., Bone. In review of orthopaedics 4rd Ed. (Ed. Miller MD) 2004; 3-11
61. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. (3.nd edition) 2007 s. 150-155.
62. Yakar S, Rosen CJ. From mouse to man: redefining the role of insulin-like growth factor-I in the acquisition of bone mass. *Proc Soc Exp Biol Med* 2003, 228: 245-252.
63. Nagai H, Tsukuda R, Mayahara H. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on bone formation in growing rats. *Bone* 1995, 16: 367-373.
64. Valerie C. Scanlon, Tina Sanders, *Essentials of Anatomy and Physiology* 5th ed.2007; p.108
65. Sierpina VS, Wollschlaeger B, Blumenthal M: Ginkgo biloba. *Am Fam Physician*, 68: 923-926, 2003.
66. Brinker MR, O'Connor D: Kemik. In: Miller M (Ed) *Miller'in Ortopedi Kitabı* (Çev. Yetkin H, Yazıcı M). Adya, Ankara, 2006, s. 1-44.
67. Cornell CN, Lane JM. Newest factors in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1992; 277: 297-311.
68. Nunamaker DM. Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998; 355: 56-65.
69. Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN: Bone graft substitutes: facts, fictions, and applications. *J Bone Joint Surg Am* 2001, 83-A(Suppl 2, Pt 2):98-103.
70. Szpalski M, Gunzburg R: Applications of calcium phosphatebased cancellous bone void fillers in trauma surgery. *Orthopedics* 2002, 25(5 Suppl):601-9.
71. Moore WR, Graves SE, Bain GI: Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001, 71(6):354-61.

72. Bauer TW, Muschler GF: Bone graft materials. An overview of the basic science. Clin Orthop 2000, 371:10-27.
73. Lynch, S.E., Genco, R.J., Marx, R.E. Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Quintessence Pub, USA, 1999.
74. Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, Dehne R: Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. Clin Orthop 1991, 266:259-70.
75. Swenson CL, Arnoczky SP: Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. J Bone Joint Surg Am 2003, 85-A(2):323-32.
76. Fleming JE Jr, Cornell CN, Muschler GF: Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. Orthop Clin North Am 2000, 31(3):357-74.
77. Finkemeier CG: Bone-grafting and bone-graft substitutes. J Bone Joint Surg Am 2002, 84-A(3):454-64.
78. Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF: The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. Orthopedics 1995, 18(12): 1153-8.
79. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA: Resistant nonunions and partial or complete segmental defects of long bones. Treatment with implants of a composite of human bone morphogenetic protein (BMP) and autolyzed, antigenextracted, allogeneic (AAA) bone. Clin Orthop 1992, 277:229-37.
80. Öztuna V, Ortopedi ve Travmatolojide Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri (Temel ilkeler, Etik unsurlar ve Modeller), TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi, 2007 • Cilt: 6 Sayı: 1-2. S.49
81. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, Friedlaender GE. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. J Orthop Res 1991; 9: 383e90.
82. Brand RA. Fracture Healing. In Evarts CM, (ed). Surgery of Musculoskeletal System. Newyork: Chuchill Livingstone, 1983: 65-71
83. Ege R. Travmatoloji. Kırıklar, Eklem ve Diğer Yaralanmalar 5.Baskı. Ankara:2003;55-94.

84. Schemitsch EH, Bhandari M: Bone healing and grafting. In Koval KJ(ed). Orthopaedic knowledge update-7. AAOS, 2002;19-29
85. Claes L, Willie B: The enhancement of bone regeneration by ultrasound. Progress in Biophysics and Molecular Biology. 2006;1-15 Review
86. Busse JW, Bhandari M, Kulkarni AV, Tunks E: The effect of low-intensity pulsed ultrasound therapy on time to fracture healing: A meta-analysis. Canadian Med. Ass. Jou. 2002; 166(4) :437-41
87. Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. Clin Orthop Relat Res. 1987 Dec;(225):7-16.
88. Schultze-Mosgau S, Keweloh M, Wiltfang J, Kessler P, Neukam FW. Histomorphometric and densitometric changes in bone volume and structure after avascular bone grafting in the extremely atrophic maxilla. Br J Oral Maxillofac Surg. 2001 Dec;39(6):439-47.
89. Murphy WL, Simmons CA, Kaigler D, Mooney DJ. Bone regeneration via a mineral substrate and induced angiogenesis. J Dent Res. 2004 Mar;83(3):204-10.
90. LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. Clin Orthop Relat Res. 2002 Feb;(395):81-98. Review.
91. Jackson RA, McDonald MM, Nurcombe V, Little DG, Cool SM: The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model. J Orthop Res. 2006;Apr:636-44
92. Zimmermann G, Henle P, Küsswetter M, Moghaddam A, et al: TGF- β 1 as a marker of delayed fracture healing. Bone. 2005;36:779-85
93. Rasubala L, Yoshikawa H, Nagata K, Lijima T, et al: Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures in rats. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2003;41: 173-78
94. Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, Günel Ğ, et al: Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. Acta Orthop Scand. 1995;66(5):473-75
95. Kaygusuz A, Atağlı N, Aydoğdu Ğ; GM-CSF nin kırık iyileşmesi üzerine etkisinin rat tibiaları üzerinde araştırılması; Acta Orthopedica Turcica 33,375-382,1999.

96. Cao Y, Mori S, Mashiba T; $1\alpha,25$ -Dihydroxy- 2β (3-hydroxypropoxy)vitamin D₃ (ED-71) suppressed callus remodeling but did not interfere with fracture healing in rat femora; *Bone* 40 (2007) 132-139
97. 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.
98. Yuehuei H An, Richard Freidman (eds): *Animal models in orthopaedic research*. CRC, Boca Raton, 1999.
99. Eckardt H, Christensen KS, Lind M, Hansen ES. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing in an experimental model of fractures at risk of nonunion. *Injury*. 2005; 36: 489- 94
100. Einhorn TA. Current concepts review, Enhancement of fracture-healing, *J Bone Joint Surg*. 1995;77: 940-56.
101. Cebesoy O, Tutar E, Köse K; Effect of strontium ranelate on fracture healing in rat tibia; *Joint Bone Spine* 74 (2007) 590-593
102. Suarez LS, Richmond JC. Overview of procurement, processing, and sterilization of soft tissue allografts for sports medicine. *Sports Med Arthrosc* 2007;15:106-13.
103. Tiedeman JJ1, Connolly JF, Strates BS, Lippiello L Treatment of nonunion by percutaneous injection of bone marrow and demineralized bone matrix. An experimental study in dogs. *Clin Orthop Relat Res*. 1991 Jul;(268):294-302
104. Bernabe' PFE, Melo LGN, Cintra LTA, Gomes-Filho JE, Dezan Jr E, Nagata MJH. Bone healing in critical-size defects treated with either bone graft, membrane, or a combination of both materials: a histological and histometric study in rat tibiae. *Clin. Oral Impl. Res.* 23, 2012;384-388
105. Rabie AB1, Wong RW, Hägg U. Composite autogenous bone and demineralized bone matrices used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2000 Oct;38(5):565-70.
106. Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF: The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. *Orthopedics* 1995, 18(12): 1153-8.

107. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA: Resistant nonunions and partial or complete segmental defects of long bones Treatment with implants of a composite of human bone morphogenetic protein (BMP) and autolyzed, antigenextracted, allogeneic (AAA) bone. *Clin Orthop* 1992, 277:229-37.
108. Amorosa LF1, Lee CH, Aydemir AB, Nizami S, Hsu A, Patel NR, Gardner TR, Navalgund A, Kim DG, Park SH, Mao JJ, Lee FY. Physiologic load-bearing characteristics of autografts, allografts, and polymer-based scaffolds in a critical sized segmental defect of long bone: an experimental study. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:1637-43. doi: 10.2147/IJN.S42855. Epub 2013 Apr 24.

9-ÖZGEÇMİŞ

01.03.1979 yılında Hatay'ın Samandağı ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi tamamladıktan sonra 1996 yılında Samandağı Lisesi'nden mezun oldum. 1997 yılında eğitimine başladığım Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2004 yılında mezun oldum. 2004-2010 yılları arasında Van-Çatak Devlet Hastanesi, Hatay-Subaşı Sağlık Ocağı, Hatay-Reyhanlı Devlet Hastanesinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2007 yılında Sudan-Nyala Sahra Hastanesinde Kızılay bünyesinde gönüllü doktor olarak çalıştım. 2009 yılında askerlik hizmetimi tamamladım. 2010 Ağustos ayından beri Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda asistan doktor olarak görev yapmaktayım.