



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**SÜTÜRAL DURA MATERİN SÜTÜR OLUŞUMU ÜZERİNE
ETKİSİ:
YENİ DOĞAN TAVŞAN MODELİNDE DENEYSEL ÇALIŞMA**

DÜZCE – 2012



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**SÜTÜRAL DURA MATERİN SÜTÜR OLUŞUMU ÜZERİNE
ETKİSİ:
YENİ DOĞAN TAVŞAN MODELİNDE DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Dr. TOYGAR ÜNVEREN
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. DERYA ÖZÇELİK**

DÜZCE - 2012

ÖNSÖZ

Bu tezin kurgusu ve planlaması Prof. Dr. Derya Özçelik'e aittir.

Asistanlığım süresince her zaman desteğini hissettiğim, bilgi, tecrübe ve yönlendirmeleriyle ufukumu genişleten tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Derya Özçelik'e ve yetişmemdeki emek ve katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Cemal Tahsin Gökhür Şenyuva'ya teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bu çalışmanın hazırlanması sürecinde radyolojik incelemeleri yapan Sayın Doç. Dr. Ömer Önbaş'a, histopatolojik incelemeleri yapan Sayın Yard. Doç. Dr. Havva Erdem'e, çalışma sonuçlarının istatistiksel analizini yapan Sayın Prof. Dr. Handan Ankaralı'ya, tezin hazırlanması sürecinde çeviri ve düzenlemelerindeki yardımları için sevgili eşim Gizem Ünveren ile ağabeyim Zeki Ünveren'e ve deney hayvanlarının bakımındaki yardımlarından dolayı Sayın Turan Tantaşa teşekkürlerimi sunarım.

TÜRKÇE ÖZET

Sütür altındaki duranın, sütür altında olmayan duradan farklı özellikleri olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Biz de bu bilgiden yola çıkarak sütür hattının altına denk gelen dura materin sütür oluşumuna katkısını incelemek için yenidoğan tavşan modelinde bir çalışma planladık. Çalışmada kalvaryal sütür bölgelerinden birinde kritik defekt ebatının altında bir kemik defekti yarattık. Ardından sütür hattının altına denk gelen dura mater koterizasyon ile hasarladık. Ve kemik rejenerasyonunu yeni oluşacak sütür formasyonu açısından inceledik. Yeni rejener olacak defekt alanında sütür oluşmasının da oluşmamasının da kraniyosinotiz patogenezinin anlaşılmasında yardımcı olacağını düşündük.

Kafatası kemiklerinin erken kaynaması (kraniyosinotiz) ileri derecede kafa şekil bozukluklarına, kafa tabanı ve beyin deformitelerine yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda sütür hattı altında yer alan dura mater'in sütürlerin kaynamasını geciktirdiği gösterilmiştir. Son dönem çalışmalarda ise, sütür hatları altında yer alan dura mater ile kraniyal kemiklerin düz kısımları altında yer alan dura materin farklı özellikler taşıdığı, sütür hatları altında yer almayan dura materin sadece osteogenez üzerine etkisi var iken sütür hatları altında yer alan dura materin osteogenez yanı sıra kondrogenez potansiyeli de olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada deney grubu olarak (n:10) yenidoğan tavşan modelinde, sagittal sütür hattı üzerinde 10mm ebatlı bir kraniyal kemik defekt oluşturulduktan sonra sütür hattının altına gelen bölgedeki dura mater lineer olarak, düşük düzeydeki koter ile bütünlüğü bozulmadan tahrip edilmiş, ardından kemik rejenerasyonu ve yeni sütür oluşumu izlenmiştir. Kontrol grubunda (n:10) ise yenidoğan tavşanlarda yine sagittal sütür hattı üzerinde 10mm ebatlı kalvaryal kemik defekti oluşturulduktan sonra dura matere yönelik ek işlem yapılmadan kemik rejenerasyonu ve sütür hattının oluşumu takip edilmiştir. Takip süresi 8 hafta olup, 8. hafta sonunda 3 boyutlu bilgisayarlı tomografiler çekildi ve sonrasında denekler yüksek doz anestezik ile sakrifiye edilerek yeni oluşan kemikte sütür formasyonu gerçekleşip gerçekleşmediği histolojik olarak incelendi.

Çalışmanın sonucunda 1. grupta (dura koterizasyonu yapılan grup) ortalama kemik rejenerasyon oranı %59.2 (%47.9–71.5) olarak hesaplandı. 2. grupta ise ortalama kemik rejenerasyon oranı %62.6 (%50.2–72.6) olarak hesaplandı. Başlangıç değerlerine bakıldığında defekt genişliğindeki azalmanın 8. haftada her iki grupta da anlamlı olduğu ($p<0,001$) gözlenmiştir. Ancak gruplar arasında 8. hafta sonunda defekt genişlikleri karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p:0.538$). Gruplar arasında defekt alanları karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p: 0.638$). Gruplar arasında 8. hafta sonunda rejenerasyon oranları karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. ($p:0.640$).

Histolojik incelemelerde sütür formasyonuna bakıldığında 1.gruptaki (dura matere kontrollü koterizasyon uygulanan grup) (n:5) deneklerin 4 tanesinde (%80) yeni oluşan kemik alanlarında interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür hattının oluşmadığı ve kemik uçlar arasında kallus oluşumu ile beraber kemik formasyonu gözlemlendi. Kalan diğer denekte ise interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür oluşumu olduğu gözlemlendi. 2. grup olan kontrol grubunda ise (dura matere koterizasyon uygulanmayan grup) (n:6) tüm deneklerde yeni oluşan kemik alanlarında interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür formasyonu olduğu gözlemlendi. Sütür oluşumları açısından deney ve kontrol grupları karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.0001$)

Sonuç olarak sütür altında yer alan dura materin sütür formasyonu üzerine etkisi olduğu bu çalışma ile ortaya konmuştur.

ANAHTAR SÖZCÜKLER

Dura, kraniyosinotiz, osteogenez, sütür, tavşan

İNGİLİZCE ÖZET

The difference between the dura mater underlying cranial sutures and dura mater underlying cranial bones was shown in previous experimental studies. Based on this knowledge, we planned a study to investigate the suture formation capacity of dura mater underlying cranial sutures on newborn rabbit model. We have created a critical sized defect over the interfrontal sutures. We cauterized the dura mater underlying the cranial suture without disrupting its integrity afterward. And we observed the bone regeneration for newly formed cranial suture. We thought that whether a cranial suture formed on newly regenerated bone or not, the result will be a step towards the understanding the pathogenesis of craniosynostosis.

Premature fusion of skull bones (craniosynostosis) cause severe skull deformities, skullbase and brain defomities. Studies shown that dura mater, underlying suture lines, causes delayed suture fusion. Recent studies showed that dura mater underlying cranial sutures and dura mater underlying the flat portions of cranial bones have different effects on calvarial growth. Dura mater underlying the flat portions of cranial bones shows an influence on osteogenesis, but sutural dura mater shows an influence on chondrogenesis additon to osteogenesis.

In this study, in rabbit model, a 10mm cranial bone defect was created on sagittal suture line, and dura mater was cauterized without compromising the integrity and bone regeneration and suture formation was observed in experimental group (n:10). In control group (n:10), after creation of 10mm defect on sagittal suture line with dura mater kepted unharmed, regeneration and suture formation was observed. After a follow up period of 8 weeks, 3D computerized tomography images were taken and calvarial defect areas were surgically removed for histologic analysis of bone regeneration and suture formation after sacrifice of the subjects with over dozed anesthetics.

As the results of this study group 1 (with dura cauterization) showed an average 59.2% (47.9-71,5%) bone regeneration. Average bone regeneration was measured as 62.6% (50.2–72.6%). The initial and 8th week defect sizes were compared and the reduction rates of calvarial defet size were statistically significant for both groups ($p<0,001$). The comparison of the defect size between group1 and 2 ,

was not statistically significant ($p:0.538$). The comparison of the defect area between group1 and 2, was not statistically significant ($p:0.638$). The comparison of the defect area between group1 and 2, was not statistically significant ($p:0.640$)

In histological assessments of group 1 (with dura cauterization) (n:5) 4 subjects (80%) showed bone fusion with callus formation between regenerated bone ends where the interfrontal suture formation expected. In group 2 (n:7) all subjects showed suture formation between regenerated bone ends where the interfrontal suture formation expected. Results were statistically significant for for both groups ($p<0.0001$)

As a result, the effect of sutural dura mater on cranial suture formation has been demonstrated in this study.

KEY WORDS:

Cranial suture, craniosynostosis, dura mater, osteogenesis, rabbit

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfalar</u>
Önsöz	i
Özet	ii
İngilizce Özet (Abstract)	iv
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	4
2.1 Kemik Dokusu	4
2.1.1 Kemik matriksi	4
2.1.2 Kemik hücreleri	5
2.1.3 Kemik yapısı	6
2.1.4 Kemik oluşumu	9
2.1.5 Eklemler	11
2.2 Kranyum Embriyoloji ve Anatomisi	13
2.3 Dura mater	14
2.4 Kranial sütürler	16
2.5 Kraniosinosis	19
2.5.1. Tarihçe ve Etiyopatogenez	19
2.5.2. Epidemiyoloji	20
2.5.3. Sınıflandırma	21
2.5.4. Primer kraniosinosisler	21
2.5.5 Sekonder kraniosinosisler	21
2.5 Tavşan Kafatası Anatomisi	22
2.6 Kritik Büyüklükteki Kemik Defekti	23
3. Gereç ve Yöntem	24
3.1. Denek seçimi ve kullanılan gereçler	25
3.2. Bakım	26
3.3 Ameliyat tekniği	26
3.4 Değerlendirmeler	29
3.4.1 Makroskopik değerlendirme	29
3.4.2 Radyolojik değerlendirme	29
3.4.3 Histopatolojik değerlendirme	30
3.4.4 Verilerin istatistiksel değerlendirmesi	30
4. Bulgular	31
4.1 Makroskopik değerlendirme sonuçları	31
4.2 Radyolojik Değerlendirme Sonuçları	32
4.3. Histolojik Değerlendirme Sonuçları	49
4.4 Verilerin istatistiksel değerlendirmesi ve sonuçları	53
5. Tartışma	56
6. Sonuçlar	66
7. Kaynaklar	67

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kraniyosinosis terimi ilk kez 1830 yılında Otto tarafından erken sütür kaynamasını tarif etmek için kullanılmışsa da bu hastalığın belirtileri zaman içerisinde ortaya konmuştur.

Virchow, 1851 yılında sütür hattı boyunca oluşan füzyonun, bu suture paralel bölgelerde telafi edici bir büyüme ve bu sütürün düşeyinde kalan bölgelerde de kafatası gelişiminde bir azalmayla sonuçlandığını kaydetmiştir. Bu kafatası gelişme bozukluğu teorisi; 1946'da Van der Klaaw ve 1959'da Moss tarafından, prematür sütür füzyonuyla sonuçlanan dural bozukluklara yol açan anormal fiziksel streslerin kaynağının kranyum tabanı olduğu, yani "fonksiyonel matriks teorisi" ortaya atılmaya dek, neredeyse 100 yıl boyunca hiçbir değişikliğe uğramamıştır. (1)

Bununla birlikte, daha sonra yapılan hayvan deneyleri, sinositoza has kranyum kubbesi anomalilerinin, gelişmekte olan kranyum kubbesi sütürlerinin deneysel olarak kaynaştırılmasıyla da ortaya çıkabileceğini açığa çıkarmıştır. Dahası, kranyum tabanı deformiteleri, kranyum kubbesi sütürlerinin gelişimindeki bu geri kalmışlık tarafından sekonder olarak indüklenmektedir.

Kraniyosinosis etiyojisine yönelik yapılan çalışmalarda sütür hattı altındaki dura materin sütürlerin kaynama süreci üzerinde önemli etkileri gösterilmiştir (2). Yine yeni doğan döneminde dura materin kalvaryum osteogenezinde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Son dönemde yapılan çalışmalarda ise, dura materin kraniyal sütürlerin kaynamasındaki etkisinin dura materden salgılanan TGF- β ile sağlandığı ve erken sütür kaynaması olan kraniyal sütür alanlarında artmış TGF- β ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (3,4).

Kraniyal kemiklerin düz kısımlarının altında yer alan dura mater ile kraniyal sütürler altında yer alan dura materin kemik ve sütür oluşumu üzerindeki etkileri açısından farklı özellikler sergilediği yapılmış çalışmalarda ortaya konmuştur. (5)

Her ne kadar son dönem çalışmalar ile kraniyal sütürlerin kaynama süreci hakkında önemli bulgular elde edilmiş olsa da günümüzde sütürlerin oluşumunu tetikleyen mekanizma ve kraniyal sütürlerin oluşacağı yerlerin, altta yatan dura tarafından mı, mekanik kuvvetlerce mi, ya da humoral uyarınlarla bağlı olarak mı belirlendiği sorusunun cevabı hala ortaya konamamıştır.

Bu çalışmada amaç, sütür hatlarının kaynaması sürecinde önemli rolü olan dura materin yeni doğan döneminde sütür hattı oluşturma kapasitesini araştırmaktır.

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda dura materin sütüral ve sütüral olmayan kısımları karşılaştırılmış, sütüral dura materin osteogenez ve kondrogenez potansiyeli olduğu ancak sütüral olmayan dura materin sadece osteogenez potansiyeli olduğu ortaya konmuştur. (5) Ek olarak sütüral dura materin mevcut kraniyal sütürlerin kapanması sürecinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise kraniyal sütür hatları altında yer alan, kraniyal sütürlerin kaynamasında rolü olduğu gösterilmiş olan, dura materin sütür oluşumunu sağlayıp sağlayamayacağı araştırılacaktır.

Çalışmada toplam 20 adet New Zealand sütten kesilmiş tavşan kullanılacak ve denekler 2 gruba ayrılacaktır.

Grup 1 (deney grubu): Deney grubu olan Grup 1'e dahil tüm deneklerde orta hat insizyonu ile kraniyum ortaya konduktan sonra orta hatta interfrontal sütür seviyesinde altta yatan dura mater hasarlanmadan 11mm ebatlı bir kemik defekt oluşturulması, sonrasında interfrontal sütür hattının altına gelen bölgede dura mater kontrollü olarak hat şeklinde bütünlüğü bozulmadan koter ile tahrip edilecektir. Yeni kemik oluşumu meydana gelirken sütür formasyonu incelenecektir. Bu şekilde sütür hattının altında yer alan dura materin sütür oluşumu ve morfolojisi üzerindeki potansiyel etkisinin engellenmesi beklenmektedir.

Grup 2 (kontrol grubu): Kontrol grubu olan Grup 2'ye dahil tüm deneklerde orta hat insizyonu ile kraniyum ortaya konduktan sonra interfrontal sütürü içerecek şekilde altta yatan dura mater hasarlanmadan 11mm ebatlı bir kemik defekt oluşturulması sonrasında dura matere yönelik ek herhangi bir işlem uygulanmaması planlanmıştır. Denekler yeni kemik oluşumu açısından takip edilerek defekt tabanındaki sağlam dura materin yeni sütür oluşturma potansiyeli gözlenecektir.

Her iki grupta da takip süresi 8 hafta olup, 8. hafta sonunda 3 boyutlu bilgisayarlı tomografiler çekilecektir. Sonrasında denekler yüksek doz anestezi ile sakrifiye edilerek, oluşturulmuş kemik defekt alanları rejenere olurken olası sütür formasyonu bilgisayarlı tomografi ile ve histolojik olarak incelenecektir.

Sütür altındaki duranın, sütür altında olmayan duradan farklı özellikleri olduğu teorisinden yola çıkararak planlanan bu çalışmada, sütür altına denk gelen dura hasarlanacağı için kemik rejenerasyonu sonrası yeni sütür hattının oluşmaması beklenmektedir. Bir diğer olasılık, önceki benzer çalışmaların aksine sütür hattının yeni rejenere olan kemik yapı içerisinde orijinal haliyle tekrar oluşmasıdır. Bu durumda sütür hatlarının altında yer alan dura materin yeni sütür formasyonuna katkısı olmadığı yönünde bir sonuç ortaya çıkacaktır. Başka bir deyişle, çalışma sonunda sütür hatları altında yer alan dura materin sütür oluşturma potansiyeli olup olmadığı ortaya konacaktır. Her koşulda çalışmamızın kraniyosinotiz etiopatogenezinin anlaşılmasına katkı sağlayacağının düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik Dokusu

Kemik, ekstrasellüler matriksi kalsifiye olan özel bir bağ dokusudur ve vücudun iç destek sistemini oluşturur. Dış mekanik kuvvetler gibi streslere uyacak şekilde büyüme, ebat ve şekil değiştirme mekanizmalarına sahiptir. Kemiğe uygulanan basınç rezorbsiyona neden olurken, gerilim kuvveti yeni kemik oluşumuna yol açar. Kemik inorganik iyonların major kaynağıdır, vücut kalsiyum fosfat dengesinde de önemli rol oynar ve içerdiği kemik iliği sayesinde hematopoetik bir organdır.

Kemik dokusu periost ile örtülüdür. Periost, dışta yoğun fibröz bağ dokusu ve içte osteoprogenitör hücreleri içeren hücresel bir tabakadan oluşmakta olup, eklem içi sinovyal yüzeylerde bulunmaz.

Kemik hücreleri, ostoblastlara dönüşen osteoprogenitör hücrelerdir. Osteoblastlar, organik matriksi salgırlar ve çevrelerinde yeterli miktarda organik matriks olunca, laküna adı verilen boşluklar içerisinde osteositlere dönüşürler. Kemik iliği öncül hücrelerinin birleşmesinden oluşan osteoklastlar, çok çekirdekli, dev hücreler olup kemik rezorbsiyonu ve yeniden şekillendirilmesinden sorumludurlar.

2.1.1 Kemik matriksi

İnorganik ve organik olarak ikiye ayrılır.

İnorganik matriks: Kemik kuru ağırlığının %60'ını oluşturur. Kemik matriksinin inorganik kısmı temel olarak hidroksiapatit formundaki kristalize kalsiyum fosfat tuzlarından oluşmaktadır. Bu sayede kemik kalsiyum ve fosfatın depolandığı ve/veya kontrollü salınımının yapıldığı bir rezervuar görevi görmektedir. Kemik dokusunun sertliği kollajen doku ile hidroksiapatit kristalleri arasındaki etkileşime bağlıdır. Eğer kemik dekalsifiye edilirse orijinal şekli korumakla beraber kolay bükülebilir hale gelir. Kemik aynı zamanda karbonat, florid, asit fosfat, magnezyum ve sitrat içerir. (6)

Organik matriks: Kemik kuru ağırlığının %35'ini oluşturur. Organik kısmının %90'ı, tropokollajen olarak intrasellüler sentezlenen ve hücre dışına kollajen fibril olarak çıkan, tip I kollajenden oluşur. (6) Kollajen yanı sıra kemik matriksi kondroitin sülfat ve keratan sülfat gibi glikozaminoglikanlar (GAG) ile osteonektin, osteokalsin ve osteopontin gibi glikoproteinleri içerir. (7)

2.1.2 Kemik Hücreleri

Kemik biyolojisinde önemli rolü olan hücreler osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır. Osteoblastların temel görevi kemik oluşumu (osteogenezis) ve mineralizasyonu iken osteoklastlar ise kemik rezorbsiyonundan sorumludur. Osteoblast ve osteositler mezenkimal kök hücrelerden köken alırlarken osteoklastlar hematopoetik kök hücrelerden köken almaktadır.

Osteoprogenitör hücreler periosteumun iç tarafında, Haversian kanallarında ve endosteumda bulunurlar. Embriyonik mezenkimden köken alarak kemik büyümesinde aktif rol oynarlar ve mitoz ile bölünerek osteoblastlara farklılaşabilirler. Düşük oksijen konsantrasyonlarında kondrojenik hücrelere dönüşebilirler. (7)

Osteoblastlar: Osteoprogenitör hücrelerden köken alan bu hücreler, Tip 1 kollajen, glikoproteinler, proteoglikanlar ile osteokalsin, osteonektin ve osteopontin gibi organik matriks bileşenlerinin sentezinden sorumludurlar. Ayrıca, kemik rejenerasyonunda önemli rol aldıkları düşünülen, kemik morfojenik proteinler, TGF- β , IGF-1, IGF-2, interlökin-1, PDGF gibi sinyal proteinlerini salgılar.(8)

Osteositler: Kalsifiye kemik matriksi içerisindeki lakünalar içinde yerleşen ve osteoblastlardan farklılaşan, kemik hücreleridir. Lakünalardan ışımsal tarzda dağılan tünel benzeri kanalikül yapıları içerisinde osteositlerin sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar yardımı ile komşu osteosit ile iyon ve küçük molekül alışverişine olanak sağlayan bağlantılar oluştururlar. Siklik adenzin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve insülin benzeri büyüme faktörü salgılayarak büyüme ve gelişme sırasında preosteoblastların yeni kemik oluşumundaki yönlendirilmelerinde etki gösterirler. (7)

Osteoklastlar: Kemik iliği granülosit-makrofaj öncül hücrelerinden köken alan ve kemik rezorbsiyonundan sorumlu olan, çok çekirdekli hücrelerdir. Kemik rezorbsiyonundan sonra apoptozise uğrarlar (8)

2.1.3 Kemiğin yapısı

2.1.3.1 Kemiğin kaba yapısı

Kemikler anatomik şekillerine göre uzun, kısa, yassı, irregüler, sesamoid olarak 5'e ayrılırlar.

Uzun kemikler longitudinal olarak incelendiğinde iki tip kemik yapısı dikkat çeker. Çok yoğun dış taraftaki 'kompakt kemik, içerisinde ise kemik iliğini içeren 'kansellöz veya süngerimsi kemik'.

Kansellöz kemik, kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Haversian sistem içermezler. İçerisindeki kemik iliği ise, kan hücrelerini oluşturan kırmızı kemik iliği ve çoğunluğu yağdan oluşan sarı kemik iliği olarak ikiye ayrılır.

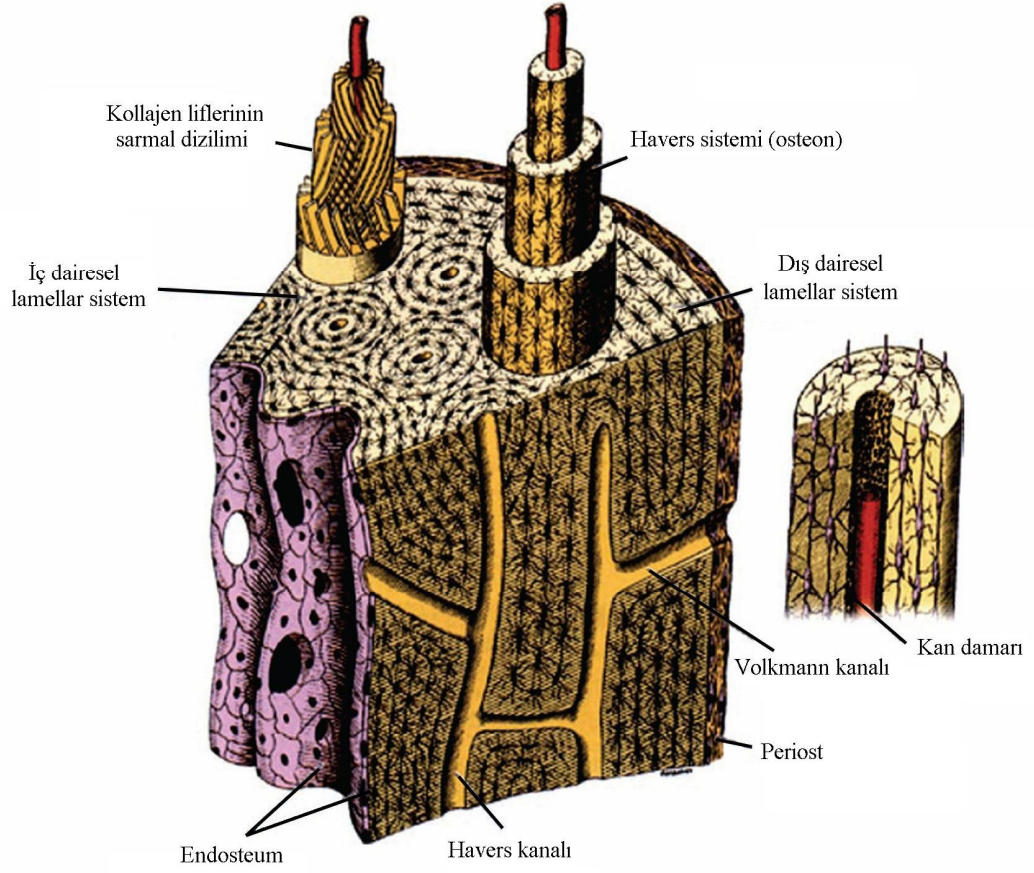
Kafatası yassı kemikleri uzun kemiklerden farklı bir şekildedir. İç ve dış yüzeyler iç ve dış tabula denilen yoğun kompakt kemik ve aralarındaki 'diploe' denilen kansellöz kemikten oluşmuştur. Dış tabulanın üstü periosteum, iç tabulanın içi duramater ile örtülüdür.(9)

2.1.3.2 Kemiğin mikroskopik yapısı (Şekil 1)

Mikroskopik olarak kemik primer (matür, lameller) ve sekonder (immatür) olarak ikiye ayrılır. Sekonder kemik fetal gelişim sırasında ve kemik iyileşmesi sırasında oluşan kemiktir. Yeterli osteosit ve düzensiz kollajen yapıları, matür kemik oluşumu ile düzenli kollajen yapıları haline gelir. İmmatür kemiğin mineral içeriği matür kemikten daha azdır. Matür kemik 3-7 µm kalınlıktaki paralel, konsantrik lamellerden oluşur. Osteositler lameller içerisinde belirli aralıklarla yerleşmiştir. Osteositler arasındaki kanaliküller sayesinde aralarında besin, hormon, iyon alışverişi yaparlar. Lameller kemik içindeki kollajen yapıları lameller yapıya paralel uzanır. (9)

İç ve dış sirkumferensiyel lameller: Dış sirkumferensiyel lameller periosteum altında bulunur ve periosteumu kemiğe bağlayan Sharpey liflerini içerir. İç sirkumferensiyel lameller ise endosteum altında bulunurlar ve dış lameller kadar yoğun olmayan, kemik iliğini saran ve kemik iliğindeki kanselöz kemiğin trabeküllerinin tutunduğu bir yapı oluştururlar. (10)

Haversian kanal sistemi (osteon) ve Volkmann kanalları: Haversian kanal sistemi, ortada vasküler bir boşluk etrafında (Haversian kanal) silindirik 5-15 arasındaki lamellerden oluşan bir yapıdır. Her lamel birkaç mikron kalınlığında olup kanal çevresinde spiral şekilde yer devam ederler. Haversian kanal kapiller, venül, lenfatik damarlar ve osteoprogenitör hücreleri içeren gevşek bağ dokudan oluşur. Volkmann kanalları, Haversian kanallarına oblik veya dik uzanan, osteonların Haversian kanallarını birbirine ve periost içerisindeki kan damarlarına bağlayan kanallardır. (10)



Şekil 1: Kortikal kemigin morfolojik yapısı. Havers ve Volkmann kanallarının yerlesimleri (Jasvir S. Khurana. Bone Pathology, 2nd ed., Humana Press, New York, Chapter one, page 5, 2009).

2.1.4 Kemik oluşumu

Kemikler embriyonik gelişimde iki farklı yolla oluşurlar.

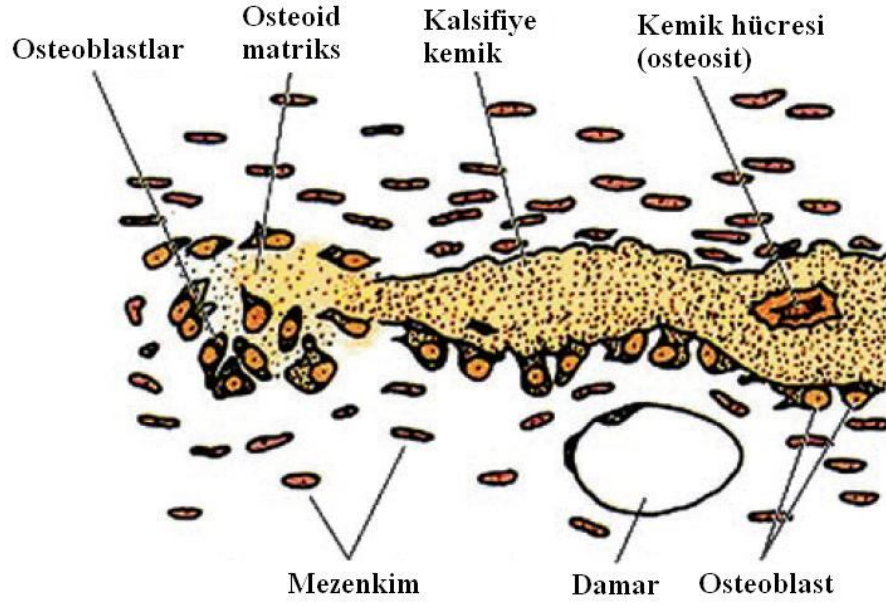
- İntramembranöz kemikleşme
- Enkondral kemikleşme

2.1.4.1 İntramembranöz kemik oluşumu

Özellikle kafatası ve yüzün düz kemikleri intramembranöz kemikleşme ile oluşur. Mezenkim içerisinde, osteoblastlar ve ostoesitlerin köken aldığı osteoprogenitör hücreler bulunur. Yeni kemiğin oluşacağı alanda bu hücreler bir araya toplanarak osteoblastlara farklılaşırlar ve aktif kemik matriks sentezi başlar.(10)

Oluşturdukları trabeküler kemik yapıları primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Kalsifikasyon ve osteoid oluşumunu takiben osteoblastlar osteosit haline gelir. Mezenkimal hücrelerin mitotik çoğalması ile osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlar oluşarak yeni kemik oluşumu devam eder. Kalsifiye olmayan mezenkimal hücreler periosteum ve endosteuma döner. Periosteumun iç tabakası ve duranın periosteal tabakası kompakt kemiğe dönerek iç ve dış tabakayı yaparlar.(9)

Mezenkimal dokular içerisindeki kemik oluşumudur (Şekil 2). Çoğu yassı kemik bu yolla oluşur. Mezenkimal hücreler osteoblastlara farklılaşarak kemik matriksi oluştururlar.



Şekil 2: İntramembranöz ossifikasyon. Mezenkimal kök hücreler yoğunlaşır, kemik matriksini mineralize eden ve osteoid bırakan osteoblastlara farklılaşırlar. Bu osteoblastlar gelişen kemiğin sınırlarına yerleşerek kemik matriks üretimine devam ederler. Kemik matriks içerisinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşürler. Kemiğin oluşumuna öncülük eden kıkırdak yapı, bu tip kemik oluşumunda bulunmaz. (Jasvir S. Khurana. Bone Pathology, 2nd ed., Humana Press, New York, Chapter one, page 16, 2009).

2.1.4.2 Enkondral kemik oluşumu

Kemik oluşumu için kıkırdak çatının varlığı gereklidir. Uzun ve kısa kemikler bu yolla kemikleşir. İki aşamada oluşur:

I- Hiyalin kıkırdak bir çatının oluşması.

II- Kıkırdak yapının büyümesi ve kemik çatı için bir model olması, rezorpsiyonu ve yeni kemik oluşumu.

2.1.5 Eklemler

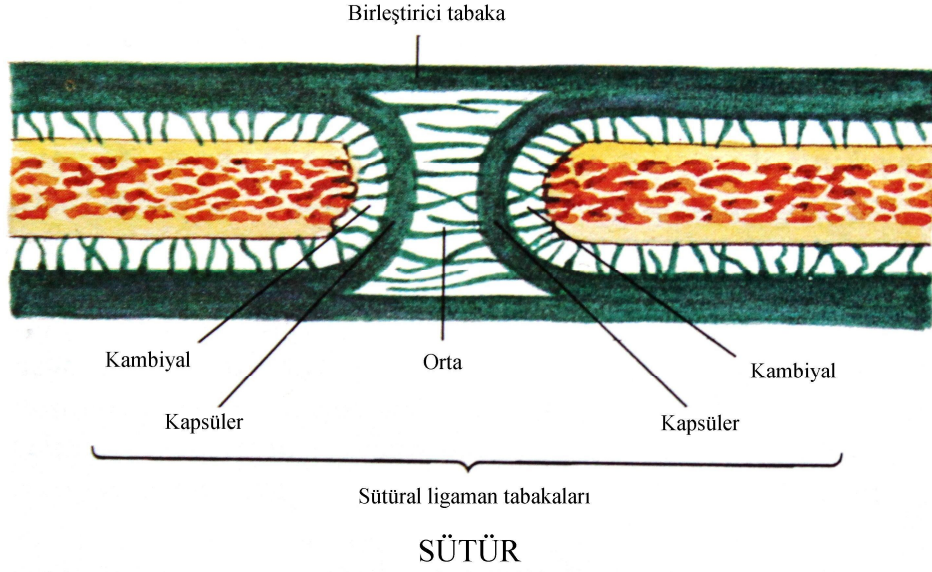
Bitişik kemiklerin bileşkesi eklem olarak isimlendirilir. Vücudumuzda üç çeşit eklem vardır:

- Diartrodial eklem
- Amfiartrodial eklem (Simfizis)
- Fibröz sinartroz

Vücudumuzda en sık diartrodial eklemler bulunmaktadır. Diartrodial eklemler iki kemik arasında serbest harekete izin veren birimlerdir. Diartrodial eklem yüzeyleri hyalin kıkırdak ile kaplıdır. Bu durumun istisnaları eklem yüzeylerinin fibröz kıkırdak ile kaplı olduğu sternoklavikular ve temporomandibular eklemlerdir.

İkinci eklem tipi, sınırlı harekete izin veren amfiartrodial eklem veya simfizistir. Vücudumuzdaki intervertebral diskler ve simfizis pubis, amfiartrodial eklemlerdir.

Üçüncü eklem tipi olan fibröz sinartroz ile ise sütür, gomfozis ve sindesmozis olarak kendi içerisinde üçe ayrılır (12). Kafa kemikleri arasında bulunan sütürler, harekete izin vermeyen eklemler olan fibröz sinartroz eklemlerdir. Bu eklemler kollajenize fibröz doku ile dolmuş durumdadır.(13) Sütüral eklemlerde, her iki taraftaki kemiğin de sütüral yüzleri osteojenik hücrelerden oluşan “ Kambiyal tabaka” olarak isimlendirilen bir tabaka ile kaplıdır. Kambiyal tabakanın üzeri ise fibröz dokunun kapsüler lamellası ile örtülüdür. Bu iki tabaka dış yüzde periost ve iç yüzde dura mater ile devamlılık göstermektedir. Bu iki tabaka arasında da genişliği yaş ile değişen gevşek fibröz bağ doku bulunmaktadır. (Şekil 4)



Şekil 4: Sütüral eklemlerin tabakaları

Sütürlerin 3 farklı tipi bulunmaktadır: Dentat suture, serrata suture ve limbosa suture.

Dentat suturelerde kemikler arasında diş benzeri uzantılar mevcuttur ve bu suture tipi pariyetal kemikler arasında bulunur.

Serrata suturelerde kemik uçlarda testere dişlerine benzer şekilde uzantılar mevcuttur ve bu suture tipi frontal kemikler arasında bulunmaktadır.

Limbosa suture ise eklem yüzeylerinde karşılıklı bir eğim mevcuttur ve bir kemik diğerinin üzerine biner. Bu suture tipi pariyetal ve frontal kemikler arasında bulunur.

2.2 Kranyum Embriyoloji ve Anatomisi

Embriyonun kafatası gestasyonun 23-26. günlerinde gelişmeye başlar. Kafatası, beynin çevresinde koruyucu bir kafes oluşturan nörokranium ve yüzün iskeletini oluşturan visserokranium olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Nörokranium da beynin çevresini saran yassı kemiklerden oluşan membranöz parça ve kafatası tabanı kemiklerini oluşturan kartilajinöz parça olarak ayrılır. (14)

Membranöz nörokranium kafatasının tavanı ve yanlarının önemli bir kısmı nöral krest hücrelerinden oluşur. Sadece oksipital bölge ve otik kapsülün arka kısımları paraksiyel mezodermden gelişir. Bu iki kaynaktan gelen mezenşim beynin çevresini sarar ve membranöz ossifikasyona uğrar. (14)

Doğumda kalvaria kemikleri düz ve unilaminardır ve diploe bulunmaz. Özellikle frontal ve pariyetal eminensler belirgindir. Yenidoğan kranyumu, iskeletin diğer bölümleri ile karşılaştırıldığında orantısız olarak büyüktür; bununla birlikte yüz iskeleti, kalvaria ile karşılaştırıldığında küçüktür ve kraniumun yaklaşık 1/8'i kadardır. Erişkinlerde ise yüz iskeleti, kraniumun yaklaşık 1/3'ü kadardır. Yenidoğan kalvariasının büyük olması, beynin gelişim ve büyümesinin erken olmasına bağlıdır. Yüzün küçük olması ise; mandibula, maksilla ve paranasal sinüslerin rudimenter gelişimine, burun boşluklarının küçük ve dişlerin henüz çıkmamış olmasına bağlıdır. (15)

Kraniyal kubbe çift kemikler olan frontal, skuamozal ve pariyetal kemikler ile oksipital kemiğin parçasını içerecek şekilde 7 adet kemikten oluşur. Oksipital kemik haricinde kalan kemikler tamamen intramembranöz ossifikasyon veya kartilajinöz prekürsör olmadan direk kemikleşme ile oluşurlar. Oksipital kemiğin alt kısmı endokondral ossifikasyon ile oluşurken üst parçası ise intramembranöz ossifikasyon ile oluşur. (16)

Histolojik olarak değerlendirildiğinde ise, bu yapılar ektoderm yüzeyi ile serebral hemisferler arasında yer alan iskeletojenik mezenkimden köken almaktadır. Osteogenez her bir kemiğin prekürsörü olan mezenkimal blastemalardan başlar.

Mezenkimal hücrelerin farklılaşması sürecinde bıraktığı ekstraselüler matriks daha sonra mineralize olur. (16)

2.3 Dura Mater

Beyin ve spinal kordu zarf gibi saran meninksler dura mater, araknoid mater ve pia mater olarak 3 tabakadan oluşmaktadır. En dışta yer alan dura mater, kalın, sert ve inelastik bir yapıya sahiptir. Dura mater serebral ve spinal olmak üzere iki parça olarak incelenir. Serebral dura mater foramen magnumdan sonra spinal dura mater olarak devam eder.

Serebral dura mater temel olarak fibröz yapıda olup elastik fibriller ile dominant olarak beyaz kollajen fibriller içermektedir. Serebral dura mater kraniyal kaviteyi çevreler ve birbiri ile birleşik 2 tabakadan oluşmaktadır. İç kısımda meningeal tabaka, dışta ise endosteal tabaka bulunmaktadır. Dura mater ile kraniyal kemiklerin iç yüzeyi arasında vasküler yapılar ve fibröz bağlantılar içeren yapışıklıklar vardır. Bu yapışıklıklar kraniyal sütür bölgelerinde daha kuvvetlidir.

Venöz sinüsler, foramen magnum ve optik kanalda birbirinden ayrılan dura materin meningeal ve endosteal tabakaları arasında histolojik farklılıklar bulunmaktadır. Meningeal tabakada ince meningeal damar dallar mevcut iken endosteal tabaka içerisindeki periostal damar dalları göreceli olarak daha geniştir. Fibroblastik aktivite tüm dura materde mevcut iken osteoblastik aktivite sadece dura materin endosteal tabakasında mevcuttur.

Elektron mikroskop altında yapılan çalışmalarda, yenidoğan durasından koronal kesitler alınmış ve sütür altındaki duranın iki farklı tabakadan oluştuğu gözlenmiştir. Dış tabaka tip 1 kollajen lifler içeren fuziform hücrelere sahiptir. İç tabaka ise kondrositlere benzer (kondroid hücreler) poligonal yapıdaki hücrelerden yapılmıştır. Sütür hattına gelmeyen duranın sadece tek tabaka olduğu, bu tabakanın da sütüral duranın dış tabakasına benzediği gözlenmiştir (5).

Dura materin endosteal tabakası kraniyal sütürlerin de içinde bulunduğu tüm kraniyal açıklıklarda eksternal periost ile devamlılık gösterir. Kraniyal sütürler kapandığında ise bu devamlılık kaybolurken dura mater ile sütür hatları arasında güçlü bir yapışıklık olarak kalır. (17)

İmmatür hayvanlarda subtotal kranyektomi sonrası kalvaryum ve sütürlerin tam olarak rejenere olabildiği gösterilmiştir (18) Deneysel çalışmalarda duranın belirgin osteojenik potansiyelinin olduğu, yenidoğan döneminde dura mater sağlam olduğu sürece büyük kemik defektlerinin tamamen iyileştiği bilinmektedir (19). Kranyal kemiklerin rejenerasyonu sürecinde dura mater ve periostun farklı düzeylerde etkisi olduğu düşünülmektedir. Hobar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, yenidoğandan alınan dura materin erişkin dura materi ile yer değiştirildiğinde, kalvaryal kemik iyileşmesini artırdığı, tersi şekilde infant durası matür bir hayvanın durası ile yer değiştirildiğinde ise kemik rejenerasyonu durduğu gözlemiştir (20). Bu çalışmada kranyal kemik rejenerasyon kapasitesinin zaman içinde azalması, duranın osteoprogenitör hücre kapasitesinde azalma nedeniyle olduğu gösterilmiştir.

Ayrıca, Uddstrmer ve Ritsila'nın yaptığı çalışmada yenidoğandan alınan periost erişkin periostu ile yer değiştirdiğinde iyileşme süreci farklılık oluşmadan devam ettiği gözlenmiştir. Bu bulgular rejenerasyon süreci için immatür dura gerektiğini ve rejenerasyonda duranın periosttan daha potent olduğunu ortaya koymuştur (21)

2.4 Kraniyal Sütürler

Kraniyal sütürler, kraniyal kubbe kemikleri arasında bulunan fibröz eklemlerdir. Sütürler, kafatası kemikleri arasında yer alan fibröz eklemlerdir. İki kemik uç ve arasında yer alan, embriyojenik mezenkimden köken alan fibröz dokudan oluşmaktadır. Sütürler bir eklemden çok iki kemik arasında yer alan osteoprogenitör hücrelerin proliferasyonu, diferansiyasyonu ile bir primer osteogenez bölgesidir.

Kraniyal sütürlerin doğumda kraniyumun kompresyonunun sağlanması ve hızlı büyüyen nörokraniumun büyüme merkezleri olması gibi önemli görevleri vardır.

İnsanlardaki primer kraniyal sütürler:

- İnterfrontal/metopik sütür (frontal kemikler arasında),
- Sagittal sütür (pariyetal kemikler arasında),
- Koronal sütür (frontal ve pariyetal kemikler arasında)
- Lambdoid sütür (pariyetal ve oksipital kemikler arasında)

İki veya daha fazla kraniyal sütürün birleşme noktasında fontaneler bulunur. Koronal, sagittal ve metopik sütürler arasında anterior fontanel, sagittal ve lambdoid sütürler arasında da posterior fontanel bulunur. Kraniyal sütürlerin çoğu yaşamın üçüncü-dördüncü dekadına kadar patent kalırken metopik sütür farklı olarak yaşamın ilk 3 yılında fizyolojik kaynamaya uğrar. (16)

Kraniyal kemiklerin birbirleri ile olan ilişkisini oluşturan sütürler, kemiklerin kenarları boyunca uzanır ve ince fibröz bir tabaka ile kemik kubbenin devamlılığını sağlar. Kraniyal sütürler, doğum sırasında kraniyal kemiklerin üst üste binmesine izin vererek kafanın doğum kanalından geçişini kolaylaştırır. Oluşan şekil değişikliği doğum sonrası birinci haftada düzeldikten sonra kraniyal genişleme ve sütürlerin açılması normale döner.

Çocuğun büyümesi ile sütürler beyin gelişimine paralel olarak kraniyal kubbenin büyümesi ve şekillenmesine izin verirler. Kraniyal sütürlerin testere dişi

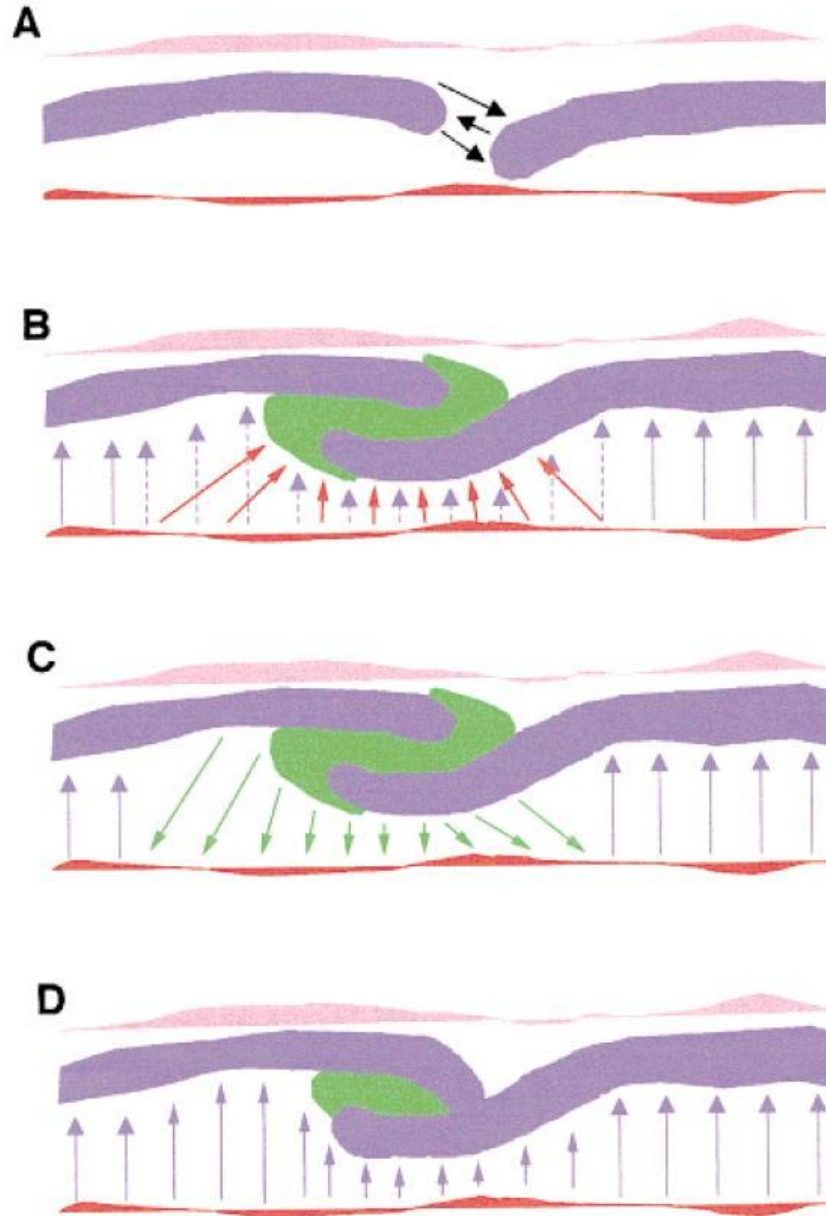
şeklindeki yapısı, travma gibi dış kuvvetlerle kemiklerin birbirinden ayrılmalarını önler. Erken çocuklukta maruz kalınan minör travmalarda ortaya çıkan mekanik stresler de sütürlerin hafif harekete izin vermesi ile absorbe edilir.

Kraniyal sütürler, nörokraniyal kemiklerin aralarındaki mesafelerin azalması ve osteojenik kısımları birbirlerine yaklaşması ile oluşur. İki osteojenik yüzey arasında kalan mezenkimal doku daha selüler hale gelerek osteojenik yüzeylere dahil olur ve muhtemelen buradaki osteoblast ve osteoblast prekürsörlerine yardımcı olur. Kısaca, bir kraniyal sütürü oluşturan ana komponentler osteojenik kemik yüzeyleri, osteojenik yüzeyler arasında kalan mezenkim ve altta yatan dura materdir. (14)

Hem kafa tabanı kökenli biyomekanik gerilim kuvvetleri hem de dura mater kökenli biyokimyasal faktörlerin varlığı sütür morfogenezi ve açıklığının devamlılığında belirleyicidirler. (2)

Birbirine yaklaşan kemik kenarlarından gelen ve dura mater veya periosttan gelen sinyallerden bağımsız olan sinyaller ile kemik kenarlar birbirlerini iterek üst üste binerler. Kemik kenarlarının üst üste binmesi sonrasında dura materden gelen sinyaller ile yeni oluşan sütürün devamlılığı sağlanır. Yine dura mater kökenli osteojenik sinyaller ile periostal yüzeyde depozisyon ve mineralizasyon sonucu kemiklerde kalınlaşma olur. Sütür stabilize olduktan sonra oluşturduğu sinyaller ile lokal altta yatan dura materin osteojenik sinyal üretmesi engellenir. Sütür kaynaklı osteoinhibitör sinyallerin yokluğunda, altta yatan dura mater osteojenik sinyallere devam eder ve sütürün osseöz obliterasyonu gerçekleşir. (22) (Şekil 5)

Kraniyal sütürlerin tam olarak nasıl şekillendiği ise net değildir. Şekillenmeyi sağlayan bir gen, bir büyüme faktörü veya şekillenme geni henüz ortaya konamamıştır.



Şekil 5: A: Sütür morfogenezinin (A-C) ve sütür kaynamasının (D) şematik gösterimi. A: Kemik kenarlardan gelen itici sinyaller. B: Kemik kenarlar üst üste bindikten sonra dura materden gelen sinyaller ile (kırmızı oklar) yeni oluşan sütürün (yeşil alan) korunması sağlanır. Yine dura mater kökenli osteojenik sinyaller (mor oklar) ile kemik kalınlaşması sağlanır. C: Sütür stabilizasyonunun sağlanması ile sütür hattından gelen sinyaller ile (yeşil oklar) altta yatan lokal dura materin osteojenik sinyal üretimi engellenir. D: Sütür kaynaklı osteoinhibitör sinyallerin yokluğunda, altta yatan dura materden gelen osteojenik sinyaller ile sütür hattının osseöz obliterasyonu gerçekleşir. (Opperman LA. Cranial sutures as intramembranous bone growth sites. Dev Dyn. 2000 Dec;219(4):472-85)

2.5. Kraniosinosis

Bir veya daha fazla kranial sütün erken kapanması kraniosinosis olarak isimlendirilir ve 2500 canlı doğumda 1 görölme sıklığı vardır. Kraniosinosisin sekelleri arasında artmış intrakranial basınç, hidrosefali, körlük, sağırılık ve dismorfik yüz bulunmaktadır. (1)

Sık karşılaşılan kraniosinosisler ve etkilenen kranial sütürler;

- Trigonosefali – Metopik sütün
- Skafosefali – Sagittal sütün
- Plagiosefali – Unilateral koronal sütün
- Oksisefali/Turrisefali – Bilateral koronal sütün

2.5.1. Tarihçe ve etiopatogenez

Tarihte kraniosinosis ile ilgili 3 etiopatolojik teori öne çıkmıştır. Rudolph Virchow'un 1851 yılındaki kretinizm ve patolojik beyin malformasyonları ile ilgili yazısında kranial sütürlerin kaderinin nörokranial çevre ile bağımsız olduğunu öne sürmüştür. Virchow kalvaryal sütürlerin kaynaması veya açık kalmasının otonom bir süreç olduğunu, dura mater veya beyinle olan ilişkiden bağımsız olduğunu düşünmüştür. (23)

Park ve Powers, 1920 yılında kraniosinosisin, kranial sütün mezenkimal blastemindeki primer defekt nedeni ile geliştiğini öne sürmüşlerdir. Kranial sütün mezenkimindeki embriyolojik defektin prematür füzyona sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir.(24)

Moss'un 1959 yılında ortaya attığı hipoteze göre dura mater kafa tabanı biyomekanik kuvvetleri için iletken görevi görmektedir. Dolayısıyla anormal kafa tabanından iletilen gerilim kranial sütün fizyolojisini değiştirecektir. (25)

Delashaw ve ark erken kaynamaya uğrayan bir sütürün yaratacağı deformiteyi açıklamaya yönelik 4 kural önermişlerdir: (26)

1. Erken kaynayan kraniyal kubbe kemikleri, büyüme potansiyeli azalmış tek bir kemik tabaka gibi davranırlar.
2. Çevreleyen sütürlerde, kemik tabaka dışına doğru artmış kemik depozisyonu olacak şekilde, asimetrik kemik depozisyonu gelişir
3. Stenotik sütün bitişik sütünlerde kompanzasyon amaçlı büyümede artış gözlenir ki bu büyüme stenotik sütün bitişik olmayan sүүлere göre daha fazladır.
4. Prematür kaynayan sütün devamı olan sütün her iki kenarında artmış kemik depozisyonu gelişir.

Sütün oluşumunda önemli rolü olan dura materin kraniyal sütün hattının altında yer alan ve kalvaryal kemiklerin düz kısımları altında bulunan kısımlarının arasındaki farkın elektron mikroskop ile incelendiği çalışmada sütün hattı altındaki dura materin iki farklı tabakadan meydana geldiği ortaya konmuştur. Dış tabakada daha yoğun fusiform hücrelerden ve ekstrasellüler kompartmanda yoğun tip 1 kollajen fibrillerinin olduğu, iç tabakada ise kondrosit karakteristikleri gösteren daha gevşek yerleşimli, geniş, proteoglikanlar ile çevrili poligonal hücrelerden oluştuğu gösterilmiştir. Kalvaryal kemiklerin düz kısımları altında bulunan dura materin ise tek tabakadan oluştuğu ve yapısının sütün hattı altındaki dura materin dış tabakasına benzer olduğu gösterilmiştir. Kalvaryal kemiklerin düz kısımları altında bulunan dura materin osteogenez potansiyeli var iken sütün hattının altında yer alan dura materin hem osteogenez hem de kondrogenez potansiyeli olduğu gösterilmiştir. (5)

2.5.2. Epidemiyoloji

Kraniyosinotiz prevalansı 2500 doğumda birdir. En sık görülen kraniyosinotiz tipi sagittal sinotizdur (%40-55). Sonra sırası ile koronal (%20-25), metopik (%5-15), multipl sütün tutulumu (%5-15) ve en az olarak da lambdoid sinotiz (%0-5) gözlenmektedir. (27)

2.5.3. Sınıflandırma

Kraniyosinositoz non sendromik ve sendromik olarak iki gruba ayrılır. Vakaların çoğunluğu (%70) non sendromik kraniyosinositoz olgularıdır. Yapılan çalışmalarda ailesel geçiş non sendromik koronal sinositozlarda %14, sagittal sinositozlarda %6, metopik sinositozda %3-9 ve sendromik metopik sinositozda ise %22 olarak bulunmuştur. (7)

2.5.4 Primer kraniyosinositozlar

Primer kraniyosinositozda bir veya daha fazla kraniyal sütünde, sadece sütünü etkileyen gelişimsel bir bozukluğa bağlı, fatal dönemde kısmi veya tam kaynama gerçekleşmiştir. Tek bir sütünün kaynama sorunu (basit kraniyosinositoz) en sık karşılaşılan durumdur ve etiyolojisi günümüzde halen açıklanamamıştır. Çoklu sütün tutulumları genellikle genetik orijinli sendromlar (Apert sendromu, Pfeiffer sendromu, Saethre-Chotzen sendromu gibi) ile birlikte dir.

2.5.5 Sekonder kraniyosinositozlar

Sekonder kraniyosinositoz santral sinir sisteminin gelişimsel bozuklukları, metabolik veya hematolojik hastalıklar ile birlikte görülür. Anormal kafatası şekli, gebeliğin geç dönemlerinde uterus içerisinde uygun olmayan fetal pozisyona bağlı oluşan ve sütünün erken kapanması ile sonuçlanan mekanik basınç artışına bağlı olarak gelişebilir. Sekonder kraniyosinositoz aynı zamanda doğum sonrasında serebrospinal sıvı dolaşımı için yapılan şant tedavisinin komplikasyonu olarak da gelişebilir.

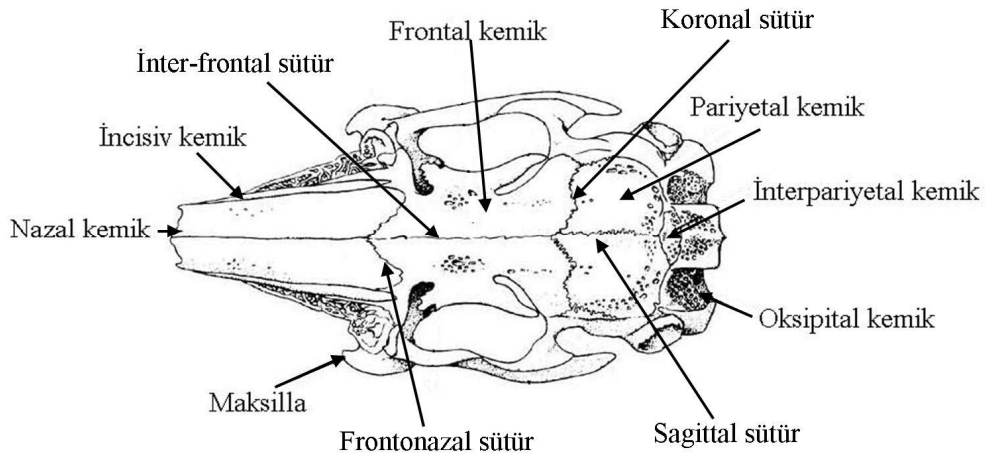
Özetle, sekonder kraniyosinositozlarda tanı konulan başka bir patoloji sinostoza yol açmaktadır:

Hipertiroidizm: Hipotiroidi için tiroid hormon tedavisi gören veya tirotoksik guatrı olan hastalarda kraniyal sütünlerin erken kapanması gözlenen bir bulgudur. (28)

Rikets: Kraniosinostoz, değişik etyolojik nedenlerle ortaya çıkan rikets hastalarında rapor edilmiştir. Hastalığın şiddeti sinostozun gelişim ve şiddeti ile doğru orantılıdır. Riketsin başlama yaşı da kraniosinostoz şiddetini arttırmaktadır. Yüksek alkalen fosfataz değerleri de kraniosinostoz sıklığını doğru orantılı olarak etkilemektedir.(29)

2.5 Tavşan Kafatası Anatomisi

Tavşan tipik bir omurgalıdır. Uzun nazal kemik yapının arkasında kavum kranii'nin tavanını yapan frontal ve pariyetal kemikler bulunur. Pariyetal kemik ile oksipital kemik ile arasında interpariyetal kemik vardır. Tavşan kranyumunda pariyetal kemikler arasında sagittal sütün, frontal kemikler arasında inter-frontal sütün, frontal ve pariyetal kemikler arasında koronal sütün, frontal kemikler ile nazal kemik arasında frontonazal sütün bulunur. (Şekil 6)



Şekil 6: Tavşak kranyum kemikleri ve sütünleri

2.6 Kritik Büyüklükteki Kemik Defekti

Schmitz and Hollinger 1986 yılında ‘kritik büyüklükteki kemik defekti’ni tanımlamışlardır. (30) Buna göre kritik büyüklükteki kemik defekti ‘**organizmanın yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki kemik içi defekt**’ olarak tanımlanmıştır. Bu tip defektler yeni kemik oluşumu yerine fibröz bir bağ dokusu ile dolar. Bu defektler kemik iyileşme modellerinde kullanılırlar.

Kritik ebat kemik defekti, araştırmacıların kemik yerine kullanılabilecek materyallerin test edilmesinde, bir insan fibröz non-union modeli olarak geliştirilmiştir.(30-32) Bu, non-unionların medikal müdahale olmadan iyileşme kapasiteleri yoktur. Bu nedenle, yaratılan modelin asıl amacı insanlardaki non-unionlara benzer şekilde hayvanlarda kendiliğinden iyileşmeyecek bir defekt yaratmaktır. Kritik ebat kemik defektinin rutin uygulamalara girmesi ile birlikte araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalarda kullanılan, kemik yerine kullanılabilecek materyallerin karşılaştırılabilmesi sağlanmıştır.(30)

Kritik ebat kemik defektleri hakkında farklı görüşler ortaya atılmıştır. Gosain ve arkadaşları çalışmalarda deneklerin tüm yaşamları boyunca değil, sadece çalışma süresince takip edildiğini söylemişler, bu nedenle kritik ebat kemik defekti tanımının doğru olmadığını savunmuşlardır. (33) Güncel tanımın yerine “**çalışma süresince kendiliğinden iyileşemeyecek ebattaki defekt**” kullanılması gerektiğini savunmuşlardır. Ancak bu görüş klinik uygulamalarda kabul görmemiş ve uygulamalara alınmamıştır.

Tavşanlar üzerinde değişik ebatlardaki kraniyal defektlerin spontan iyileşme kapasitesi üzerine yapılan bir çalışmada kritik büyüklükteki defektin 15mm üzerinde olduğu ve kemik rejenerasyonunun değerlendirilmesi için 11mm’lik bir defektin iyi bir seçenek olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada kemik rejenerasyonunu değerlendirmede 8 hafta takibin yeterli olduğu gösterilmiştir (34).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Düzce Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 15.09.2011 tarih ve 2011/002 karar numaralı izni ile Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Sütür altındaki duranın, sütür altında olmayan duradan farklı özellikleri olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Biz de bilgiden yola çıkarak sütür hattının altına denk gelen dura materin sütür oluşumuna katkısını incelemek için yenidoğan tavşan modelinde bir çalışma planladık. Çalışmada kalvaryal sütür bölgelerinden birinde kritik defekt ebatının altında bir kemik defekti yarattık. Ardından sütür hattının altına denk gelen dura materi koterizasyon ile hasarladık. Ve kemik rejenerasyonunu yeni oluşacak sütür formasyonu açısından inceledik. Yeni rejenera olacak defekt alanında sütür oluşmasının da oluşmamasının da kraniyosinositoz patogenezinin anlaşılmasında yardımcı olacağını düşündük.

Bu çalışmada deney grubu olarak (n:10) yenidoğan tavşan modelinde, sagittal sütür hattı üzerinde 10mm ebatlı bir kraniyal kemik defekt oluşturulduktan sonra sütür hattının altına gelen bölgedeki dura mater lineer olarak, düşük düzeydeki koter ile bütünlüğü bozulmadan tahrip edilmiş, ardından kemik rejenerasyonu ve yeni sütür oluşumu izlenmiştir. Kontrol grubunda (n:10) ise yenidoğan tavşanlarda yine sagittal sütür hattı üzerinde 10mm ebatlı kalvaryal kemik defekti oluşturulduktan sonra dura matere yönelik ek işlem yapılmadan kemik rejenerasyonu ve sütür hattının oluşumu takip edilmiştir. Takip süresi 8 hafta olup, 8. hafta sonunda 3 boyutlu bilgisayarlı tomografiler çekildi ve sonrasında denekler yüksek doz anestezik ile sakrifiye edilerek yeni oluşan kemikte sütür formasyonu gerçekleşip gerçekleşmediği histolojik olarak incelendi.

Deneyin gerçekleştirilmesinde kullanılan gereç ve yöntemler aşağıdaki alt bölümlerde detaylı olarak anlatılacaktır.

3.1 Denek Seçimi ve Kullanılan Gereçler

Daha önce elde edilen verilerle karşılaştırma yapmayı olanaklı kılan geniş veri tabanları bulunması, bu çalışmanın yapılabilmesi için uygun doku, boyut ve anatomiye sahip seçenek olması nedeni ile çalışmada tavşan modeli kullanılması planlanmıştır.

Dura materin yenidoğan döneminde kemik rejenerasyon potansiyelinin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda rejenerasyonu iyi biçimde değerlendirilebilmek için yeni doğan tavşanların kullanılması tercih edildi. Çalışmada kranial sütürleri kaynamamış, ağırlıkları ortalama 80 gr olan 7 günlük 20 adet New Zealand tavşan kullanıldı

Kullanılan gereçler;

1 cc'lik insülin enjektörü,

15 numara bistüri,

bir adet adson penset,

bir adet makas,

bir adet portegü,

bir adet periost elevatörü,

bir adet motor (125Watt, 15000RPM),

Bipolar koter (190/240V 175W) Elektromag® M100

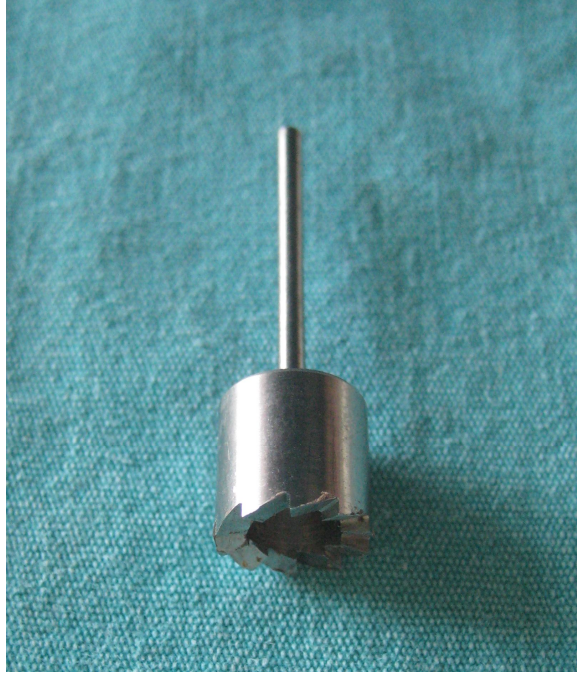
Silindirik drill (Şekil 7)

Diğerleri:

Ringer laktat solüsyonu,

Ketamin 50 mg/ml

Xylazine HCl 100 mg/mL



Şekil 7: Kemik defekti oluşturmak için tasarlanmış dış çapı 11mm, iç çapı 10mm olan silindirik drill

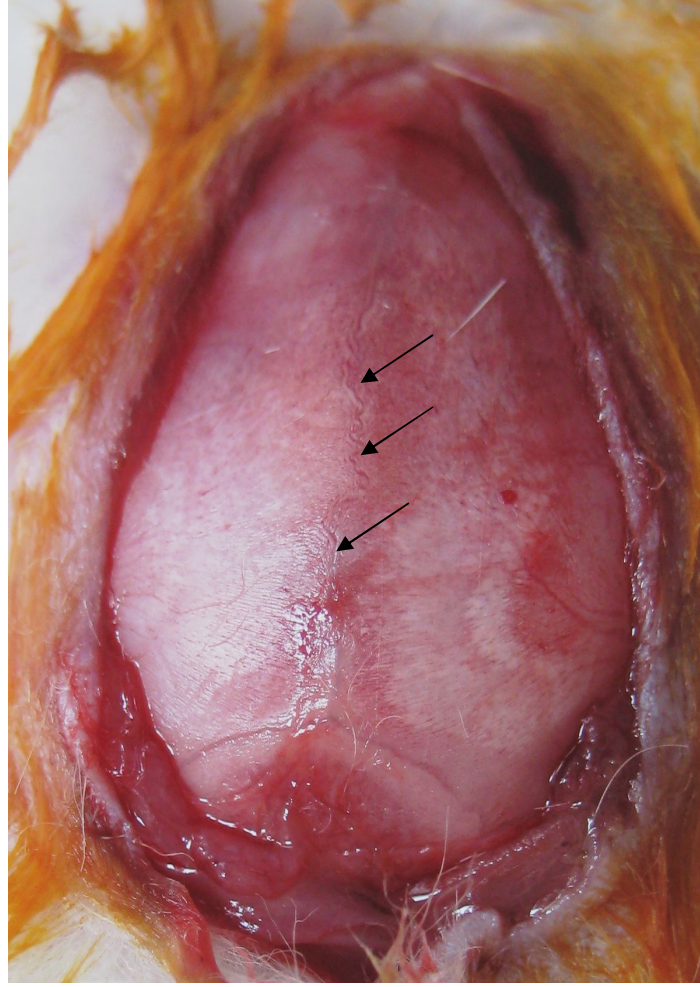
3.2 Bakım

Tavşanlar 12 saat sürüyle ışık gören, 12 saat süreyle karanlık olan tavşanlar için özel hazırlanmış ortamda; yiyeceklere ulaşımın kontrol altında tutulduğu ancak içeceğe istedikleri zaman ulaşabildikleri, her kafes içinde iki tavşan yer alacak biçimde barındırıldılar.

3.3 Ameliyat Tekniği

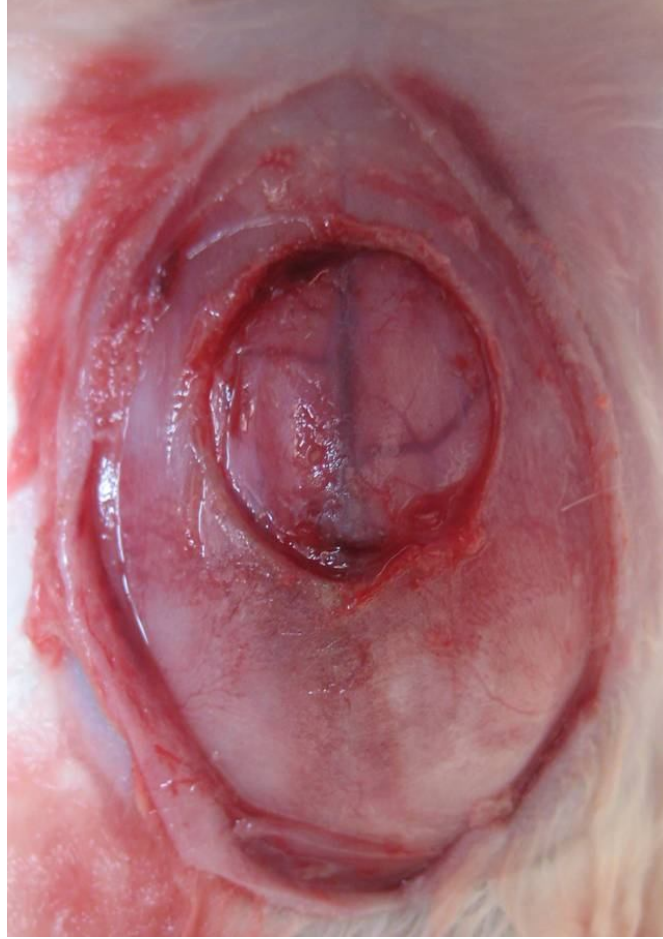
Cerrahi işlem için genel anestezi ketamin (100mg/kg) ve Xylazine (6mg/kg) ile sağlandı. Skalp traş edildi ve povidon-iodine solusyonu ile boyanarak hazırlandı.

Tüm deneklerde skalpte anteroposterior planda 3cm uzunluğunda insizyon yapıldı. Skalp ve perikranyum içerecek şekilde flepler laterale doğru eleve edilerek inerfrontal sütürler ortaya kondu. (Şekil 8)



Şekil 8: Skalpte anteroposterior planda 3cm uzunluğunda insizyon yapıldı. Ardından skalp ve perikranyumu içerecek şekilde flepler laterale doğru eleve edilerek inerfrontal suture ortaya kondu Şekilde ok ile işaretli alanda interfrontal suture görülmektedir.

İnter-frontal sütürü içecek Şekilde tüm deneklerden drill yardımı ile 11mm çaplı kraniyum segmenti altta yatan dura ve beyin dokularının korunmasına dikkat edilerek kaldırıldı. (Şekil 9) Ve bu segment tüm deneklerde uzaklaŐtırıldı.



Şekil 9: Şekilde 11mm ebatlı kranyum segmentinin interfrontal sütürü içecek Şekilde kaldırılmıŐ hali gözlenmektedir. Ayrıca altta yatan dura materin bütünlüğünün korunduğu izleniyor.

Deney grubunda yer alan tüm deneklerde kemik defekt oluşturma işlemi sonrasında interfrontal sütün dura mater üzerine denk gelen kısmı işaretlendi. Yaklaşık 11mm uzunluğunda ve 3cm eninde bir lineer çizgi şeklinde işaretlenen bölgenin, sağlam kalan kemik bölgelerinde interfrontal sütün hattı boyunca devam etmesine özen gösterildi. Ardından işaretlenmiş alan lineer şekilde dura materinin bütünlüğü bozulmadan kontrollü olarak bipolar koter ile 20W dozda 5 saniye süre ile tahrip edildi. İşlem sonucunda koterize edilen alanda dura materin canlı parlak görüntüsünün matlaştığı gözlemlendi. Bu şekilde sütün altına dura materin histolojik yapısı tahrip edilerek sütün oluşumu ve morfolojisi üzerindeki potansiyel etkisinin engellenmesi amaçlandı.

Kontrol grubuna dahil tüm deneklerde kemik defekt oluşturulduktan sonra ek herhangi bir işlem uygulanmadı. Denekler takip edilerek defekt tabanındaki sağlam dura materin kemik rejenerasyonu ve sütün oluşturma potansiyeli gözlemlendi.

3.4 Değerlendirmeler

3.4.1 Makroskopik değerlendirme

Cerrahi alanında klinik değerlendirme, defekt oluşturulmuş bölgede inflamasyon varlığı, kemik defektlerin kapanma miktarları ve kraniyal sütün oluşumu açısından incelenerek yapıldı.

3.4.2 Radyolojik değerlendirme

Takip süresi 8 hafta olup, 8. hafta sonunda 80A, 130mV olacak şekilde (pitch 1mm, kalınlık 0,5mm) aksiyel ve koronal kesit tomografiler çekildi. 500HU dozda olacak şekilde 3 boyutlu görüntüler bilgisayar ortamında yaratıldı. Elde edilen koronal kesitlerde tüm deneklerde defekt genişlikleri ölçüldü. Elde edilen 3 boyutlu görüntülerde ise tüm deneklerde defekt alanları ölçüldü ve sonrasında tüm deneklerde rejenerasyon oranları hesaplandı.

3.4.3 Histopatolojik değerlendirme

Takip süresi olan 8 haftanın sonunda denekler bilgisayarlı tomografi çekimlerinden sonra yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi. Skalp flepleri tekrar eleve edildi. Kemik defekti tam iyileşmeyen tavşanlarda, aradaki yumuşak dokuların bütünlüğünün de bozulmamasına özen göstererek en blok biçimde çıkartıldı. Spesimenler, % 0.4 paraformaldehidde 24 saat 4 derecede fikse edildikten sonra formik asit ile dekalsifiye edilerek parafine gömüldü. Sonra 5µm kalınlıkta ve interfrontal sütün hattına dik olacak şekilde kesitler alınarak hematoxilen-eozin ile boyandı. Kemik iyileşmesi ve kranial sütün oluşumları spesimenlerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen uzman bir patolog tarafından değerlendirildi. Uygun bulunan yerlerden fotomikrograflar alındı.

3.4.4 Verilerin istatistiksel değerlendirmesi

Operasyon sonrası 8. haftada çekilen koronal ve üç boyutlu BT sonuçlarından defekt genişlikleri ile defekt alanları ölçüldü. Sonrasında rejenere olan kemik miktarları ve iyileşme oranları hesaplandı ve tüm sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Tomografi çekimleri sonrasında yapılan histolojik çalışmalarda da yeni oluşan kemik alanlarda yeni sütün oluşumları araştırıldı ve sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

İstatistiksel analiz DÜTF Biyoistatistik AD tarafından yapıldı. Veriler normal dağılım gösterdiği durumlarda, iki grup ortalamasını karşılaştırmada Student-t testi; normal dağılım göstermediği durumlarda ise Mann-Whitney testi kullanıldı. Önemlilik düzeyi $p<0,001$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Kraniyum defekti oluşturulması esnasında 1 adet denekte sagittal sinüsta kanama gelişti ve denek eksitus nedeni ile çalışma dışında bırakılarak yerine yeni denek kullanıldı. Kranium defekti oluşturulması sonrası 3. haftada deney grubunda 5 tavşan, kontrol grubun da ise 3 tavşanda gastroenterit ile uyumlu bulgular gelişti ve denekler bu nedene bağlı olarak yaşamlarını kaybettiler ve çalışma dışı kaldılar. Başka bir deyişle çalışma 12 tavşan ile sonlandırılabilirdi.

4.1. Makroskopik Değerlendirme Sonuçları

Cerrahi sonrası sekizinci haftada operasyon alanı tekrar açıldığında öncelikle perikraniyum incelendi.

Deney grubunda hiçbir denekte inflamasyon bulgusuna rastlanmadı ve makroskopik olarak kalvaryal defekt alanlarında fibrozis gözlemlendi. Gelişen fibrozisin tüm deneklerde kemik defekt alanı ve yeni rejenere olan kemik alanlarını kaplamasına bağlı olarak kraniyal sütürler, özellikle rejenere olan kalvaryal bölgelerde, izlenemedi.

Kontrol grubunda, deney grubuna benzer şekilde makroskopik olarak kalvaryal defekt alanlarında fibrozis gözlemlendi. Kemik defekti olan alanların farklı düzeylerde olmakla beraber, fibrotik doku ile dolduğu gözlemlendi. Gelişen fibrozise bağlı hiçbir denekte makroskopik olarak sütür oluşumu değerlendirilemedi.

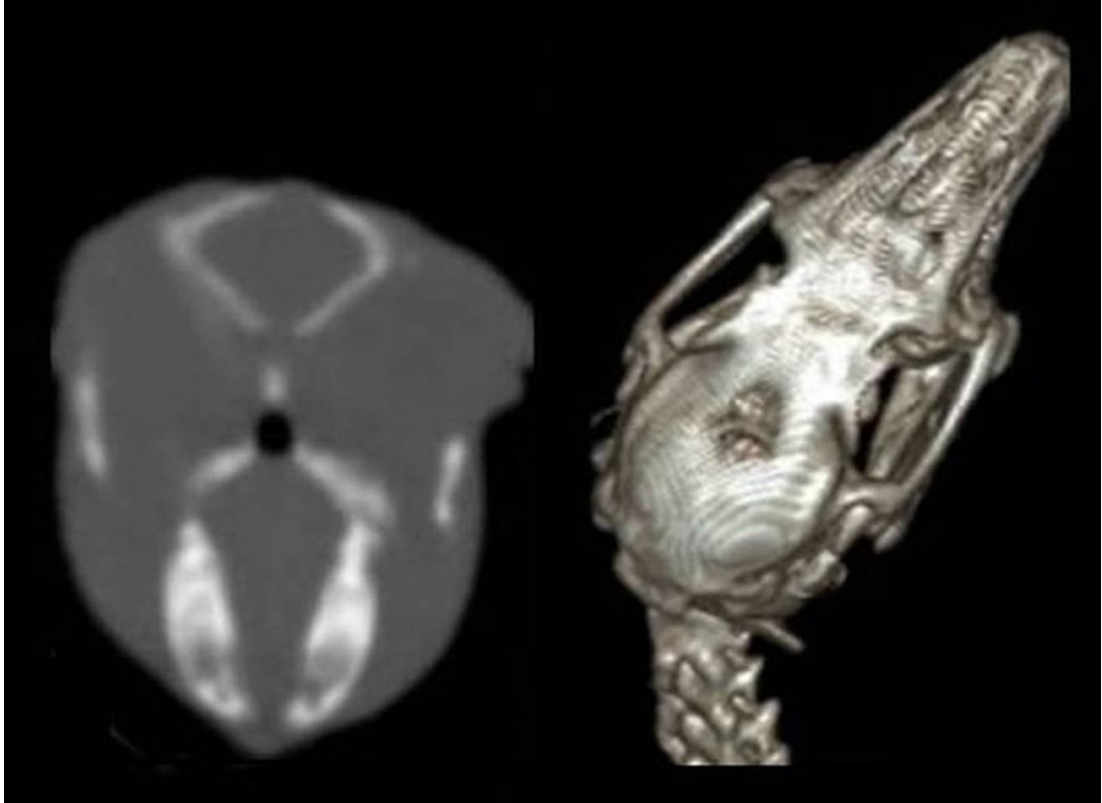
Operasyon sonrası 8. haftada şu makroskopik bulgular elde edildi:

Deney grubu ve kontrol grubundaki tavşanların hiçbirinde tam kemik rejenerasyonu gözlenmedi.

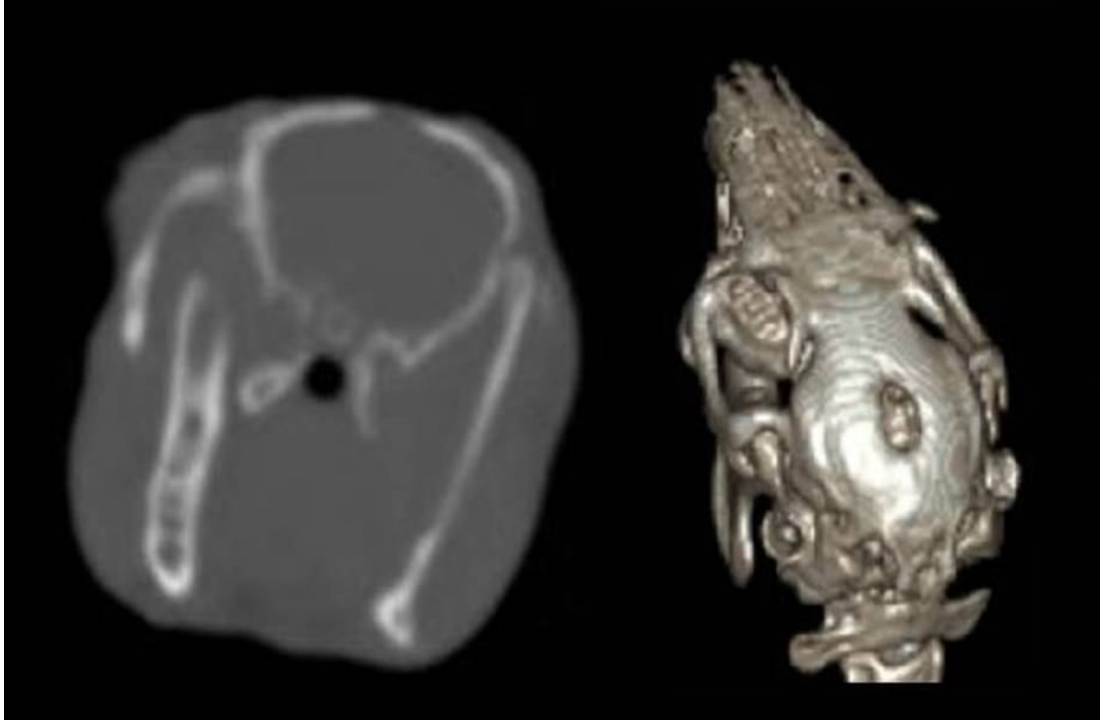
Gruplar arasında kemik rejenerasyon oranlarının karşılaştırması radyolojik olarak yapılacağı için makroskopik düzeyde karşılaştırma yapılmadı.

4.2. Radyolojik Değerlendirme Sonuçları

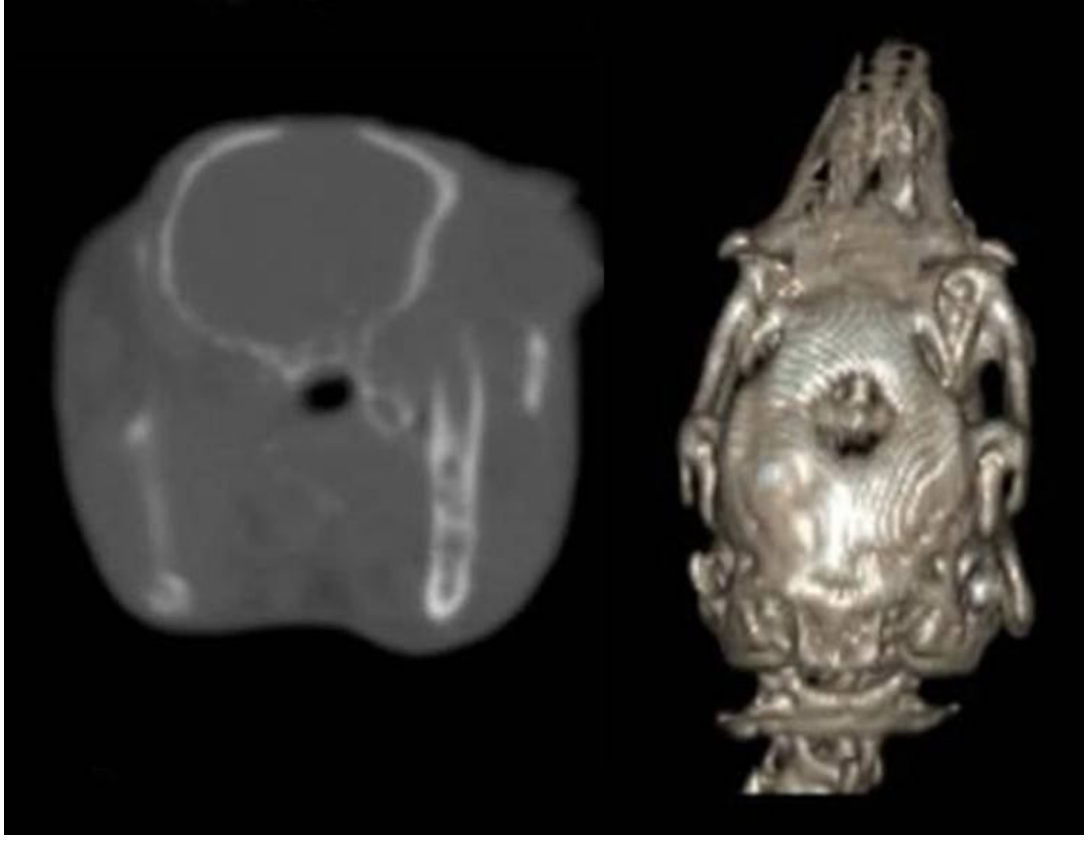
Tüm deneklerin operasyon sonrası 8. haftada koronal ve üç boyutlu bilgisayarlı tomografileri çekildi (Şekil 10-21).



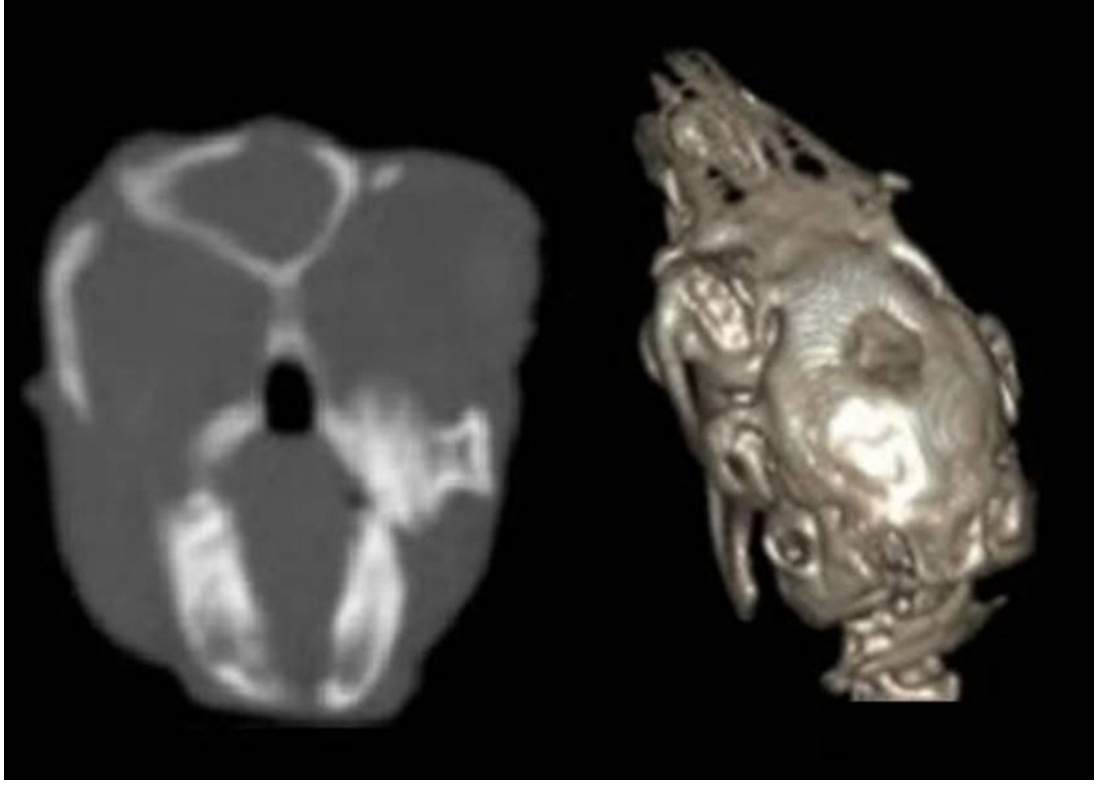
Şekil 10 Şekilde grup 1'e dahil 1 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçölüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 4.53mm, defekt alanı 37.7mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 60.31 olarak hesaplanmıştır.



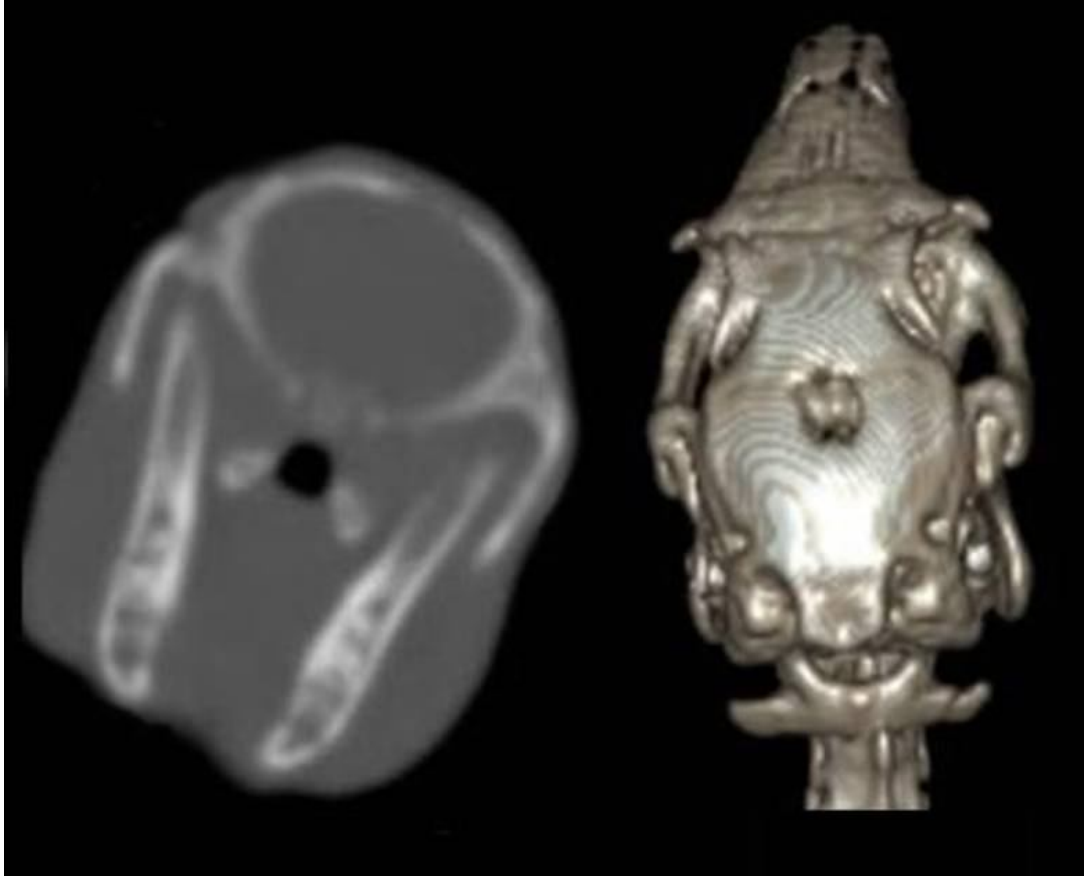
Şekil 11 Şekilde grup 1'e dahil 2 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 5.31mm, defekt alanı 23.95mm^2 ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 74.7 olarak hesaplanmıştır.



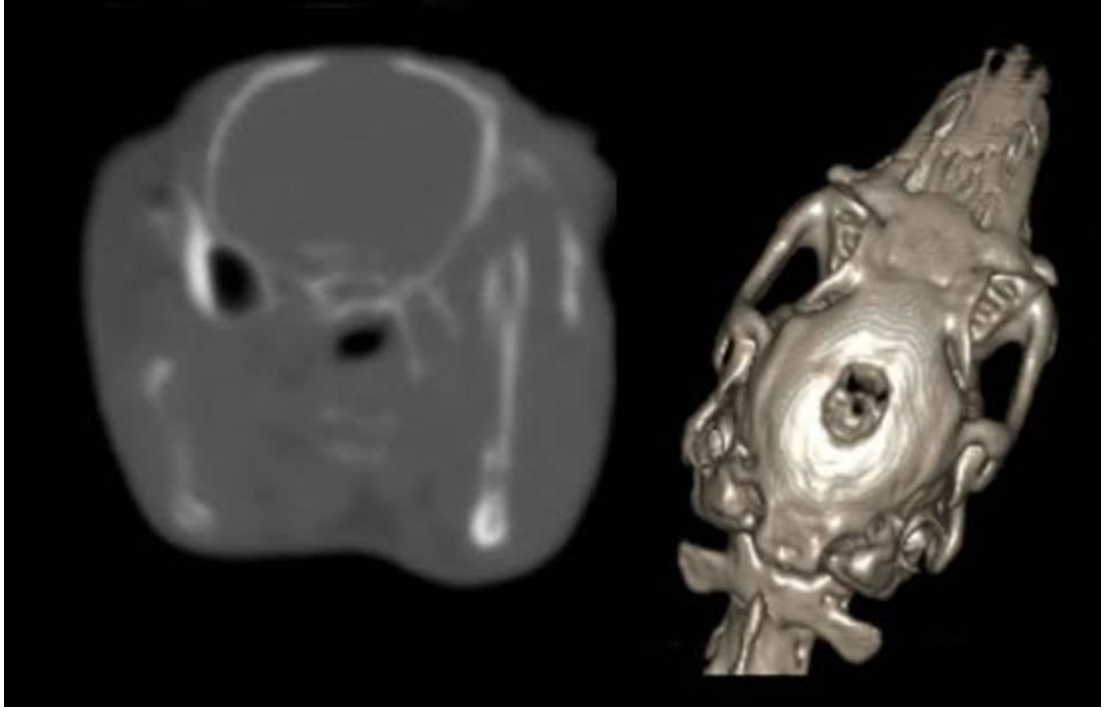
Şekil 12 Şekilde grup 1'e dahil 3 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 6.17mm, defekt alanı 29.3mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 69.15 olarak hesaplanmıştır.



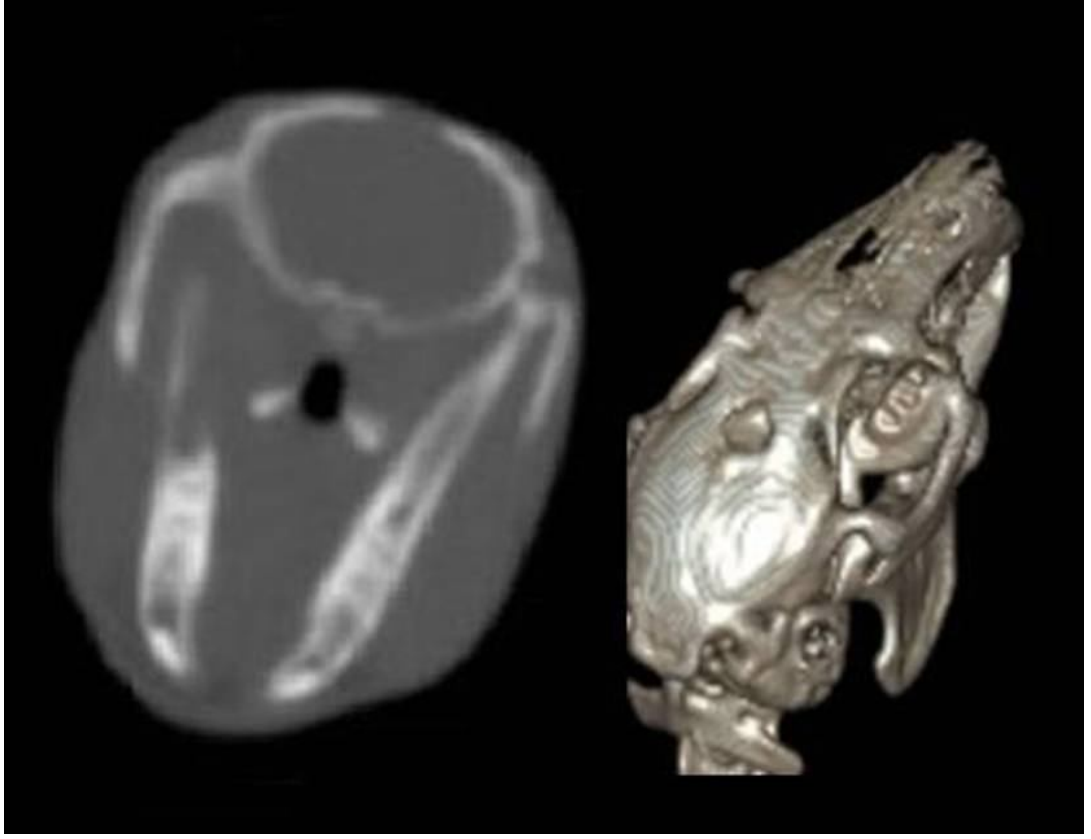
Şekil 13 Şekilde grup 1'e dahil 4 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 4.90mm, defekt alanı 40.15mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 57.73 olarak hesaplanmıştır.



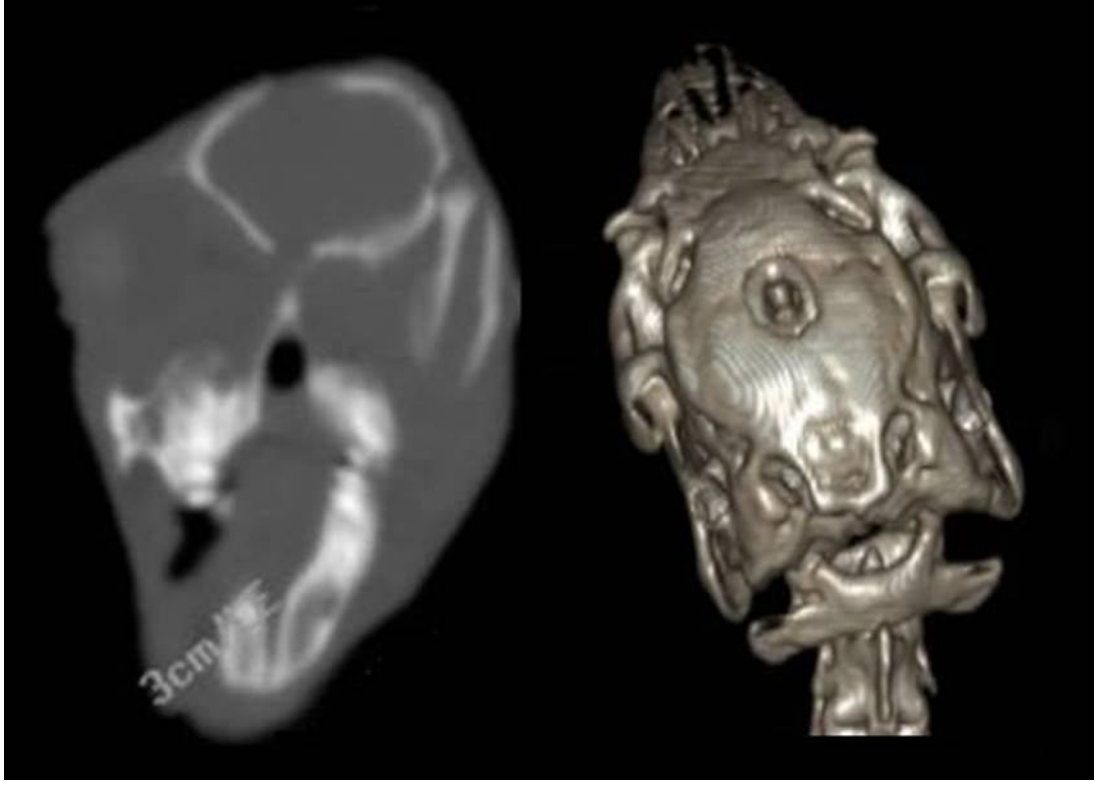
Şekil 14 Şekilde grup 1'e dahil 5 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 6.39mm, defekt alanı 29.15mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 69.31 olarak hesaplanmıştır.



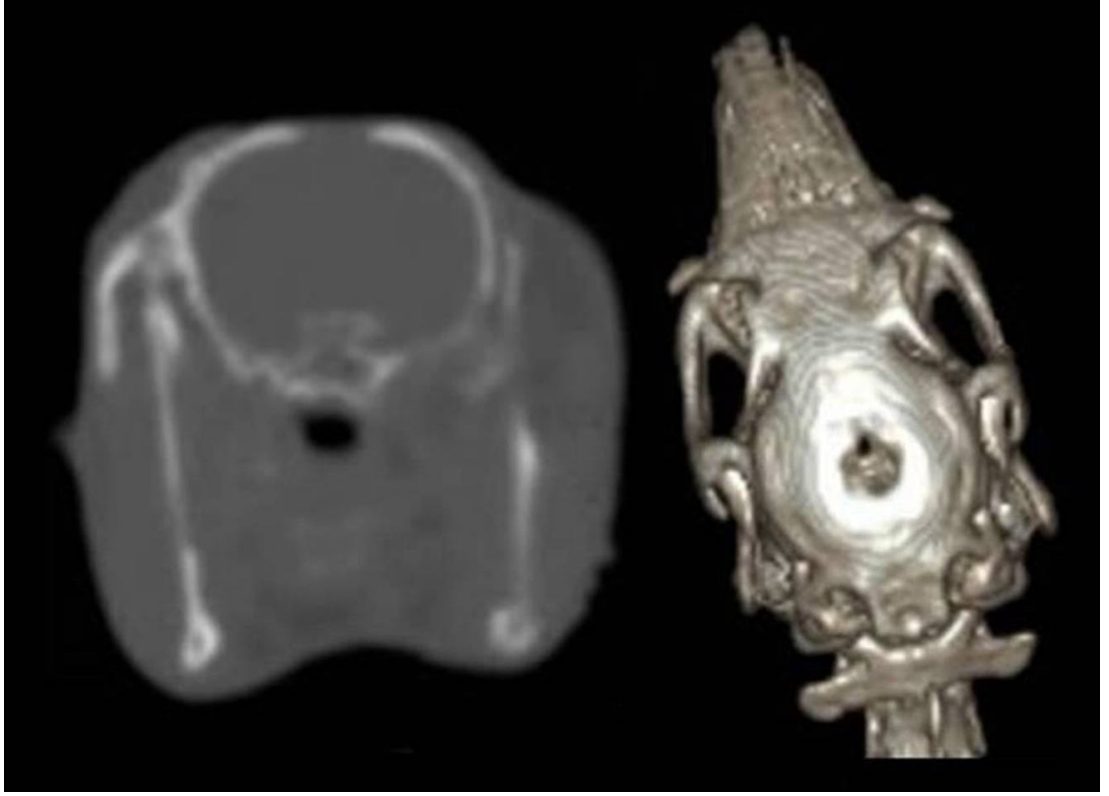
Şekil 15 Şekilde grup 2'ye dahil 1 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 4.54mm, defekt alanı 36.59mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 61.47 olarak hesaplanmıştır.



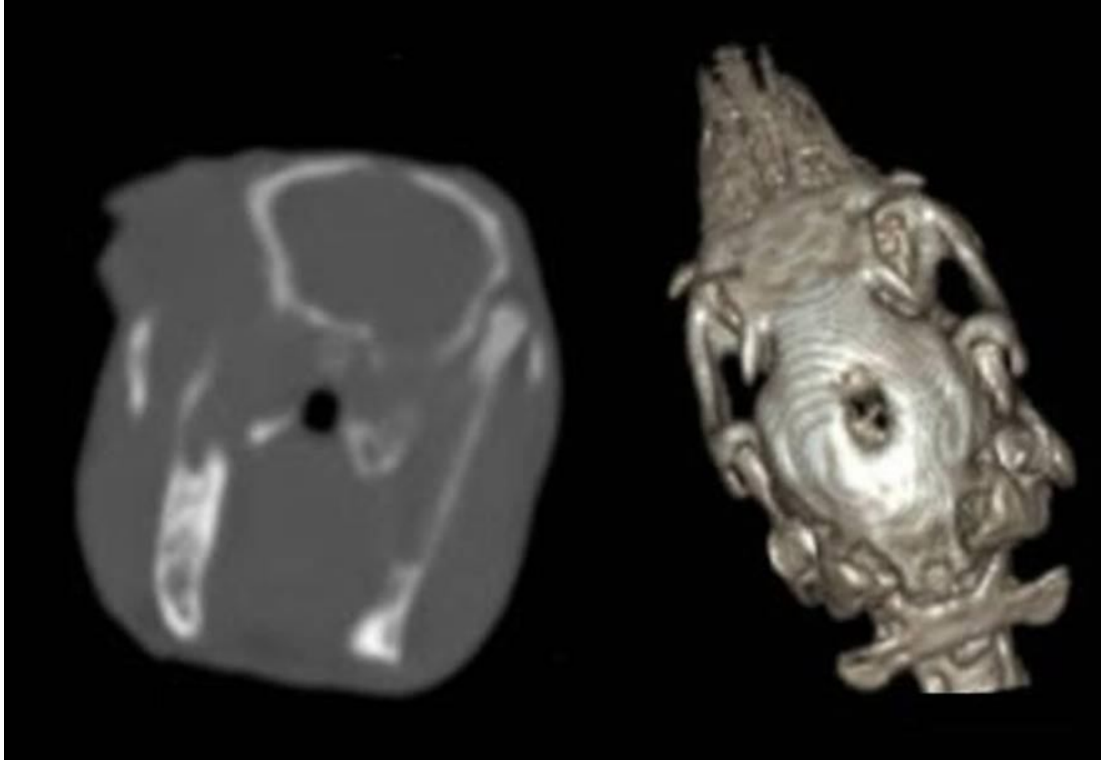
Şekil 16 Şekilde grup 2'ye dahil 2 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 4.61mm, defekt alanı 25.86mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 72.77 olarak hesaplanmıştır.



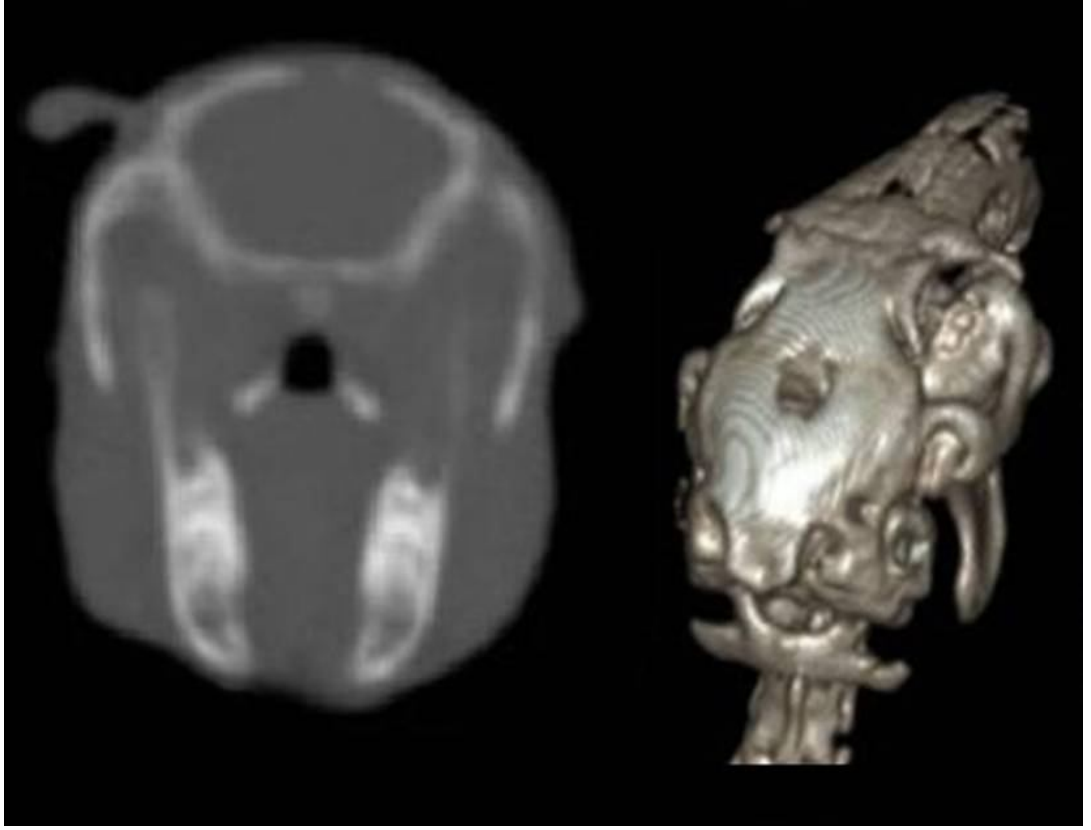
Şekil 17 Şekilde grup 2'ye dahil 3 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 5.17mm, defekt alanı 31.25mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 67.10 olarak hesaplanmıştır.



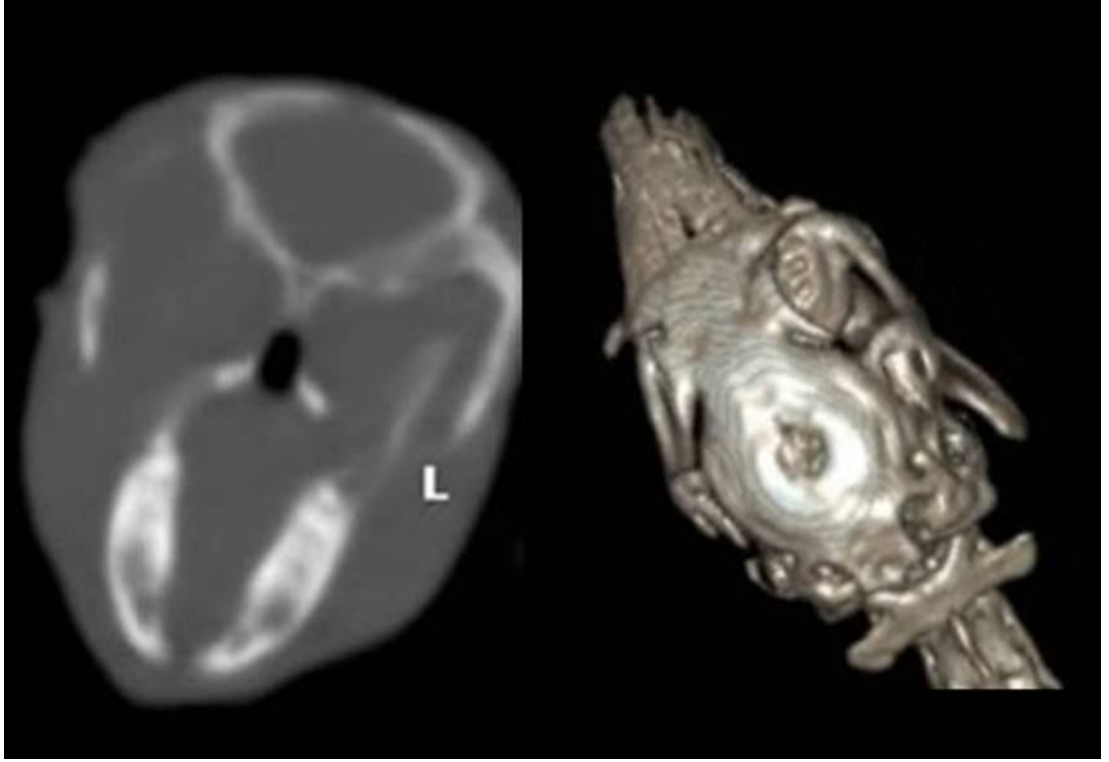
Şekil 18 Şekilde grup 2'ye dahil 4 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 5.52mm, defekt alanı 22.05mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 76.78 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 19 Şekilde grup 2'ye dahil 5 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 5.06mm, defekt alanı 26.90mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 71.68 olarak hesaplanmıştır.



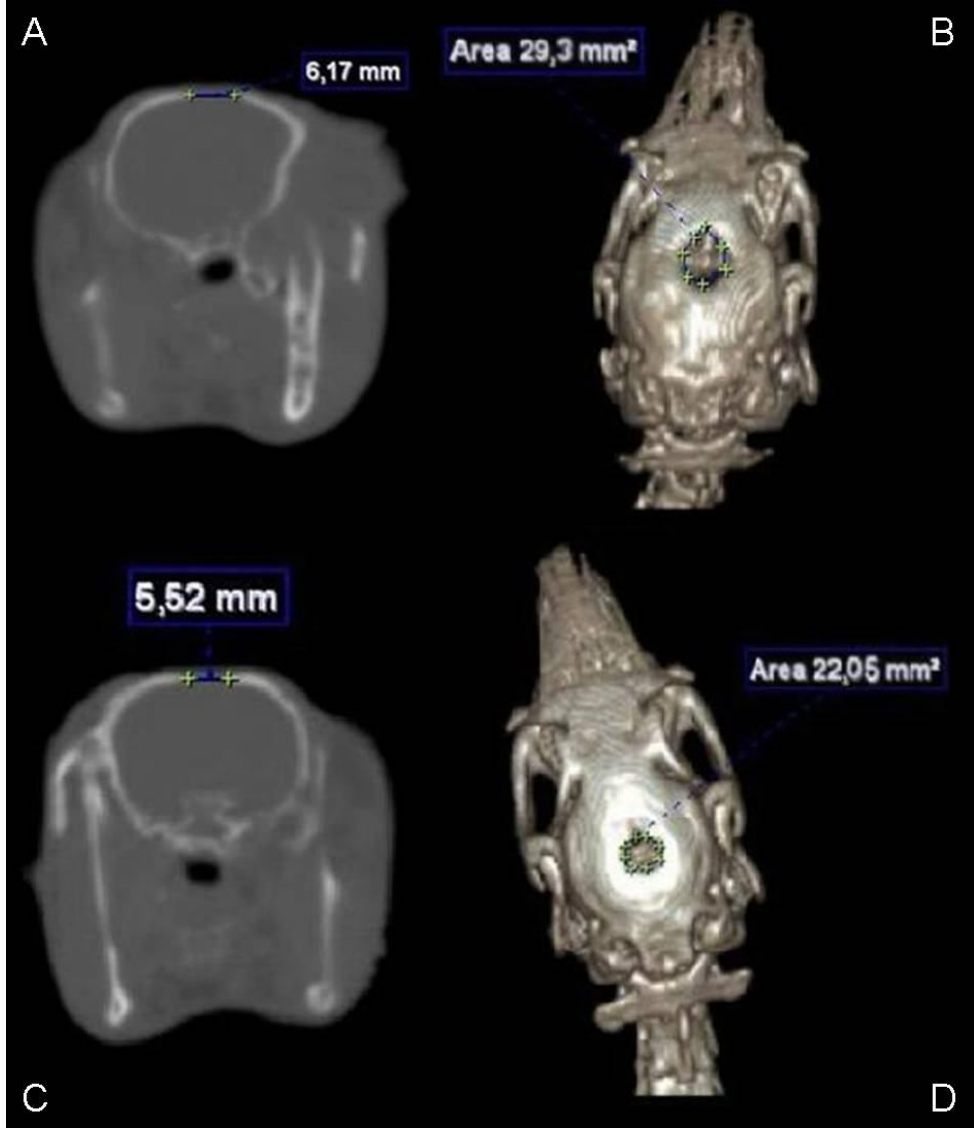
Şekil 20 Şekilde grup 2'ye dahil 6 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 5.14mm, defekt alanı 32.43mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 65.85 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 21 Şekilde grup 2'ye dahil 7 numaralı deneğin koronal kesit ve 3 boyutlu tomografileri gözlenmekte. Koronal kesitlerden defekt genişlikleri ölçülmüş, 3 boyutlu görüntülerden ise defekt alanları ölçülüp sonrasında rejenerasyon oranları hesaplanmıştır. Bu denekte defekt genişliği 5.66mm, defekt alanı 30.22mm² ölçülmüş, rejenerasyon oranı ise % 68.18 olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi görüntülerinde sağlam kemik alanlarda ve yeni rejenere olan kemik alanlarda kranial sütürler değerlendirilemedi. Rejenere olan alanlarda yeni sütür oluşup oluşmadığı histolojik kesitlerde değerlendirildi.

Tüm deneklerden elde edilen koronal kesitlerden defekt genişlikleri ollrken çekilen 3 boyutlu bilgisayarlı tomografilerinden de 8. hafta sonundaki defekt alanları olld. (şekil 22) (Tablo 1)



Şekil 22 Şekilde grup 1 (A,B) ve grup 2'ye (C,D) dahil birer denekte operasyon sonrası 8. haftada çekilen koronal kesit ve 3 boyutlu BT görüntüleri gösterilmiştir. A ve B'deki görüntüler aynı deneğe aittir. C ve D'deki görüntüler aynı deneğe aittir. Grup 1'e ait denekte defekt genişliğinin 6.17mm, defekt alanının ise 29.3 mm² olduğu, grup 2'ye ait denekte defekt genişliğinin 5.52mm, defekt alanının ise 22.05 mm² olduğu gözlenmektedir. 8. haftadaki kemik defekt alanları ölçümlerinde (B,D) grup 2'ye dahil denek ile karşılaştırıldığında, grup 1'e ait denekte daha az oranda kemik rejenerasyonu olduğu görülmektedir.

İlk oluşturulan standart defekt alanı ile 8. hafta sonunda ölçümleri yapılan defektler arasındaki fark hesaplanarak deneklerdeki kemik rejenerasyon oranları hesaplandı (Tablo 1). Elde edilen, gruplardaki kemik iyileşme oranları şu şekilde idi:

Her iki gruptaki tavşanların hiçbirinde tam kemik rejenerasyonu gözlenmedi.

1. grupta (deney grubu) ortalama kemik rejenerasyon oranı %66.2 (%57.73-74.7) olarak hesaplandı.

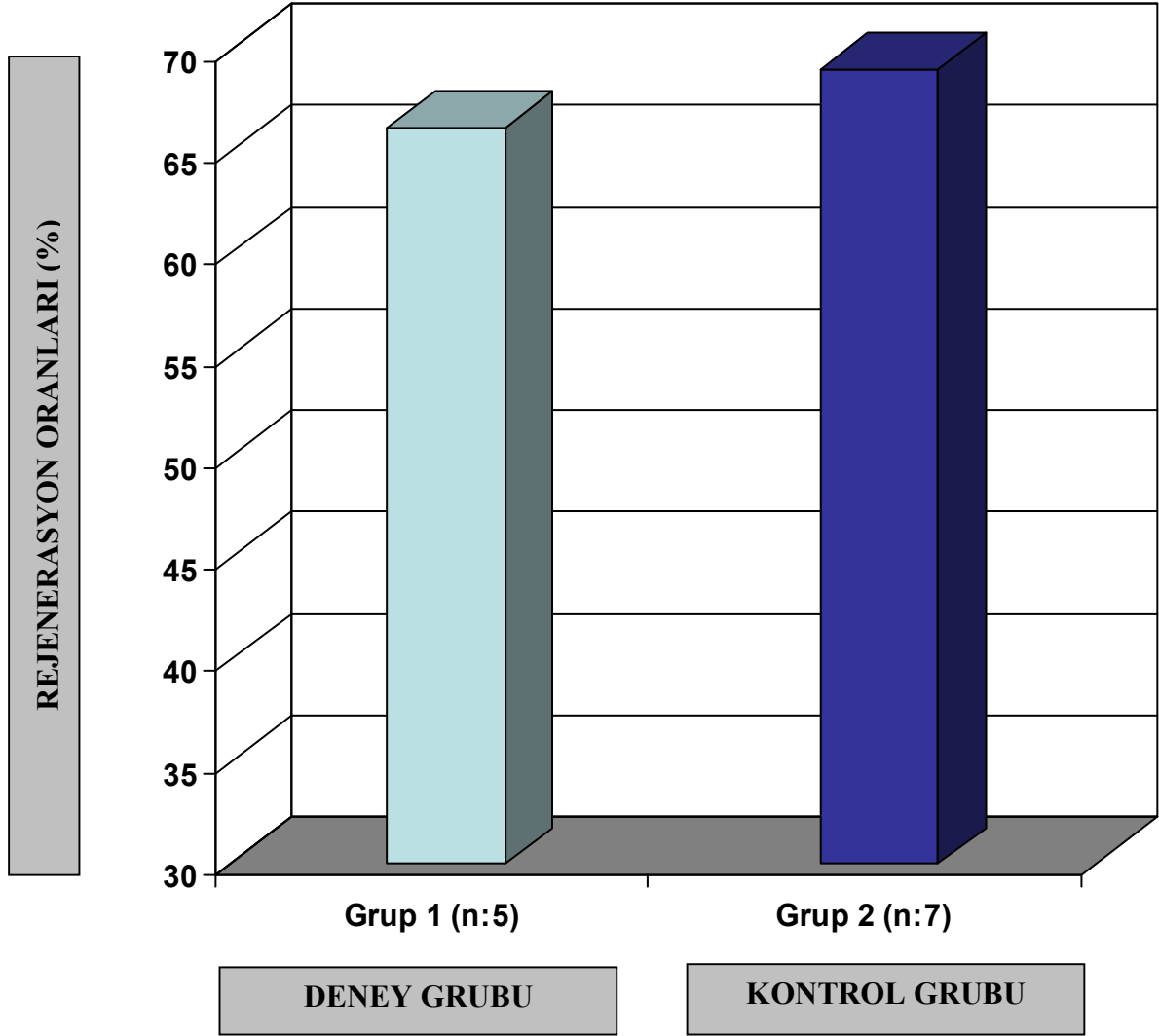
2. grupta (kontrol grubu) ise ortalama kemik rejenerasyon oranı %69.1 (%61.47-76.78) olarak hesaplandı. (Tablo 2)

Deneklerin yeni rejenerasyon alanı ve defekt alanı dışında kalan kranial suture hatları 3 boyutlu tomografi görüntülerinde ortaya konmadığı için radyolojik olarak kranial suture oluşumu üzerine istatistiksel çalışma yapılamadı. Kranial suture oluşumları ve gruplar arasında karşılaştırmaları histolojik değerlendirmeler ile sağlandı.

Tablo 1: Grup 1 ve grup2'ye dahil tüm deneklerde çekilen koronal ve 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi görüntüleri üzerinden ölçülen defekt genişlikleri, defekt alanları ve hesaplanan rejenerasyon oranları:

Grup	Denek	Defekt genişliği (mm)	Defekt alanı (mm²)	Rejenerasyon oranı (%)
Grup 1	1	4.53	37.7	60.31
	2	5.31	23.95	74.7
	3	6.17	29.3	69.15
	4	4.90	40.15	57.73
	5	6.39	29.15	69.31
Grup 2	1	4.54	36.59	61.47
	2	4.61	25.86	72.77
	3	5.17	31.25	67.10
	4	5.52	22.05	76.78
	5	5.06	26.90	71.68
	6	5.14	32.43	65.85
	7	5.66	30.22	68.18

Tablo 2: 1. grupta (deney grubu) ortalama kemik rejenerasyon oranı %66.2 (min-maks: %57,73-74,7), 2. grupta ise ortalama kemik rejenerasyon oranı %69.1 (min-maks: %61.47-76.78) olarak hesaplandı.

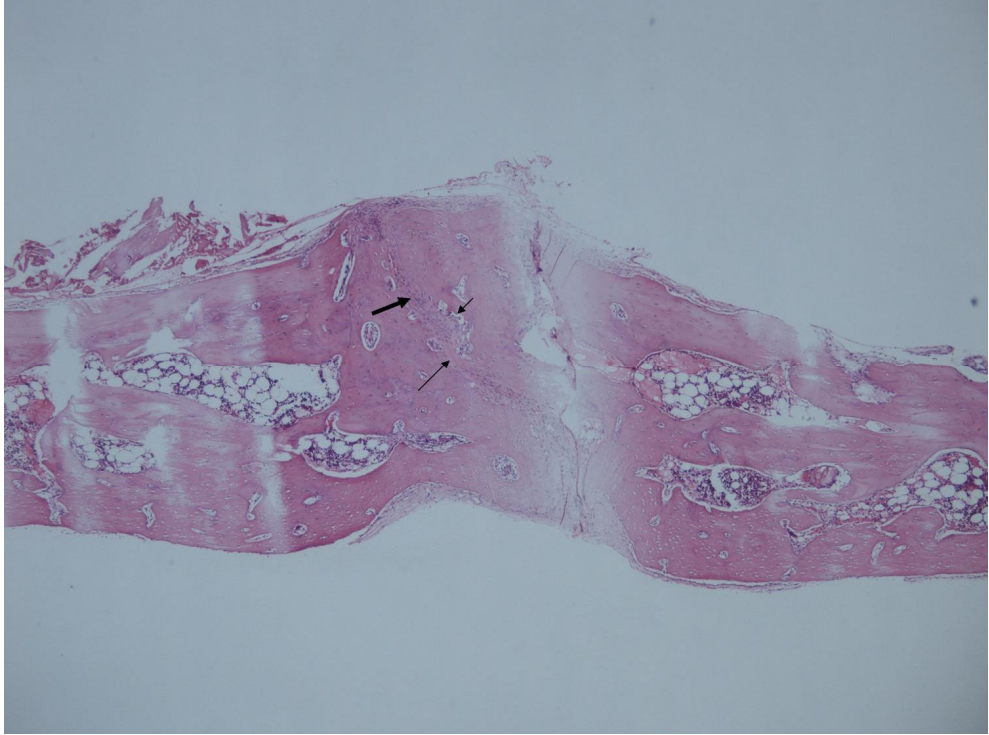


4.3. Histolojik Değerlendirme Sonuçları

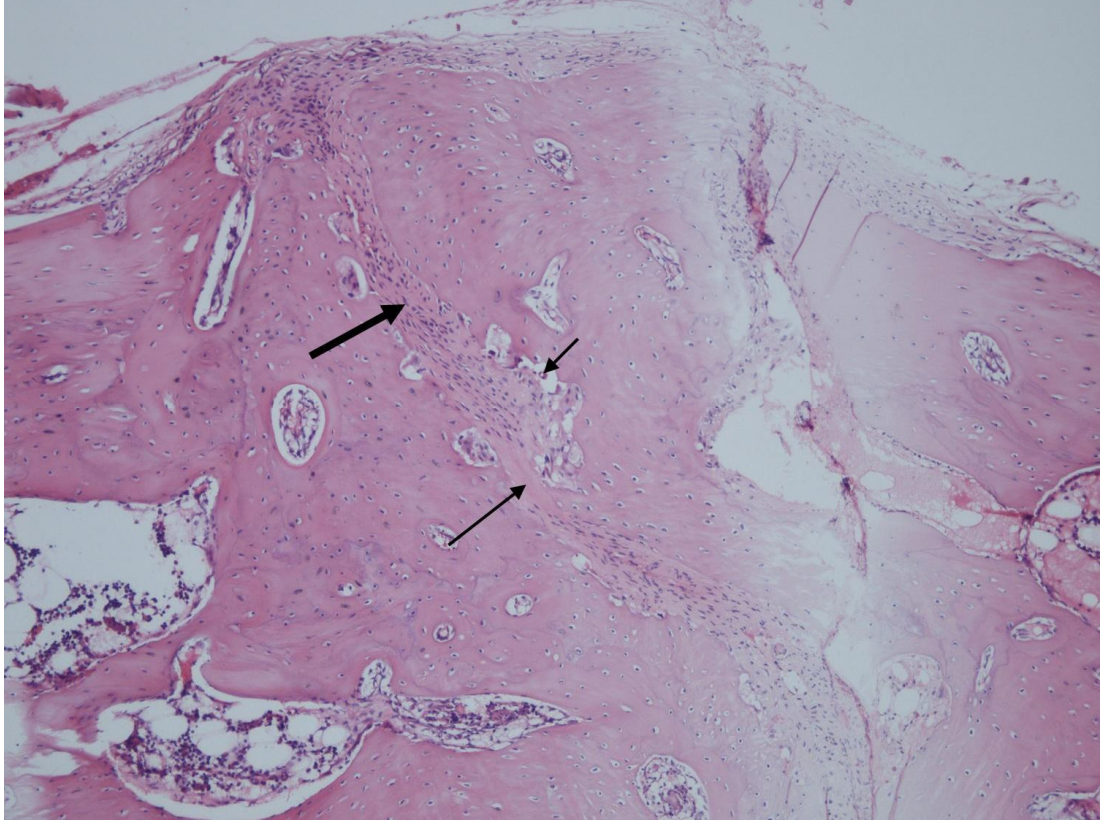
4.3.1 Grup 1 (Sütür hattına denk gelen dura matere koterizasyon

uygulanan grup) (n:5)

Bu gruptaki deneklerin 4 tanesinde (%80) yeni oluşan kemik alanlarında interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür hattının oluşmadığı (Tablo 3) ve kemik uçlar arasında kallus oluşumu ile beraber kemik formasyonu gözlemlendi. (Şekil 23,24) Bu gruba ait kalan 1 denekte ise interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür oluştuğu gözlemlendi. Bu sonucunu dura materde yetersiz koterizasyona bağlı olduğu düşünüldü.



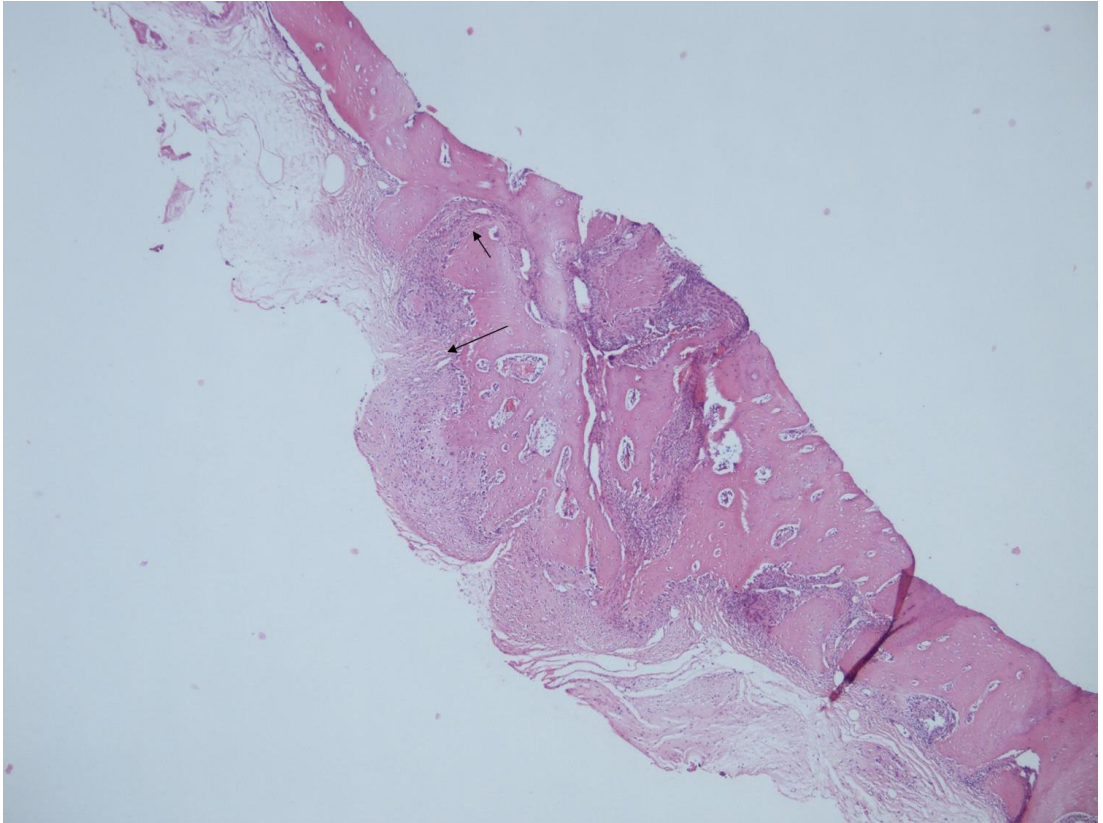
Şekil 23. Dura mater koterizasyonu uygulanan grupta interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda kemik uçlarda kaynama olduğu gözlenmekte (40x büyütme) Şekilde uzun ok ile gösterilen alanda ossifikasyon olduğu gözlenmekte. Kısa ok ile gösterilen alanda osteoblastlar gözlenmektedir. Kalın ok ile gösterilen alanda ise mezenşimal hücreler gösterilmiştir.



Şekil 24. Dura mater koterizasyonu uygulanan grupta kemik uçlar arasında kallus oluşumu ile beraber kemik formasyonu gözlemlendi. (100x büyütme) Şekilde uzun ok ile gösterilen alanda ossifikasyon olduğu gözlenmektedir. Kısa ok ile gösterilen alanda osteoblastlar gözlenmektedir. Kalın ok ile gösterilen alanda ise mezenşimal hücreler gösterilmiştir.

4.3.2 Grup 2 (dura matere koterizasyonu uygulanmayan grup) (n:7)

Bu grupta 1 deneğe ait biyopsilerin preparat hazırlanma aşamasında zarar görmesi nedeni ile değerlendirme yapılamamıştır. Histolojik incelemelerde bu gruptaki tüm deneklerde (n:6) yeni oluşan kemik alanlarında interfrontal suture oluşması beklenen lokalizasyonda suture formasyonu gözlemlendi (Şekil 25) (Tablo 3)



Şekil 25. Dura mater koterizasyonu uygulanmayan kontrol grubunda interfrontal suture oluşması beklenen lokalizasyonda suture formasyonu olduğu gözlenmektedir. (40x büyütme) Şekilde uzun ok ile gösterilen alanda kıkırdak oluşumu gözlenmektedir. Kısa ok ile işaretli alanda osteositler gözlenmektedir.

Tablo 3: 1. gruptaki (n:5) deneklerin 4 tanesinde (%80) yeni oluşan kemik alanlarında interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür hattının oluşmadığı ve kemik defektte kallus oluşumu ile beraber kemik formasyonu gözlenmiştir.

2. gruptaki (n:6) 6 denekte de (%100) yeni oluşan kemik alanlarında interfrontal sütür oluşması beklenen lokalizasyonda sütür formasyonu gözlendi

Gruplar	Denek Sayısı	Normal Sütür Formasyonu	Sütürün Kemikleşme ile Obliterasyonu
Grup 1 (Deney grubu)	1	+	-
	2	-	+
	3	-	+
	4	-	+
	5	-	+
Grup 2 (Kontrol grubu)	1	+	-
	2	+	-
	3	+	-
	4	+	-
	5	+	-
	6	+	-

4.4 Verilerin istatistiksel değerlendirmesi ve sonuçları

4.4.1 Kemik rejenerasyonlarının değerlendirilmesi

Operasyon sonrası 8. haftada çekilen u boyutlu BT sonuçlarından tüm deneklerde defekt alanları ölçüldü. Çekilen koronal BT kesitlerinde ise tüm deneklerde kemik defektlerin en geniş noktasında defekt genişlikleri ölçüldü. Deneklerin defekt alan miktarları kullanılarak tüm deneklerde kemik defektteki rejenerasyon oranları hesaplandı. Veriler tüm denekler için ayrı ayrı ölçülüp hesaplandıktan sonra sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

Dura koterizasyonu uygulanan deney grubunda kemik defekt genişliklerinin ortalaması 5.46mm iken, dura koterizasyonu uygulanmayan kontrol grubunda kemik defekt genişliklerinin ortalaması 5.10mm olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlendi (p: 0.538)

Dura koterizasyonu uygulanan deney grubunda kemik defekt alanlarının ortalaması 32.05mm² iken, dura koterizasyonu uygulanmayan kontrol grubunda kemik defekt alanlarının ortalaması 29.32mm² olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlendi (p: 0.638)

Deney ve kontrol grubundaki tüm deneklerde ölçülen 8. haftadaki kemik defekt miktarlarından rejenerasyon oranları hesaplandı. Dura koterizasyonu uygulanan deney grubunda kemik rejenerasyon oranları ortalaması %66.22 iken, dura koterizasyonu uygulanmayan kontrol grubunda kemik rejenerasyon oranları ortalaması %69.11 olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlendi (p: 0.640)

Ancak gruplar içerisinde yapılan değerlendirmede bu değişkenlerin başlangıç değerlerine göre değişimlerine bakıldığında, defekt genişliğinin 8. haftada her iki grupta da anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (grup 1 için p değeri 0.002, grup 2 için p değeri 0.0001). Defekt alanı miktarları açısından incelendiğinde de 8. haftada her iki grupta da anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (tüm p değerleri < 0.0001)

Aynı şekilde rejenerasyon miktarlarının da 8. haftada her iki grupta da anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür (tüm p değerleri < 0.0001)

Tablo 4. 8. haftada ölçülmüş defekt genişliği, defekt alanı ve rejenerasyon oranı değişkenleri için 1. ve 2. gruplara ait deneklerde ayrı ayrı hesaplanarak karşılaştırılmış olup aşağıdaki tabloda, ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. İstatistiksel olarak grup 1 ve 2 arasında yapılan karşılaştırmada bu üç değişken bakımından anlamlı düzeyde fark bulunmamıştır (p değerleri sırasıyla 0.538, 0.638, 0.640).

	Grup 1 Ort ± SD	Grup 2 Ort ± SD	P değeri
Defekt Genişliği (mm)	5.46 ± 0.93	5.10 ± 0.56	0.538
Defekt Alanı (mm²)	32.05 ± 8.10	29.32 ± 7.27	0.638
Rejenerasyon Oranı (%)	66.22 ± 8.48	69.11 ± 7,65	0.640

4.4.2 Sütür formasyonlarının değerlendirilmesi

Gruplar arasında defekt alanında kraniyal sütür oluşumu incelendiğinde dura koterizasyonu uygulanan deney grubunda sadece 1 denekte sütür oluşumu gözlenirken diğer deneklerde (n:4) sütür oluşmadığı, interfrontal sütür gelişmesi beklenen alanlarda kemik kaynaması olduğu gözlemlendi. Dura koterizasyonu uygulanmayan kontrol grubunda (n:6) ise tüm deneklerde interfrontal sütürün tekrardan oluştuğu gözlemlendi. Hiçbir denekte sütür hattı oluşması beklenen alanda kemikleşme ile obliterasyon gözlenmedi. Grup 1 ve grup 2 arasında sütür oluşumları karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.0001$) (Tablo 5)

Tablo 5. Aşağıdaki tabloda gruplarda kaynama ve sütür formasyonu açısından dağılım görülmektedir. Kaynama ve sütür formasyonu sıklıkları açısından 1. ve 2. grup arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu görülmüştür ($p<0.0001$).

		Grup 1		Grup 2		P değeri
		Denek Sayısı	%	Denek Sayısı	%	
Sütür oluşmaması	+	4	80	0	0	$p<0.0001$
	-	1	20	6	100	
Sütür oluşması	+	1	20	6	100	$p<0.0001$
	-	4	80	0	0	

5. TARTIŞMA

Yüksek primatların evriminde, beyin dokusunun hem yapısal korunması hem de düzenli büyüme döneminin devamlılığı için kalvaryal ossifikasyonun anti-osteojenik güçler tarafından geciktirilmesi gerekmektedir. İç kraniyal kinezi, kraniyal kemiklerin birbirleri üzerine kayması işlemi insanlarda doğum sonrası progresif olarak kaybolmaktadır. İç kraniyal kinezinin geçici olarak korunması, postnatal beyin gelişiminin ve dolayısı ile *homo* ırkının devamlılığı için vazgeçilmezdir.

Kraniyum gelişimi ve büyümesi beyin, dura mater, sütür mezenkimi ve kalvaryal kemikler arasındaki etkileşimler ile sağlanır. Kraniyal sütür biyolojisinde değişikliğe yol açacak genetik veya çevresel faktörler bir veya daha fazla kraniyal sütürün erken kaynamasına, yani kraniyosinositoza neden olabilir.

Kraniyosinositozis her ne kadar 1/2000-2500 insidans ile en sık görülen kraniyofasiyal konjenital anomalilerden biri olsa da etiyopatogenezi hala tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Erken kraniyal sütür kaynamasına bağlı beyin büyümesinin kısıtlanması bir takım ciddi sonuçlara neden olur. Kraniyosinositozun nedeni, sonuçları ve tedavi stratejileri ile kraniyal sütür biyolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi için murin modeller sıklıkla kullanılmıştır.

Nörokranyumun prematür ossifikasyonunun nasıl engelleneceği hala bilinmemektedir. Ancak, hücre biyolojisi, moleküler genetik, matriks biyokimyası, embriyoloji ve paleontoloji üzerine son 30 yıl içerisinde yapılmış bazı ilginç gözlemler ve deneyler mevcuttur. Tüm bunlar bir araya getirildiğinde de sonuca bir adım daha yaklaşıldığı anlaşılmaktadır.

Sendromik kraniyosinositozu olan hastalar üzerinde 1980'lerde yapılmış otopsi çalışması sonucunda kondrogenezdeki bir defektin olası bir etiyoloji olduğu düşünülmüştür. Membranöz kranyum içerisindeki kondroid elemanlar (sütüral kırkıdaklar veya sekonder kırkıdaklar) tarif edilmiş ancak önemleri açıklanamamıştır.

(35)

Alberius ve Johnell (36), kalvaryal duranın ekstrasellüler matriksine ilk odaklanan kişilerdir. Yaptıkları çalışmada sütürler kaynadıktan sonra ortadan kaybolan 59kDa bir proteoglikan tarif etmişlerdir. Jacenko ve Tuan (37) 1986 yılında kalvaryal osteoprogenitör hücrelerin düşük kalsiyum çevresine verildiğinde bir hipertrofik kondrosit ürünü olan 59-kDa kollajen matriks ürettiklerini ortaya koymuşlardır.

Deneysel çalışmalar ve klinik tecrübeler ile elde edilen kanıtlar göstermektedir ki dura mater, üstte yatan sütür kompleksinin biyolojisi üzerinde etkilidir. Dura materin osteoinduktif etkisi gösterilmiştir. Ayrıca, kalvaryal kemik ve kemik greftlerinin mineralizasyonunun, posterofrontal sütür füzyonunun intakt dura mater ile temas halinde olmasına bağımlı süreçler olduğu, deneysel hayvan modellerinde gösterilmiştir.(38,39)

Klinikte, kraniyosinosis olan hastalarda, izole olarak kaynamış sütür hattının çıkarılması sonucunda bu alanda sıklıkla sütür hattında tekrar osifikasyon geliştiği gözlenmiştir.(39) Dura mater hücre biyolojisinin bölgesel farklılıklar gösterdiğini tarif eden, dura materin osteojenik kapasitesi ve kraniyosinosis ile sonuçlanan kraniyal sütürlerde erken kaynama sürecindeki rolünün anlaşılabilmesi için yapılmış çok sayıda in vitro çalışma bulunmaktadır.(3,4,5)

Mabbutt ve arkadaşlarının (40) yaptığı çalışmada 10-14 günlük tavşanlarda subtotal kalvaryektomi uygulanmıştır. Deneklerin büyümesi sağlanmış ve sonrasında seri olarak sakrifiye edilerek iskelet ve sütürün yeniden gelişimi radyografik ve histolojik olarak analiz edildiği bildirilmiştir. Rejenerasyon sürecinde hem cerrahi sınırdaki hem de defekt içerisinde ada şeklinde kemik depozisyonları gözlenmiştir. Yeni oluşan kemikler arasında oluşan fibröz artikülasyonların büyük bir kısmının kemikleşerek kaybolduğu, sadece midsagittal, koronal ve metopik sütür bölgelerinde kemikleşmenin olmadığı ve sütürlerin normal anatomik pozisyonunda yeniden oluştuğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda cerrahi işlem esnasında dural bütünlüğün korunması ve cerrahi sonrası perikraniyal devamlılığın korunması normal sütüral ve kemik yapının yeniden oluşumunda önemli olduğu düşünülmüştür.

Bu çalışmada dural bütünlük ile perikraniyal bütünlüğün korunması kemik yapının yeniden oluşmasında önemli bir faktör olarak düşünülmüştür. Bizim yapmış olduğumuz deneysel çalışmada ise perikraniyal devamlılık tüm deneklerde bozulmuş, kemik ve sütür formasyonu üzerindeki olası etkisi ortadan kaldırılmıştır. Buna rağmen tüm deneklerde yeni kemik oluşumu gösterilmiştir. Bir diğer değişken olan dura materin korunduğu grupta ise ek olarak normal sütür oluşumu olduğu gözlenmiştir.

Mossaz ve Kokich'in (19) yaptığı çalışmada 6 haftalık 24 yeni Zelanda tavşanında sirküler kalvaryektomi yapılmıştır. Deneklerin 12 tanesinde dura bütünlüğü bozulmuş, kalan denekler kontrol grubunu oluşturmuştur. Denekler dural değişikliklerin kemik rejenerasyonu üzerindeki etkilerin gözlemlemek için belirli aralıklarla kurban edilmiştir. Çalışmanın sonucunda göre duranın varlığı ve özelliklerinin kalvaryal kemik depozisyonu üzerine direkt olarak etkili olduğu gözlenmiştir.

Hobar ve arkadaşlarının (20) yaptığı çalışmada infant guinea pig deneklerde bilateral pariyetal kraniyal kemik defektleri oluşturulmuş ve denekler 3 gruba ayrılmıştır. 1. grupta (n:6) defekt periost rezektü edildikten sonra bir tarafa otogreft olarak yerleştirilmiş (kontrol grubu), diğer tarafa ise yetişkin deneklerden alınan periost izogrefti yerleştirilmiştir (deney grubu). 2. grupta (n:5) defektlere değişken olarak dura yerleştirmiştir. 3. grupta (n:5) ise dura ve periost kombine olarak yerleştirilmiştir. 8 hafta sonunda infant durasının mevcut olduğu tüm deneklerde tam veya neredeyse tamamı kemik rejenerasyonu olduğu gözlenirken duranın mevcut olmadığı deneklerde minimal kemik rejenerasyonu olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda periostun, duranın aksine, kemik rejenerasyon kapasitesi üzerindeki etkisinin az olduğu düşünülmüştür.

Her ne kadar bizim yapmış olduğumuz çalışmada ana amaç sütünal dura materin kraniyal sütür oluşumu üzerine etkisinin araştırılması olsa da eş zamanlı deneklerde kemik rejenerasyonları da takip edilmiştir. Sonuçta her iki grupta da yeni kemik formasyonu olduğu gözlenmiş ve gruplar arasında kemik rejenerasyon

miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Dura matere müdahale ettiğimiz deney grubu ile dura matere herhangi bir müdahalenin olmadığı kontrol grubu arasında kemik rejenerasyonu açısından anlamlı fark olmayışı; deney grubundaki dura matere yapılan müdahalenin kısıtlı bir alanı kapsamaması ile ilişkilendirilmiştir. Deney grubunda sağlam kalan dura mater alanlarının kontrol grubuna yakın biçimde osteogeneze katkı sağlamış olduğunu düşünüyoruz.

Opperman ve arkadaşlarının (2) yaptığı çalışmada deneysel sıçan modelinde kraniyal sütür morfogenezi ve büyüme sürecinde sütürlerin açık kalmasında dura materin rolü araştırılmıştır. Fetal 19 günlük (F19) ve neonatal 1 günlük (N1) deneklerde frontal ve pariyetal kemik segmentleri, koronal sütürleri içerecek şekilde alınmıştır. Alınan segmentler dura mater içeren veya dura mater içermeyen olarak 2 farklı şekilde alınmıştır. Alınan kemik segmentler erişkin deneklerde pariyetal kemiklerin ortasında açılan kemik defektlere transplante edilmiştir. İşlem sonrasında 1., 2. ve 3. haftalarda transplante edilen dokular histolojik ve histomorfometrik olarak incelenmiş ve sütür oluşup oluşmadığı, dura mater yokluğunda sütürlerin ossifikasyon ile oblitere olup olmadığı araştırılmıştır. İlk iki haftada hem F19 hem de N1 sütürlerin, transplant dura mater içerse de içermese de patent olduğu gözlenmiştir. Ancak 3. haftada, dura mater içermeyen transplantede sütürlerin kemik ile oblitere olduğu gözlenirken, dura mater içeren transplantede sütürlerin ossifikasyona direndiği gözlenmiştir. Hem F19 hem de N1 transplantede dura mater varlığından bağımsız olarak kemik büyümesi gözlenmiştir.

Bu deneyler sonucunda sütürlerin ossifiye olmayan büyüme merkezleri olarak kalmasında biyokimyasal doku etkileşimlerinin, kafa tabanı kaynaklı biyomekanik kuvvetlerden daha önemli olduğu düşünülmüştür. Ek olarak dura materin varlığının sütür devamlılığında vazgeçilmez olduğu ancak fetal dura materin sütür oluşumunda etkisinin olmadığı düşünülmüştür.

Literatüre bakıldığında yapılmış olan çalışmaların büyük kısmı kraniyal sütürlerin kapanması sürecinde dura materin rolü üzerine olduğu gözlenmektedir. Ancak dura materin kraniyal sütürlerin oluşumu üzerindeki rolü üzerine çok çalışma

bulunmamaktadır. Opperman ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada dura materin sütür oluşumunda etkisinin olmadığı düşünülmüştür ancak bizim yapmış olduğumuz çalışmada kraniyal sütür morfogenezinde dura materin rolü incelenmiş ve sonuçlar dura materin, kraniyal sütür morfogenezinde etkili olduğunu göstermiştir.

Roth ve arkadaşlarının (38) 8 günlük ratlarda yaptığı çalışmada sütür kaynamasında dura materin rolü araştırılmıştır. Kontrol grubu ameliyat yapılmayan grup, deney grubu posterior frontal sütürü ile dura mater arasına silikon tabaka yerleştirilen grup, 1. sham grubu kemiğin dura mater ile ilişkisi kesilecek şekilde kaldırılıp aynı şekilde yerine yerleştirdiği grup ve 2. sham grubu ise sadece kraniyotomi yapılan grup olacak şekilde yapılmıştır. Denekler 15, 22 ve 30. günlerde sakrifiye edilerek posterior frontal sütürler histolojik olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda kontrol grubu ile 2. sham grubunda 22. günde tam sütür füzyonu gerçekleştiği gözlenmiştir. Deney grubunda 22. günde sütürün patent olduğu, kaynamanın başlamasının 30. güne uzadığı gözlenmiştir. 1. sham grubunda ise kaynamanın 22. günde başladığı ve 30. günde tamamlandığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda ise Opperman ve arkadaşları tarafından yapılmış olan çalışmanın sonuçlarına zıt olarak, sütür hattının altta yatan sütünal dura mater ile ilişkisi kesildiğinde sütür kaynamasının geciktiği gözlenmiştir.

Levine ve arkadaşlarının (41) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada dura korunarak kalvaryumdan posterior frontal ve sagittal sütürü içerecek şekilde strip şeklinde kranyum eksize edilmiştir. Kontrol grubunda kemik aynı şekilde yerine yerleştirilmiş, deney grubunda ise kemik 180 derece döndürülerek posterior frontal sütür sagittal sütürler yer değiştirecek şekilde yerleştirilmiştir. Denekler 20,30,40 ve 50. günlerde sakrifiye edilerek sütür hatları histopatolojik olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonunda kontrol grubunda normal ama gecikmiş sütür kaynaması gözlenmiştir. Posterior frontal sütürün kaynadığı ancak sagittal sütürün kaynamasının 30-40 günler arası gerçekleştiği gözlenmiştir. Deney grubunda ise posterior frontal sütür ile ilişkili dura mater üzerine getirilen sagittal sütürün kaynamasının 20-40 günler arasında gerçekleştiği, sagittal sütür ile ilişkili dura mater üzerine getirilen posterior frontal sütün çalışma süresince kaynamadığı gösterilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, kraniyal sütürlerin kapanması veya açık kalması sürecinde kraniyal sütürler ile altında yatan dura mater ile ilişkisinin önemini ortaya koymuştur. Kraniyal sütürün kaynayıp kaynamamasında etkili olan faktörün altta yatan dura materden gelen sinyaller olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, bu çalışmanın sonucunda dura materin farklı yerleşimlerde kraniyal sütür üzerinde farklı etkileri olduğu gösterilmiştir.

Slater ve arkadaşlarının (42) ratlarda yaptığı çalışmada bölgesel dura materin posterofrontal ve koronal sütürlerin morfolojileri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Ratların kalvaryumlarından posterofrontal ve koronal sütürü içerecek şekilde yapılan kemik eksizyonları sonrasında kontrol grubunda kemik aynı şekilde yerleştirilmiş, 1. deney grubunda kemik 45 derece rotasyon ile ve 2. deney grubunda kemik 90 derece rotasyon ile yerleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarında kontrol grubunda normal sütür morfolojisi gözlenmiştir. 45 derece rotasyon yapılan grupta sütür hattı ile ilişkili olmayan dura mater üzerine denk gelen posterofrontal sütürde kaynamanın olduğu ancak ince morfolojide olduğu gözlenmiştir. Koronal sütürün ise patent olduğu gözlenmiştir. 90 derece rotasyon yapılan grupta koronal sütür ile ilişkili dura mater üzerine denk getirilen posterofrontal sütürde benzer şekilde kaynamanın olduğu ancak ince morfolojide olduğu gözlenmiştir. Posterofrontal sütür ilişkili dura mater üzerine getirilen koronal sütürün ise patent kaldığı ancak posterofrontal sütür benzeri değişiklikler olduğu gözlenmiştir.

Yine Slater ve arkadaşlarının (3) yaptığı bir çalışmada 8 günlük ratlarda posterofrontal sütür üzerinden 8mm kalvaryal disk eksizyonu yapılmıştır. Kontrol grubunda eksize edilen parça yerine aynı şekilde iade edilirken deney grubunda parça ektokranyal kısım dura ile temas edecek şekilde çevrilerek yerleştirilmiştir. Denekler 5,7,9,11 ve 28. günlerde sakrifiye edilerek posterofrontal sütürler histolojik olarak incelenmiştir. Parakrin etkileşimi incelemek amacı ile de immunohistokimyasal olarak TGF β izoformları araştırılmıştır. Sonuç olarak deney grubunda kontrol grubuna benzer şekilde dura matere komşu posterofrontal sütürde (cerrahi öncesi patent olan ektokraniyal bölge) kaynama olduğu gözlenmiştir. Dura materde ve dura

matere komşu sütür mezenkiminde spesifik TGF β izoformlarının ekspresyonu gözlenmiştir. Sonuç olarak altta yatan dura materin sütür kaynaması üzerinde önemli bir etkisi olduğu düşünülmüş ve spesifik TGF β izoformlarının ekspresyonu saptanması da dura materin parakrin etkisini desteklemiştir.

Literatüre bakıldığında kraniyosinotroz, dura mater ve kraniyal sütürlerin kaynaması süreci ile ilgili birçok çalışma olduğu görülmektedir. Ancak bu çalışmaları büyük çoğunluğu dura materin sütür hatlarının kaynaması sürecindeki rolünü araştırmaya yönelik çalışmalardır. Ancak kraniyosinotroz gelişimini anlamak ve ileri dönemde önlemek için önemli olan tek konu kraniyal sütürlerin kaynaması süreci değildir. Kraniyal sütürlerin oluşma mekanizması da bir o kadar önemlidir ve literatürde bu konu hakkında yapılmış çalışma sayısı çok azdır.

Yu ve ark (5) yaptıkları çalışmada şu soruları cevaplamaya çalışmışlardır:

1. Dura altta yatan beyin olmadan osteogenezi uyarabilir mi?
2. Dura kaynaklı heterotopik osteogenez için neler gerekir?
3. Sütür hatları altındaki dura ile kraniyal kemiklerin düz kısımlar altında bulunan dura arasında ne farklar vardır?

Neonatal Lewis ratlarda metopik, sagittal ve lambdoid sütürler altındaki dura materler ile frontal ve pariyetal kemiklerin düz kısımlar altındaki dura materler alınmış ve erişkin Lewis ratların posterior toraks bölgesine transplante edilmiştir. 1. grupta (n:20) metopik, sagittal ve lambdoidal sütürler altında bulunan dura ve frontal ve pariyetal kemiklerin düz kısımları altında yer alan dura farklı epitelyomezenkimal ceplere yerleştirilmiştir. 2. grupta (n:10) ise alınan dura greftleri pannikulus karnosus ile latissimus drosi kasları arasında oluşturulan mezenkimal ceplere yerleştirilmiştir. Denekler 2 hafta aralarla sakrifiye edilmiş ve sonrasında ışık mikroskopi, histokimyasal analiz, immunohistokimya ve elektron mikroskopi ile inceleme yapılmıştır. Grup 1'e dahil olan 18 denekten 15 tanesinde kemik formasyonu gözlenmiştir (%83). Grup 2'de ise kemik veya kırkdak oluşumu gözlenmemiştir. Metopik, sagittal ve lambdoidal sütür altından alınan dura materin kullanıldığı 4

denekte kondrogenez olduğu gözlenmiştir. Duranın kıl foliküllerine yakın yerleştirildiği 4 denekte 2. hafta sonunda hiperproliferasyon gözlenmiştir. Bu hücrelerde yüksek çekirdek-sitoplazma oranı olduğu ve transforming growth faktör pozitifliği olduğu gösterilmiştir. 6. hafta sonunda hücresele aktif kırıkta gözlenmiştir. 1. grupta frontal ve pariyetal kemiklerin düz kısmı altında bulunan dura materin kullanıldığı deneklerde kondrogenez gözlenmemiştir. Elektron mikroskopide ise sutural duranın iç tabakasında proteoglikan benzeri yapı ve tip 2 kollajen birikimi gözlenirken sutural duranın dış tabakasında ve skuamoz durada yoğun tip 1 kollajen baskınlığı gözlenmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda heterotopik olarak yerleştirilen dura materin osteogenezi indükleyebildiği, bu dura mater tarafından sağlanan heterotopik osteoindüksiyonun epitelyomezenkimal etkileşime ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir. Ek olarak skuamoz dura varlığında sadece membranöz ossifikasyon gelişirken, sütünal dura varlığında osteogeneze ek olarak kondrogenez geliştiği gösterilmiştir.

Bizim yapmış olduğumuz çalışma da kranial sütünlerin, altta yatan sütünal dura materin kondrogenez etkisi ile oluştuğu hipotezi ile planlanmıştır. Çalışmamızda bir grupta sütünal dura mater koter ile tahrip edilmiş ve olası kondrogenez etkisi ortadan kaldırılmıştır. Çalışmanın sonucunda da sütünal dura materin tahrip edildiği grupta kranial sütün oluşumu gözlenmezken, sütünal dura materin intakt olarak bırakıldığı grupta tüm deneklerde yeniden kranial sütün oluştuğu gözlenmiştir.

Muhtemelen bu çalışmanın en önemli sonuçlarından biri neonatal dura materin heterojenitesinin ortaya konmasıdır. Periostal hücre kültürlerinden farklı olarak, neonatal dura mater uygun koşullarda osteoprogenitör hücrelerin yanı sıra kondroblastlara da köken olmaktadır. Bu çalışmayı kısıtlayan temel sorun metopik, sagittal ve lambdoidal sütünler altında yer alan dura mater ile frontal ve pariyetal kemiklerin düz kısımları altında yer alan dura materin kesin ayrımının yapılmamış olmasıdır. Çalışmada alınan kalvaryal striplerin kalınlığı kranial sütünlerin gerçek sınırlarından daha büyük olduğu için metopik, sagittal ve lambdoid sütün altında yer

alan duradan alınan greftler kaçınılmaz olarak bir miktar pariyetal ve frontal kemiklerin düz kısımları altında yer alan dura mater parçaları içermektedir.

Bizim çalışmamızda izole olarak neonatal dura materin kranial sütür oluşumu üzerindeki etkileri araştırılmış olup bu amaçla sütür altında yer alan dura mater ile kranial kemiklerin düz kısımları altında yer alan dura materin kesin ayrımı sütünal dura materin bütünlüğü bozulmayacak şekilde koterize edilmesi ile sağlanmıştır. Bu sayede sütünal ve skuamozal dura materin kranial sütür oluşumu ile ilgili rollerinin karşılaştırılması sağlanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada da Yu ve arkadaşları tarafından yapılmış olan çalışmaya benzer şekilde skuamoz dura varlığında sadece yeni kemik oluşumu gözlenirken, sütünal dura varlığında kemik oluşumuna ek olarak sütür formasyonu geliştiği de gösterilmiştir.

Çalışmamızda, literatürde bulunan dura materin osteogenez üzerindeki etkileri, kranial sütürlerin kaynaması sürecindeki etkileri ve dura materin bölgesel olarak farklı özellikler gösterdiğine yönelik yapılan çalışmalar temel alındı. Kondrogenez üzerinde etkili olan sütünal dura materin kranial sütür oluşturabileceği hipotezi ile planladığımız bu çalışmada yenidoğan 20 adet tavşanda interfrontal sütürü içerecek şekilde oluşturulan kranium defektinde 1. grupta sütür altında yer alan dura mater bipolar koter ile lineer olarak tahrip edildi, bu şekilde kranial sütür oluşumu üzerindeki olası etkisi ortadan kaldırıldı. 2. grupta ise kemik defekt oluşturulduktan sonra dura mater intakt bırakıldı. Denekler 8 haftalık takip sonunda sakrifiye edilerek kranium defektleri histopatolojik ve aksiyel, koronal ve 3B bilgisayarlı tomografiler ile radyolojik olarak değerlendirildi.

Deneklerde kraniumdaki defektlerin çapları ve alanları ölçüldü ve sonrasında rejenere olan alanlarda sütür oluşumu değerlendirildi. Dura mater koterizasyonu yapılan gruptaki deneklerin (n:5) 4 tanesinde (%80) kemiğin rejenere olduğu alanda sütür hattının ossifikasyona bağlı oblitere olduğu, duranın intakt olduğu grupta (n:6) ise tüm deneklerde sütür hattı oluşması beklenen alanda sütür formasyonu olduğu gözlemlendi. Yeni sütür oluşumları gruplar arasında karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi.

Ancak gruplar arasında kemik rejenerasyon miktarları karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi.

6. SONUÇ

Yapmış olduğumuz bu çalışmada da sutural dura materin etkisinin osteogenez ile sınırlı olmadığı gösterilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada sutur hattını içerecek şekilde oluşturulan kraniyum defekt hattında altta yatan sutural dura materin hasarlandığı grupta osteogenezin devam ettiği ancak sütür oluşumunun olmadığı gözlenmiştir. Aksine sütür hattını içeren kemik defekt alanında sutural dura materin korunduğu deneklerde ise osteogeneze ek olarak sütür oluşumu da gösterilmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda sütür hatları altında yer alan dura materin, sütür oluşumunda önemli bir rolü olduğu ortaya konmuştur.

Bu çalışmanın kraniyal sütürlerin oluşması süreci ile ilgili önemli bilgiler ortaya koyduğunu düşünmekteyiz. Yapılacak ileri çalışmalar ile kraniyosinositoz etiolojisinin net olarak ortaya konabileceğini ve olası tedavi seçeneklerinin gündeme gelebileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Shin JS, Persin JA. Nonsyndromic Craniosynostosis and Deformational Plagiocephaly. Ed:Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL, Grabb & Smith's Plastic Surgery. pp 226-236, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2007.
2. Opperman LA, Sweeney TM, Redmon J, Persing JA, Ogle RC. Tissue interactions with underlying dura mater inhibit osseous obliteration of developing cranial sutures. *Dev Dyn.* 1993 Dec;198(4):312-22.
3. Slater BJ, Kwan MD, Gupta DM, Lee JK, Longaker MT. The role of regional posterior frontal dura mater in the overlying suture morphology. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Feb;123(2):463-9.
4. Greenwald JA, Mehrara BJ, Spector JA, Warren SM, Crisera FE, Fagenholz PJ, Bouletreau PJ, Longaker MT. Regional differentiation of cranial suture-associated dura mater in vivo and in vitro: implications for suture fusion and patency. *J Bone Miner Res.* 2000 Dec;15(12):2413-30.
5. Yu, J. C., McClintock, J. S., Gannon, F., Gao, X. X., Mobasser, J., Sharawy, M. Regional Differences of dura osteoinduction: Squamous dura induces osteogenesis, sutural dura induces chondrogenesis and osteogenesis. *Plast. Reconstr. Surg.* 100: 23, 1997
6. Cohen MM Jr, MacLean RE: Craniosynostosis: Diagnosis, evaluation and management, ed Newyork , Oxford University press, 2000
7. Lajeunie E, Le Merrer M, Bonaïti-Pellie C, Marchac D, Renier D. Genetic study of nonsyndromic coronal craniosynostosis. *Am J Med Genet.* 1995 Feb 13;55(4):500-4.
8. Kierszenbaum AL, Kemik gelişimi-Osteogenez. Ed: Kierszenbaum AL, Histoloji ve Hücre Biyolojisi. pp.131-146, Palme yayıncılık, Ankara, Türkiye, 2006
9. Gartner LP, Hiatt JL. Cartilage and Bone. Ed: Gartner LP, Hiatt JL, Color textbook of Histology. pp.129-155, W.B Saunders Company, Philadelphia, USA, 2001.
10. Bancroft JD, Stevens A: Theory and Practice of Histological Techniques. pp. 309-339, Churchill Livingstone, Newyork, USA, 1996.

11. Khurana JS, Safadi FF. Bone Structure, Development and Bone Biology. Ed: Khurana JS, McCarthy EF, Zhang PJ, Bone Pathology. pp. 1-50, Humana Press, New York, USA, 2009
12. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Arthrology. Ed: Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's Anatomy. pp: 459-544, Churchill Livingstone, London, UK, 1989.
13. Bullough PG. Normal Skeletal Structure and Development, Ed: Bullough PG, Orthopedic Pathology. pp. 2-39, Mosby Elsevier, Missouri, USA, 2010.
14. Öcal E, Sun PP, Persing JA, Craniosynostosis. Ed: Albright AL, Pollack IF, Adelson PD. Principles and Practice of Pediatric Neurosurgery. pp. 263-296, Thieme Medical Publishers, New York, USA, 2008
15. Moore KL, Dalley AF. Cranium. Ed: Moore KL, Dalley AF. Kliniğe Yönelik Anatomi. pp: 847-50, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye, 2007.
16. Helms JA, Nacamuli RP, Salim A, Shi YY. Embryology of the Craniofacial Complex. Ed: McCarthy JG, May, JW, Littler JW. Plastic Surgery. Vol 4 pp:1-14 Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, 2006
17. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. The Meninges. Ed: Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's Anatomy. pp: 1086-1092, Churchill Livingstone, London, UK, 1989.
18. Thaller, S. R., Kawamoto, H. K. A histologic evaluation of fracture repair in the midface. *Plast. Reconstr. Surg.* 85: 196, 1990.
19. Mossaz, C. F., Kokich, V. G. Redevelopment of calvaria following partial craniectomy in growing rabbits: The effect of altering dural continuity. *Acta Anat. Basel.* 109. 321, 1981
20. Hobar PC, Schreiber JS, McCarthy JG, Thomas PA.. The role of the dura in cranial bone regeneration in the immature animal. *Plast. Reconstr. Surg* 1993;92:405.
21. Uddströmer, L., Ritsila, V. Healing of membranous and long bone defects: An experimental study in growing rabbits. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 13: 281, 1979

22. Opperman LA. Cranial sutures as intramembranous bone growth sites. *Dev Dyn.* 2000 Dec;219(4):472-85
23. Virchow R: Über den Cretinismus, namentlich in Franken, und über pathologische Schädelformen. *Verh Phys Med Gesellsch Würzburg* 1851;2:231–271.
24. Park EA, Powers GF: Acrocephaly and scaphocephaly with symmetrically distributed malformations of the extremities. *Am J Dis Child* 1920;20:235–315.
25. Moss ML: The pathogenesis of premature cranial synostosis in man. *Acta Anat* 1959;37:351–370.
26. Delashaw JB, Persing JA, Jane JA: Cranial deformation in craniosynostosis. A new explanation. *Neurosurg Clin N Am* 2:611-20, 1991.
27. Passos-Bueno MR, Sertie AL, Jehee FS, Fanganiello R, Yeh E. Genetics of Craniosynostosis: Genes, Syndromes, Mutations and Genotype-Phenotype Correlations. Ed: Rice DP. *Craniofacial sutures: Development disease treatment.* pp.107-143, S. Karger AG, Basel, Switzerland, 2008
28. Robinson DC, Hall R, Munro DS., Grave'S's disease, an unusual complication: raised intracranial pressure due to premature fusion of skull sutures. *Arch Dis Child.* 1969 Apr;44(234):252-7.
29. McCarthy, J.G., Reid, C.A., Craniofacial synostosis in association with vitamin D-resistant rickets. *Ann. Plast. Surg.* 4, 149-153, 1980.
30. Schmitz JP, Hollinger JO: The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res.* 205: 299-308, 1986.
31. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J CraniofacSurg.* 1990;1:60–68.
32. Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, Boyan BD. Characterization of rat calvarial nonunion defects. *Acta Anat (Basel)*1990;138:185–192.
33. Gosain AK, Song L, Yu P, et al. Osteogenesis in cranial defects: Reassessment of the concept of critical size and the expression of TGF-beta isoforms. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 106:360–371.

34. Sohn JY, Park JC, Um YJ, Jung UW, Kim CS, Cho KS, Choi SH. Spontaneous healing capacity of rabbit cranial defects of various sizes. *J Periodontal Implant Sci.* 2010 Aug;40(4):180-7.
35. Ousterhout, D. K., and Melson, B. Craial base deformity in Apert's syndrome. *Plast. Reconstr. Surg.* 69: 254, 1982
36. Alberius, P., and Johnell, O. Immunohistochemical assessment of cranial suture development in rats. *J. Anat.* 173: 61, 1990
37. Jacenko, O., and Tuan, R. S. Calcium deficiency induces expression of cartilage-like phenotype in chick embryonic calvaria. *Dev. Biol.* 115: 215, 1986
38. Roth DA, Bradley JP, Levine JP, McMullen HF, McCarthy JG, Longaker MT. Studies in cranial suture biology: part II. Role of the dura in cranial suture fusion. *Plast Reconstr Surg.* 1996 Apr;97(4):693-9.
39. Panchal J, Uttchin V. Management of craniosynostosis. *Plast Reconstr Surg.* 2003 May;111(6):2032-48
40. Mabbutt LW, Kokich VG, Moffett BC, Loeser JD. Subtotal neonatal calvariectomy. A radiographic and histological evaluation of calvarial and sutural redevelopment in rabbits. *J Neurosurg.* 1979 Nov;51(5):691-6.
41. Levine JP, Bradley JP, Roth DA, McCarthy JG, Longaker MT. Studies in cranial suture biology: regional dura mater determines overlying suture biology. *Plast Reconstr Surg.* 1998 May;101(6):1441-7.
42. Slater BJ, Kwan MD, Gupta DM, Amasha RR, Wan DC, Longaker MT. Dissecting the influence of regional dura mater on cranial suture biology. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Jul;122(1):77-84.