



T.C.

**AFYONKARAHİSAR SAĞLIK
BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**FEMUR DİYAFİZER KIRIKLARINDA HİDROKSİAPATİT-BORİK ASİT
VE HİDROKSİAPATİT- MAGNEZYUM KAPLI KIRSCHNER TELİNİN
KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN HİSTOLOJİK,
RADYOLOJİK VE BİYOMEKANİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

-DENEYSEL ÇALIŞMA-

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr. Çağlar Tuna ISSI

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA

AFYONKARAHİSAR 2022

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

**FEMUR DİYAFİZER KIRIKLARINDA HİDROKSİAPATİT-BORİK ASİT
VE HİDROKSİAPATİT- MAGNEZYUM KAPLI KIRSCHNER TELİNİN
KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN HİSTOLOJİK,
RADYOLOJİK VE BİYOMEKANİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ
-DENEYSEL ÇALIŞMA-**

Arş. Gör. Dr. Çağlar Tuna ISSI
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA

**Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Komisyonu
tarafından 21.TUS.004 proje numarası ile desteklenmiştir.**

AFYONKARAHİSAR 2022

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Dr. Çağlar Tuna ISSI



KABUL VE ONAY

T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ

ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: Femur Diyafizer Kırıklarında Hidroksiapatit-Borik Asit Ve Hidroksiapatit-Magnezyum Kaplı Kirschner Telinin Kırık İyileşmesi Üzerine Etkinliğinin Histolojik, Radyolojik Ve Biyomekanik Olarak Değerlendirilmesi - Deneysel Çalışma-

Tezi Hazırlayan: Arş. Gör. Dr. Çağlar Tuna ISSI

Tez Savunma Tarihi: 11.08.2022

Tez Kabul Tarihi: 11.08.2022

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA

İş bu çalışma, jürimiz tarafından ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANA BİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA

Üye

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Üye

Doç. Dr. Bahattin Kerem

AYDIN

ONAY

DEKAN

Prof. Dr. Necip BECİT

TEŞEKKÜR

Ortopedi ve travmatoloji uzmanlık eğitimimde büyük emekleri olan, eğitim süresince bilgi ve deneyimlerini daima benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Özal ÖZCAN'a, Prof. Dr. Gökhan MARALCAN'a, Dr.Öğr.Üy. Murat YEŞİL'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Tezimin başından sonuna her aşamasında ilgi, alaka ve tecrübesini yakından hissettiğim, yol gösteren saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA'ya şükranlarımı sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli büyüklerim; Op.Dr. Sadık Emre ERGİNOĞLU, Dr.Öğr.Üyesi Recep ALTIN, Op.Dr. Uğur YÜZÜGÜLDÜ, Op.Dr. Mohamed Salah Ahmed Ali, Dr. Mustafa Reha Dodurgalı'ya, tez çalışmalarım süresince birlikte çalışmaktan gurur duyduğum Op.Dr. Bilge Kağan YILMAZ'a, her türlü sıkıntı ve mutluluğumu paylaştığım can dostu eş kıdemlilerim Dr. İbrahim Ethem BÜTÜNER ve Dr. Turan NAJAFOV'a, her zaman birlik ve beraberlik içerisinde çalıştığımız değerli kardeşlerim Dr. Erdal KESKİN, Dr. Mohamed Hamid SHİRZAD, Dr. Sakhı Ahmad FAZLİ, Dr. Osman Emre TOSUN, Dr. Serkan SAVAŞ, Dr.Halil Sami POSTALLI, Dr. Oğuz ŞİMŞEK, Dr. Mevlüt ÖZBAHÇE, Dr. Fatih AY, Dr. Ramazan KAPLAN, Dr. Musa Can ÇELİKBAŞ, Dr. Osman ŞAN ve Dr. Yunus CANDAS'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin işleyiş sürecinde yardımlarını esirgemeyen Dr.Öğr.Üy.Sadık KAĞA ve Dr.Öğr.Üy. Elif KAĞA'ya , elde edilen verilerin incelenmesi ve analizinde özveri ile çalışan Dr.Öğr.Üy. Hasan Hüseyin DEMİREL'e sonsuz teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, bu günlere gelmemde sonsuz emeği olan sevgili annem Metike ISSI'ya, varlığından gurur duyduğum babam Yılmaz ISSI'ya, kalbi güzelliklerle dolu kardeşim Mehmet Kamil ISSI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince uzakta olsam da varlığını her zaman yanımda hissettiğim, motivasyon kaynağım canım eşim Ecz.Çiğdem AYDIN ISSI'ya, özlemini içimde yaşadığım, canımdan çok sevdiğim biricik kızım Birce ISSI'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

DR. ÇAĞLAR TUNA ISSI
Afyonkarahisar, Eylül 2022

ÖZET

Amaç: Biyomedikal mühendisliği sayesinde üretilen, farklı bileşenlerin yer aldığı kaplama materyallerinin geliştirilmesini sağlayarak bunların kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda; ratların sağ femur kemiği diyafizer bölgesinde oluşturulan transvers kırıklarda, Hidroksiapatit (HA), Borik Asit (BA), Magnezyum (Mg) kombinasyonlarından üretilen Kirschner teli (K teli) ile kırık fiksasyonunun kırık iyileşmesi ve onarımına etkisi histolojik, radyolojik ve biyomekanik olarak araştırmaktır.

Materyal Metod: Çalışmada ortalama yaşları 3 ay, ağırlıkları 250-300 mg olarak hesaplanan toplam 60 adet Wistar Albino türü rat kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 12 adet rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Her grupta sağ femur diyafizer bölgesine transvers kırık oluşturuldu. Biyomedikal mühendisliği ile ortak çalışma sonrası çeşitli materyaller ile kaplanan K telleri her gruba özel olarak belirlendiği gibi intramedüller olarak uygulandı. Cerrahi sonrası kırık iyileşmesini değerlendirmek adına 6. hafta erken dönemde her gruptan 6 adet rat ve 12. hafta geç dönemde her gruptan 6 adet rat kurban edildi. Deneklerin sayısı önceden yapılan çalışmalar ve istatistiksel anlamlarına göre grup başı en az 6 olarak hesaplandı ve güç analizi %95 olarak belirlendi. Kullanılan Wistar Albino türü denek hayvanlarının DNA benzerliği %99 olması çalışmamızın güç analizini kuvvetlendirmiştir.

Gruplar, sakrifikasyon zamanlarına göre yüksek doz anestezi madde enjeksiyonu ile kurban edildi. Sakrifikasyon sonrası ratlar radyolojik değerlendirmeye alındı. Radyolojik değerlendirmede Lane-Sandhu radyolojik skorlamasına göre değerlendirildi. Ardından ratların sağ femurları eksize edilerek histopatolojik çalışmaya tabii tutuldu. Materyaller %10'luk tamponlanmış formalinde 1 hafta süre ile fiks edildi. Fiksasyondan sonra materyaller %50'lik formik asit ve %20'lik sodyum sitrat çözeltilerinden hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrası kemik doku örnekleri parafin bloklara gömülerek mikrotom ile 5-7 µm kalınlığındaki kesitler lamalar üzerine alındı. Bu kesitler Hematoksilen-Eozin ve Masson's Tricrom boyama yöntemiyle boyanıp, Huo ve Ark. kırık iyileşmesi skalasına göre değerlendirmeleri yapıldı.

Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca değerler kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen (non-parametrik) değişkenler iki grup arasında değerlendirilirken Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. İki'den fazla grupta normal dağılım göstermeyen sürekli değişken karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis Testi kullanıldı. Kruskal-Wallis Testinin anlamlı bulunduğu durumlarda post-hoc analiz olarak Pairwise Comparisons testi kullanıldı. Bütün analizlerde IBM SPSS.23 programı kullanılmış ve anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ değeri kabul edilmiştir.

Bulgular: Direk sitotoksikite testinde çalışmada kullanılan K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine toksik etki yaratmadığını saptandı. İndirek sitotoksikite testinde, çalışma sonuçlarına göre kontrol grubu içeren kuyucukların canlılık oranı % 100 olarak değerlendirildi. Bu verilerle çalışmada kullanılan K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine toksik etki yaratmadığı saptandı.

Tüm gruplarda kırık iyileşmesinin histolojik skorlarında aynı grup içerisindeki 6. hafta ve 12. hafta deney grupları arasında anlamlı fark saptandı. Aynı

gruplardaki 12.hafta deney gruplarının, 6.hafta deney gruplarına göre kırık iyileşmesinde anlamlı artış görüldü. Tüm gruplar 6. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında HA + Mg kaplı K teli uygulanan 5. deney grubunun en yüksek değerde ve anlamlı olduğu görüldü. ($p<0.001$) Tüm gruplardaki 6. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırıldığında 5. grubun diğer gruplara nazaran kırık iyileşmesinde anlamlı fark oluşturduğu görüldü. Tüm gruplar 12. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında kırık iyileşmesinin histolojik skorlarında 5. deney grubunun en yüksek değerde ve anlamlı olduğu görüldü. ($p<0.001$) Tüm gruplardaki 12. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırıldığında 5. grubun diğer gruplara nazaran kırık iyileşmesinde anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Kırık iyileşmesinin radyolojik olarak değerlendirilmesinde ise tüm gruplarda, aynı grup içerisindeki 6. hafta ve 12. hafta deney grupları arasında anlamlı fark saptanmadı. Kırık iyileşmesinin radyolojik olarak değerlendirilmesinde tüm gruplar 6. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 4. ve 5. deney gruplarının en yüksek değerde, 3. deney grubunun ise en düşük değerde olduğu görüldü fakat anlamlı fark saptanmadı. ($p=0.837$) Kırık iyileşmesinin radyolojik olarak değerlendirilmesinde tüm gruplar 12. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 2. ve 5. deney grubunun en yüksek değerde, 1.deney grubunun ise en düşük değerde olduğu görüldü fakat anlamlı fark saptanmadı. ($p=0.479$)

Tüm gruplarda histopatoloji ve radyoloji skorları karşılaştırıldığında birbirleri arasında korelasyon olduğu görüldü. ($p<0.001$ ve $r= 0.438$) 6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının histopatoloji ve radyoloji skorları karşılaştırıldığında birbirleri arasında korelasyon olduğu görüldü.(6. Hafta için $p=0,047$ ve $r=0,365$, 12.hafta için $p=0,019$ ve $r=0,426$)

Biyomekanik testlerde gruplarda yer alan ratların sol femurları deney sonrası kullanıldı. Elde edilen analiz verileri ışığında testler arası optimal şartlar sağlanamamış olup daha fazla materyal gereksiniminden dolayı deney gruplarında yer alan ratların sağ femurları biyomekanik testlere tabii tutulmadı.

Sonuç: Yapmış olduğumuz deneysel çalışmadan elde edilen veriler ışığında erken ve geç dönem kırık iyileşmesinde Mg içeren implant kullanımı ile iyi histolojik sonuçlar elde edilebilir ve bununla birlikte kırık tespit materyallerinde Mg kaplama yapılmasının kırık iyileşmesinde olumlu sonuçlar doğuracağını düşüncesi ortaya çıkmaktadır. Kırık tespitinde kullanılan biyomateryallerde özellikle HA + Mg kaplama ile istenilen sonuçlar elde edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Magnezyum, Borik asit, Hidroksiapatit

ABSTRACT

Purpose: It is aimed to investigate components produced by biomedical engineering which coated with different materials on fracture healing. In accordance with this purpose; Histological, radiological and biomechanical investigation of the effect of Kirschner wire (K wire) produced from Hydroxyapatite (HA), Boric Acid (BA) and Magnesium (Mg) combinations, on fracture healing and repair in transverse fractures formed in the diaphyseal region of the right femur bone of rats.

Material and Method: A total of 60 Wistar Albino rats whose average age was calculated as 3 months included in the study. These rats were divided into 5 groups including 12 rats in each group. Then a transverse fracture created on the right femoral diaphyseal region on each rat. K wires which coated with various materials after collaborative work with biomedical engineering, were applied intramedullary to each group as determined specifically. In order to evaluate the fracture healing after surgery, 6 rats from each group in the early period of the 6th week and 6 rats from each group in the late period of the 12th week, were sacrificed. The number of subjects was determined as at least 6 per group according to previous studies and statistical significance, and the power analysis was determined as 95%. The DNA similarity of Wistar Albino animals used in the study was 99%, which clearly strengthened the power analysis of our study.

The groups were sacrificed with high-dose anesthetic injection according to the time of sacrifice. After sacrifice, rats were evaluated radiologically. Lane-Sandhu radiological scoring was used in the radiological evaluation. Then, the right femurs of the rats were excised and subjected to histopathological study. The materials were held on 10% diluted formalin for 1 week. After fixation, the materials were decalcified in a solution prepared from 50% formic acid and 20% sodium citrate solutions. After decalcification, bone tissue samples were placed in paraffin blocks and 5-7 μm thick sections were taken on slides with a microtome. These sections were stained with Hematoxylin-Eosin and Masson's Tricrom staining method, and evaluations were made according to the fracture healing scale of Huo et al.

Mean, standard deviation, and median values were used while presenting descriptive analyzes

The Mann Whitney U Test was used when evaluating variables which non-normally distributed (non-parametric) between the two groups. The Kruskal-Wallis Test was used to compare continuous variables that did not show normal distribution in more than two groups. Pairwise Comparisons test was used as post-hoc analysis when Kruskal-Wallis Test was found to be significant. IBM SPSS.23 program was used in all analyzes and $p < 0.05$ was accepted as the level of significance.

Results: In the direct cytotoxicity test, it was determined that the K-wire materials used in the study did not have a toxic effect on cell proliferation. In the indirect cytotoxicity test, the viability rate of the tubes containing the control group evaluated as 100% according to the results of the study. With these data, it was determined that the K-wire materials used in the study did not have a toxic effect on cell proliferation.

There was a significant difference in fracture healing in terms of histological score within the same group in all 6 and 12 weeks old experimental groups. A

significant increase in fracture healing was observed in the 12th week experimental groups in the same groups compared to the 6th week experimental groups. When all groups were compared with the averages of the 6th week, it was seen that the 5th experimental group, in which HA + Mg coated K wire was applied, had the highest value and was significant. ($p < 0.001$) When the 6th week experimental groups in all groups were compared with each other in pairs, it was seen that the 5th group made a significant difference in fracture healing compared to the other groups. When all groups were compared with the mean value by the 12th week, the histological scores of fracture healing were found to be the highest and significant in the 5th experimental group. ($p < 0.001$) When the 12th week experimental groups in all groups were compared with each other in pairs, it was seen that the 5th group made a significant difference in fracture healing compared to the other groups.

In the radiological evaluation of fracture healing, there was no significant difference between the 6th week and 12th week experimental groups within all groups. In the radiological evaluation of fracture healing, when all groups were compared with the averages of the 6th week, it was seen that the 4th and 5th experimental groups had the highest value and the 3rd experimental group had the lowest value, but no significant difference was found statistically. ($p = 0.837$) Also all these groups were compared with the averages of the 12th week, it was seen that the 2nd and 5th experimental groups had the highest value and the 1st experimental group had the lowest value, but no significant difference was found. ($p = 0.479$)

When the histopathological and radiological scores of all groups were compared, it was seen that there was a correlation between each other. ($p < 0.001$ and $r = 0.438$) When the histopathological and radiological scores of the 6th week and 12th week experimental groups were compared, it was seen that there was a correlation between each other ($p = 0.047$ and $r = 0.365$ for the 6th week, $p = 0.019$ and $r = 0.426$ for the 12th week).

The left femurs of the rats in the groups were used after the experiment in the biomechanical tests. Data obtained from these tests showed that, optimal conditions between the tests could not be achieved and the right femurs of the rats in the experimental groups were not subjected to biomechanical tests due to the need for more material.

Conclusion: In the light of the data obtained from our experimental study, good histological results can be obtained with the use of Mg-containing implants in early and late fracture healing, and it is thought that Mg coated fixation materials will have positive results in fracture healing. Desired results can be obtained by using HA + Mg coated biomaterials in fracture fixation.

Keywords: Fracture healing, Magnesium, Boric acid, Hydroxyapatite

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar ÇİZELGESİ	xii
ŞEKİLLER ÇİZELGESİ.....	xiii
KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. KEMİK DOKU ANATOMİSİ.....	5
2.2. KEMİK DOKU HİSTOLOJİSİ.....	7
2.2.1. Lamellar Kemik	9
2.2.2. Örgü (Woven) Kemik	10
2.2.3. Kemik Hücreleri	10
2.2.3.1. Osteoblastlar	11
2.2.3.2. Osteositler	12
2.2.3.3. Osteoklastlar	12
2.2.3.4. Osteoprogenitör hücreler	13
2.2.4. Kemik Matriksi	13
2.2.5. Periosteum ve Endosteum.....	14
2.2.6. Kemik Gelişimi (Osteogenez)	15
2.2.7. Kemik Beslenmesi	17
2.3. KIRIK İYİLEŞMESİ.....	18
2.3.1. Doğrudan / Direkt (Primer) İyileşme.....	19
2.3.2. Dolaylı / İndirekt (Sekonder) İyileşme	21
2.3.3. Kırık İyileşmesinde Etkili Olan Faktörler	25
2.3.3.1. Lokal Faktörler.....	25
2.3.3.2. Genel Faktörler	25
2.3.3.3. Kırık Tespit Yöntemlerinin Kırık İyileşmesine Etkisi.....	28
2.3.4. Kırık İyileşmesini Hızlandırıcı Faktörler.....	31

2.3.4.1. Fiziksel Uyarıcı Tedaviler.....	32
2.3.4.2. Lokal Uyarıcı Tedaviler.....	32
2.4. HİDROKSİAPATİT (HA)	33
2.5. BORİK ASİT (BA)	36
2.6. MAGNEZYUM (MG)	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1. K TELİNİN HİDROKSİAPATİT, BORİK ASİT VE MAGNEZYUM İLE KAPLANMASI.....	43
3.1.1. Borik Asit Katkılı Hidroksiapatit Üretimi	43
3.1.2. Magnezyum Katkılı Hidroksiapatit Üretimi	44
3.1.3. Borik Asit ve Magnezyum Katkılı Hidroksiapatit Üretimi	45
3.1.4. Üretilen Toz Karışımlarının K Tellerine Kaplanması	46
3.2. ANESTEZİ VE ANALJEZİ.....	49
3.3. CERRAHİ TEKNİK.....	50
3.4. SİTOTOKSİK DEĞERLENDİRME	56
3.4.1. Direkt sitotoksisite testi	57
3.4.2. İndirekt sitotoksisite testi.....	57
3.5. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	57
3.6. RADYOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	59
3.7. BİYOMEKANİK DEĞERLENDİRME	59
3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	59
4. BULGULAR.....	60
4.1. SİTOTOKSİK BULGULAR.....	60
4.1.1. Direkt Sitotoksisite Testi	60
4.1.2. İndirekt Sitotoksisite Testi.....	60
4.2. Histopatolojik Bulgular	61
4.3. RADYOLOJİK BULGULAR.....	71
4.4. İSTATİSTİKSEL BULGULAR.....	76
4.4.1. Histopatolojik Bulgular	77
4.4.2. Radyolojik Bulgular	80
4.4.3. Histopatoloji – Radyoloji Korelasyonu	82
5. TARTIŞMA	84
6. SONUÇ	90
7. KAYNAKLAR	93

EKLER..... **Error! Bookmark not defined.**



TABLÖLAR ÇİZELGESİ

Tablo 1.	Huo ve Ark. yapmış olduğu Histolojik Skörlama Sistemi.....	58
Tablo 2.	Lane-Sandhu Skörlama Sistemi	59
Tablo 3.	Huo ve Ark. değörlendirmesi sonrası aynı grüplardaki 6. hafta ve 12. hafta deney grüplarının ortalamaları ve istatistik sonuçları	77
Tablo 4.	Huo ve Ark. değörlendirmesi sonrası, 6. hafta deney grüplarının birbirleriyle ikili grüp karşılaştırılması	78
Tablo 5.	Huo ve Ark. değörlendirmesi sonrası, 12. hafta deney grüplarının birbirleriyle ikili grüp karşılaştırılması	79
Tablo 6.	Lane-Sandhu değörlendirmesi sonrası aynı grüplardaki 6. hafta ve 12. hafta deney grüplarının ortalamaları ve istatistik sonuçları	80

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil 1.	Kemik Çeşitleri	6
Şekil 2.	Uzun kemik makroskopik anatomisi.....	7
Şekil 3.	Kemiğin Mikrosopik Yapısı.....	8
Şekil 4.	Spongiyoz Kemiğin Yapısı	9
Şekil 5.	Kemik Hücreleri.....	11
Şekil 6.	Periosteum ve Endosteum	15
Şekil 7.	Enkondral Kemikleşme	17
Şekil 8.	Kemiğin Kanlanma Şeması.....	18
Şekil 9.	Primer Kemik İyileşmesinin Tipleri.....	19
Şekil 10.	Primer Kemik İyileşmesindeki Tam Temas.....	20
Şekil 11.	Sekonder Kemik İyileşmesinin Aşamaları.....	21
Şekil 12.	Sekonder İyileşmede İntramembranöz ve Enkondral Kemik Oluşumu..	23
Şekil 13.	Kemik Doku ve Hidroksiapatit Yapısı.....	34
Şekil 14.	Hidroksiapatitin Gözenekli Poroz Yapısı.....	35
Şekil 15.	Saf HA tozunun (Captal 60) tane boyut dağılımı.....	43
Şekil 16.	Saf HA tozunun (Captal 60) farklı büyütmelede elektron mikroskobu görüntüleri	43
Şekil 17.	Saf HA tozuna %5 BA katkılандırılmış toz karışımının farklı büyütmelede elektron mikroskobu görüntüleri.....	44
Şekil 18.	Magnezyum katkılı hidroksiapatit üretim aşamalarının şematik gösterimi	45
Şekil 19.	Saf hidroksiapatit tozuna %2 Mg katkılандırılmış toz karışımının analizi (a) ve elektron mikroskobu görüntüsü (b).....	45
Şekil 20.	%2 Mg içeren hidroksiapatit tozuna, %5 BA katkılандırılmış toz karışımının farklı büyütmelede elektron mikroskobu görüntüleri	46
Şekil 21.	Atmosferik Plazma Sprey prensibi.....	46
Şekil 22.	Oerlikon Metco MultiCoat kaplama sistemi	47
Şekil 23.	Plazma Sprey Cihazı	47
Şekil 24.	Sprey kaplama anı	48
Şekil 25.	Kaplanmış K-telinin makroskopik görüntüsü	48
Şekil 26.	Kaplanmış K-telinin kaplama kalınlığının mikroskop görüntüsü	49

Şekil 27.	Xylazin Bio %2 ksilazin etken madde (a), Alfamine %10 ketamin etken madde (b).....	50
Şekil 28.	Batticon, Poviodin-iyot %10	50
Şekil 29.	Ortopedik cerrahi küçük set aletleri	50
Şekil 30.	Ortopedik mikrocerrahi set aletleri	51
Şekil 31.	Anestezik indüksiyon sonrası deney hayvanının görüntüsü(a), anestezik indüksiyon altında sağ diz cerrahi alanın tıraş ve temizlik sonrası görüntüsü(b)	51
Şekil 32.	Steril örtü ile genel temizlik örtme işlemleri sonrası deney hayvanı görüntüsü.....	52
Şekil 33.	Sağ dizin paramedian insizyon ile cilt ve cilt altı kesilmiş görüntüsü	52
Şekil 34.	Patella laterale devrilmesi ve sonrasında femur distal kondillerin görüntüsü.....	53
Şekil 35.	Trohlear bölgede intramedüller uygulanacak olan biyomateryalin giriş noktası	53
Şekil 36.	K teli ile femur diyafizer bölgede multipl delikler oluşturulması.....	54
Şekil 37.	K telinin retrograd uygulanması.....	54
Şekil 38.	Cilt onarımı yapıldıktan sonraki görüntüsü.....	55
Şekil 39.	Eksize edilen total femurun makroskopik görüntüsü.....	56
Şekil 40.	Direkt stotoksisite testinde kültürlen osteoblast hücrelerinin kontrol grubuna göre canlılık oranları	60
Şekil 41.	İndirekt stotoksisite testinde kültürlen osteoblast hücrelerinin kontrol grubuna göre canlılık oranları	61
Şekil 42.	1. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	61
Şekil 43.	2. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	62
Şekil 44.	3. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	62
Şekil 45.	4. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	63
Şekil 46.	5. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	63

Şekil 47.	1. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	64
Şekil 48.	2. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	64
Şekil 49.	3. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	65
Şekil 50.	4. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	65
Şekil 51.	5. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	66
Şekil 52.	1. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	66
Şekil 53.	2. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	67
Şekil 54.	3. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	67
Şekil 55.	4. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	68
Şekil 56.	5. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	68
Şekil 57.	1. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	69
Şekil 58.	2. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	69
Şekil 59.	3. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	70
Şekil 60.	4. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	70
Şekil 61.	5. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü.....	71
Şekil 62.	1. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler.....	71
Şekil 63.	2. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler.....	72
Şekil 64.	3. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler.....	72
Şekil 65.	4. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler.....	73

Şekil 66.	5. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler.....	73
Şekil 67.	1. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler.....	74
Şekil 68.	2. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler.....	74
Şekil 69.	3. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler.....	75
Şekil 70.	4. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler.....	75
Şekil 71.	5. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler.....	76
Şekil 72.	Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası gruptaki 6. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması	77
Şekil 73.	Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası 6. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırılması	78
Şekil 74.	Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası gruptaki 12. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması	79
Şekil 75.	Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası, 12. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırılması	80
Şekil 76.	Lane-Sandhu değerlendirmesi sonrası gruptaki 6. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması	81
Şekil 77.	Lane-Sandhu değerlendirmesi sonrası gruptaki 12. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması	81
Şekil 78.	Tüm deneklerin histopatoloji ve radyoloji skorları korelasyonunun değerlendirilmesi.....	82
Şekil 79.	6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının histopatoloji ve radyoloji skorları korelasyonu değerlendirilmesi	82

KISALTMALAR

HA	: Hidroksiapatit
BA	: Borik Asit
Mg	: Magnezyum
K-teli	: Kirschner Teli
PAS	: Periyodik Asit–Schiff
RNA	: Ribonükleik Asit
M-CSF	: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
RANKL	: Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa Ligandı
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
VEGFR	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü
Ca	: Kalsiyum
PTH	: Paratiroid Hormon
FGF	: Fibroblast Büyüme faktörü
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE	: Prostaglandin E
IGF	: İnsülin Kaynaklı Büyüme Faktörü
MIPO	: Minimal İnvaziv Plak Osteosentezi
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
PEMFs	: Pulsed Elektromanyetik Alanlar
BMG	: Kemik Matriks Jelatin
PRP	: Trombositten Zengin Plazma
OH	: Hidroksil
F	: Flor
Cl	: Klor
P	: Fosfor
B	: Bor

HAP	: Hidroksiapatit Partikülleri
ADH	: Antidiüretik Hormon
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu



1. GİRİŞ

Kemik doku ile kas doku birlikte vücudun yapısal desteğini ve hareket gücünü sağlayan dinamik bir dokudur. Vücuttaki endokrin, metabolik ve travmatik faktörlere göre yapısal değişiklik gösterebilen dinamik bir doku bütünüdür. Bu özelliklerine ek olarak kemik doku bazı iyonlar için depo görevi görmekte, asit baz dengesini sağlamakta ve hematopoez gibi önemli görevleri de üstlenmektedir [1].

Kemik yapının anatomik bütünlüğünün tamamen ya da kısmi olarak bozulması ve çevre yumuşak dokuların da beraberinde etkilenmesi durumu kırık olarak adlandırılmaktadır. Birçok etyolojik nedene bağlı olarak oluşabilen kırıklar vücudun tüm kemiklerinde oluşabilmekte ve olduğu yere göre mortalite ve morbiditeye sebep olmaktadır. Günümüzde artan iş ve trafik kazalarının yanı sıra yaşlı nüfusun artması nedeniyle kırıkların sık görülmesi, kırık iyileşmesini önemli bir sağlık problemi haline getirmiştir. Kırıklar ve kırık iyileşmesi konusu, beklenen yaşam süresinin artmaya devam ettiği günümüz dünyasında hala ilk günkü önemini korumaktadır.

Kırık iyileşmesi birçok etkenin rol aldığı karmaşık bir süreç döngüsüdür. Güncel yayınlarda farklı süreçlerin değişkenliğinin koordinasyonunu içeren karmaşık bir döngü olarak ele alınmaktadır [2]. Kırık iyileşmesi birçok fizyolojik, biyolojik ve mekanik faktörden etkilenmektedir. Günümüzde kırık iyileşmesi üzerine etkili birçok biyolojik faktör ve mekanizma aydınlatılmıştır. Tüm tedavi yöntemlerine rağmen kırıkların bir kısmında kaynama ile ilgili problemler görülmektedir. Hastanın yaşı, beslenme ve hormonal durum, yetersiz redüksiyon, eşlik eden hastalıklar, enfeksiyonlar, ilaçlar ve travmanın özelliği, kırık iyileşmesini etkileyen faktörler olarak bildirilmiştir [3]. Gecikmiş kaynama veya kaynamama gibi sorunlar; ek medikal tedavilere, ameliyatlara, iş gücü ve maddi kayıplara neden olmaktadır. Kırığın kaynaması için beklenen süre ne kadar kısalsın ve kırık ne kadar erken iyileşirse maliyetler o kadar düşük olacak, hastanede yatış süresi azalacak, yaşam kalitesi artacak, işe dönüş erken olacak ve toplam iş gücü kaybı azalacaktır. Kırık iyileşme sürecinin hızlanması; hastaların sosyal hayatlarına tekrar dönebilmesi ve ekonomik üretkenliklerine yeniden başlamaları açısından önemlidir. Medikal olarak

kırık iyileşmesinin desteklenmesiyle hastaların morbiditesi azalmakta ve sağlık harcamaları maliyetleri de önemli oranda azalmaktadır.

Hidroksiapatitler (HA), biyomalzeme olarak implant kaplamalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Apatit yapısında olup genel formülü $M_{10}(PO_4)_6X_2$ (M: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , K^+ ve X: F^{2-} , Cl^{2-} , Br^{2-} , $(OH)_2$, CO_3^{2-}) olarak bilinmektedir. Saf HA'nın formülü ise $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ 'dir [4]. Yapılan araştırmalara göre kemik yapısının %60 oranında HA ve %20 oranında da kollajen lifler içerdiği gösterilmiştir [5]. HA biyoseramikleri sıklıkla implant kaplama malzemesi olarak yumuşak doku ile implant arasında bir ara yüzey oluşturup implantın kaymasını engellemektedir. HA kemik dolgu materyali olarak toz halde ya da gözenekli blok şeklinde kullanılır [5]. HA'in gözenekli yapısı antibiyotik, hormon, enzim, antikor parçaları ve steroidler gibi çeşitli farmakolojik maddelere yüksek bağlanma afinitesi gösterir. Bu nedenle, sentetik HA'in kullanımı birçok klinik uygulamada, sürekli salım kapasitesiyle osteomyelit, osteoporoz ve kemik kanseri gibi hastalıklarda, kemikte bölgesel olarak oluşan hasarların doldurulması ihtiyacını önemli ölçüde karşılamaktadır [6].

Yeryüzünün 51. yaygın elementi olan bor, toprak, kayalar ve suda yaygın olarak bulunan bir elementtir. Bor; hayvanlar, bitkiler ve insanlar için önemli bir iz elementtir [7]. Beslenme yoluyla vücuda alınan bor, birçok metabolik enzimin aktivitesini etkilemesinin yanı sıra, steroid hormonların ve kalsiyum, magnezyum, vitamin D gibi pek çok mikro besinin metabolizmasını da etkilemektedir [8]. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre insan vücuduna günlük yaklaşık olarak 0.44 µg hava yoluyla, 0.2–0.6 mg içme suyuyla ve 1.2 mg beslenme yoluyla bor girmektedir. Dokulara ya da vücut sıvılarına geçen bor, çoğunlukla BA şeklinde bulunur. Borik asit doğal bir bileşik olup sulardan, sebzelerden ya da diğer yiyeceklerden beslenme yoluyla alınabilir [9]. Vücuda hangi yolla alınmış olursa olsun borun %90'dan fazlası ilk 24 saat içerisinde idrar yoluyla vücuttan uzaklaştırılır. Kalan kısım ise daha çok kemik, tırnak ve kıllarla, karaciğer ve dalak gibi organlarda birikmektedir. BA, magnezyum, vitamin D ve kalsiyum gibi kemik sağlığı üzerinde önemli etkileri olan mikro besinlerin metabolizmasında görev almaktadır. Buna bağlı olarak osteoporozun önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir. Yapılan bir çalışmada, tavuklarda beslenme ile yetersiz bor alımının yetersiz magnezyum alımına da neden olduğu belirtilmiştir

[10]. Uygun miktarda bor alımı plazma kalsiyum ve magnezyum seviyelerini yükseltmiştir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında borun vitamin D üzerine de dolaylı bir etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır [11].

Magnezyum ilk olarak 1808 yılında Sir Humprey Davy tarafından bulunmuştur. Atom numarası 12'dir. Atom yığını 24.305 amu ve kaynama noktası 1107, erime noktası 650 derecedir. Toprak alkali metaller sınıfındadır ve hayati önem taşıyan 11 mineralden en önemlisi kabul edilebilir [12]. İnsan vücudunda yaklaşık 28 gr Mg bulunmaktadır. Mg için ana depo kemikler olup kalsiyum ve fosfatla birlikte bulunmaktadır. Kas-sinir fonksiyonunun sürdürülmesi, kemik dokunun sağlamlığının devamı ve kalp ritminin korunmasında rol almaktadır. Ayrıca kasların güçlenmesi, protein sentezi ve enzim sistemi aktivitesinde büyük öneme sahiptir. 300'ün üzeri enzim reaksiyonunda kofaktör olarak bulunan, homeostazis için elzem olan eser elementlerden biri olup, hücre içindeki en baskın divalan katyondur. Magnezyum, çeşitli reaksiyonlarda direkt enzim aktivasyonuna veya enzim substratı oluşumuna katkı sağlamaktadır [13]. Hücre adezyonu veya membran geçişlerinde aktif rol alarak membran fonksiyonunu sağlar. Proteinlerin, nükleik asitlerin, ribozomların, mitokondrinin ve çok sayıda enzim molekülünün yapı taşıdır. Mg homeostazında temel görev alan organlar bağırsaklar, kemikler ve böbreklerdir. Bağırsaklardan emilmesi; kemiklerde depolanması ve aşırı miktarlarında üriner ve fekal yolla atılmasıyla Mg metabolizması, antagonisti olan kalsiyum ile benzerlik göstermektedir. Magnezyum kemiğin farklı bölgelerinde farklı miktarlarda bulunur. İliak kanatta kortikal kemik bölgesinde trabeküler kemikten %10-20 daha az bulunur. Mg iskelet metabolizmasının bütün fazlarını etkilemektedir [14].

Kırık tedavisinde kullanılan implant ve biyomalzemeler ortopedi alanında önemli bir yere sahiptir. Daha üstün özelliklere sahip ve istenmeyen etkileri daha az olan yeni seçenekler oluşturabilmek için çalışmalar dünya genelinde önemsenmekte ve ciddi yatırımlar yapılmaktadır. Ortopedik implantların elde edilmesinde veya kaplanmasında kullanılabilecek biyomalzemelerin ve yöntemlerin geliştirilmesi, ayrıca etkilerinin saptanması son derece önemlidir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada; biyomedikal mühendisliği sayesinde üretilen, farklı bileşenlerin yer aldığı kaplama materyallerinin geliştirilmesini sağlayarak bunların kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda; ratların femur kemiği diyafizer bölgesinde oluşturulan kırıklarda, Hidroksiapatit (HA), Borik Asit (BA), Magnezyum (Mg) kombinasyonlarından üretilen Kirschner teli (K teli) ile kırık fiksasyonun kırık iyileşmesi ve onarımında etkisi histolojik, radyolojik ve biyomekanik olarak araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKU ANATOMİSİ

Kemik dokusu insan iskeletinin temel yapısını oluşturur. Bu iskelet sisteminin; vücuda yapısal destek sağlamak, kas dokuyla işbirliği içerisinde hareketi ve lokomotor gücü sağlamak, önemli iç organları korumak, vücudun asit baz dengesini sağlamak, büyüme hormonu ve sitokinler için bir depo görevi görmek ve hematopoezi gerçekleştirmek gibi çeşitli görevleri vardır [1]. Kemik dokusu fosfat kalsiyum ve diğer iyonlara için bir depo görevi görür. Gereklik halinde bu iyonların vücut sıvılarındaki dengesini sağlayabilmek için salıverilmesini ve tutulmasını, arasındaki dengeyi korur. İskelet kas dokuları kemiklere tutunur ve kasılmaları ile organizma hareketinin sağlanmasında kemikler adeta bir kaldıraç görevi görürler. Kemik dokusu böylelikle vücudun mekanik fonksiyonlarında da görev üstlenir [15].

Yetişkin insan iskeletinde sesamoid kemikler hariç 206 kemik bulunur. Bunların 126 tanesi ekstremitelerde, 74 tanesi aksiyel iskelette ve 6 tanesi kulak yolunda bulunur. Mikro ve makro zedelenmelere maruz kalan kemik doku sürekli olarak yenilenme ve mekanik olarak daha güçlü olmak için yeniden yapılanma döngüsü içerisinde. Kemik şekil ve boyut olarak çok fazla çeşitliliğe sahiptir. Kulak kemiklerinden bacak kemiklerine kadar farklı boyutlarda olabilir. Şekil olarak incelendiğinde, bu çeşitlilik nedeniyle kemikler altı gruba ayrılabilir (Şekil 1).

1) Uzun kemikler: Kemik uzunluğu genişlik ve kalınlığından fazladır. Humerus, femur ve tibia da olduğu gibi, tübüler kalın duvarlı yapıda olan diyafiz ve diyafizin her iki tarafında bulunan geniş yapıda metafiz ve epifiz bulunur. Diyafizin kalın kortikal duvarı metafize doğru gittikçe inceler ve genişler. Diyafizin iç kısmında kemik iliği boşluğu bulunur. Kemik iliği iki komponentten oluşur. Kırmızı kemik iliğinde kan hücreleri üretilir. Sarı kemik iliği ise yağdan zengin bağ dokusu yapısındadır.

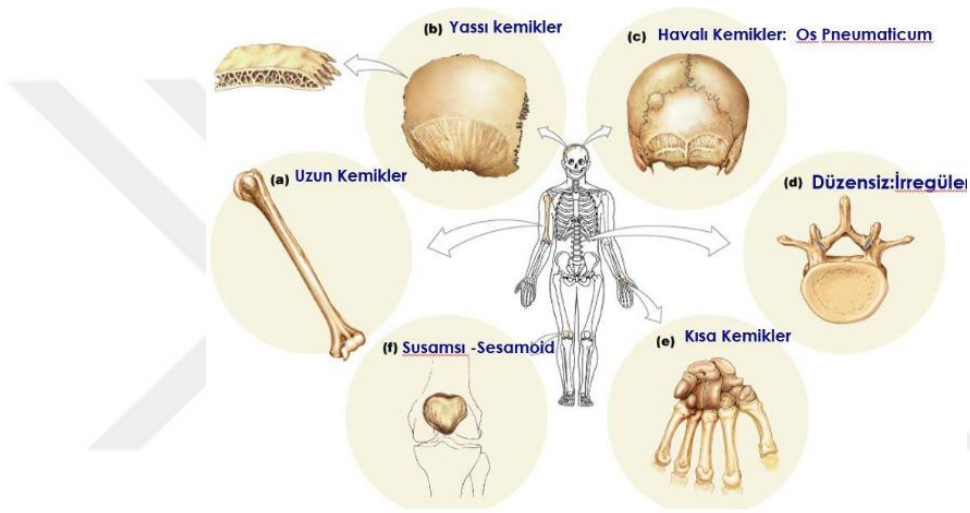
2) Kısa kemikler: Karpal kemikler ve tarsal kemikler gibi uzunluğu, genişliği ve kalınlığı yaklaşık olarak aynı boyutlara sahip kemiklerdir.

3) Yassı kemikler: Kafatası, skapula ve iliak kanatlar gibi kavisli, yassı ve ince kemiklerdir.

4) Düzensiz Kemikler: Vertebra, yüz ve çene kemikleri gibi herhangi bir kemik tipi ile kategorize edilemeyen, düzenli bir şekli olmayan kemiklerdir. Bu kemikler basınca karşı oldukça dayanıklıdır.

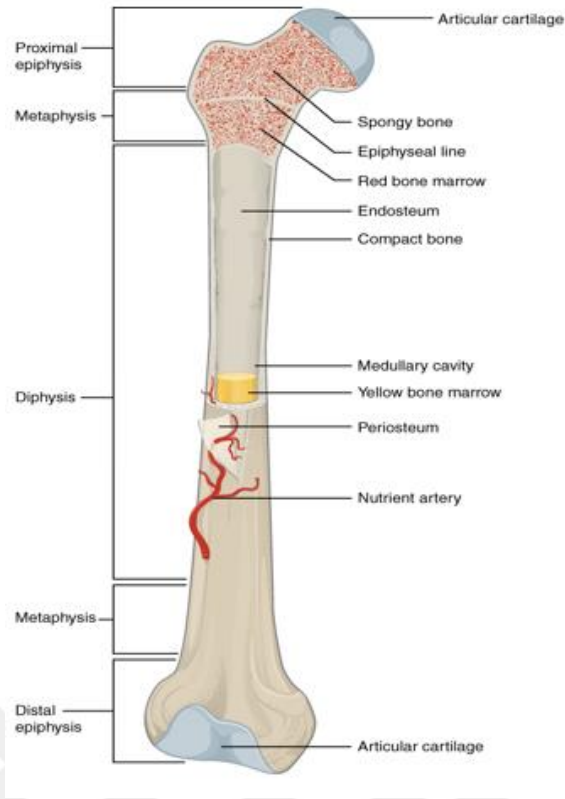
5) Sesamoid kemikler: Patella ve fabella gibi bazı ligamentler ve tendonların içerisinde bulunan kemiklerdir.

6) Havalı kemikler: Üst çene kemiği, temporal kemik ve frontal kemik gibi bu kemikler de kafatasındadır ve içlerinde hava boşlukları bulundurlar.



Şekil 1. Kemik Çeşitleri

Genel olarak kemik dokunun terminal uçlarında metafiz ve epifiz kısmı bulunur. Metafiz kısmı diafize kıyasla daha ince bir kortikal kemik doku ile örtülüdür. Epifiz bölümü ise eklemleşmeyi sağlayan kıkırdak bir yüzeyi içerir. Orta kısmı ise diyafiz olarak adlandırılır. Diyafiz dışta kalın kortikal (kompakt) kemik ve içerisini dolduran süngerimsi (kansellöz) kemikten oluşur. Kemiğin eklem yüzleri ve tendonların yapışma alanları dışındaki bölümleri dayanıklı bir membran olan periost ile örtülüdür.



Şekil 2. Uzun kemik makroskopik anatomisi

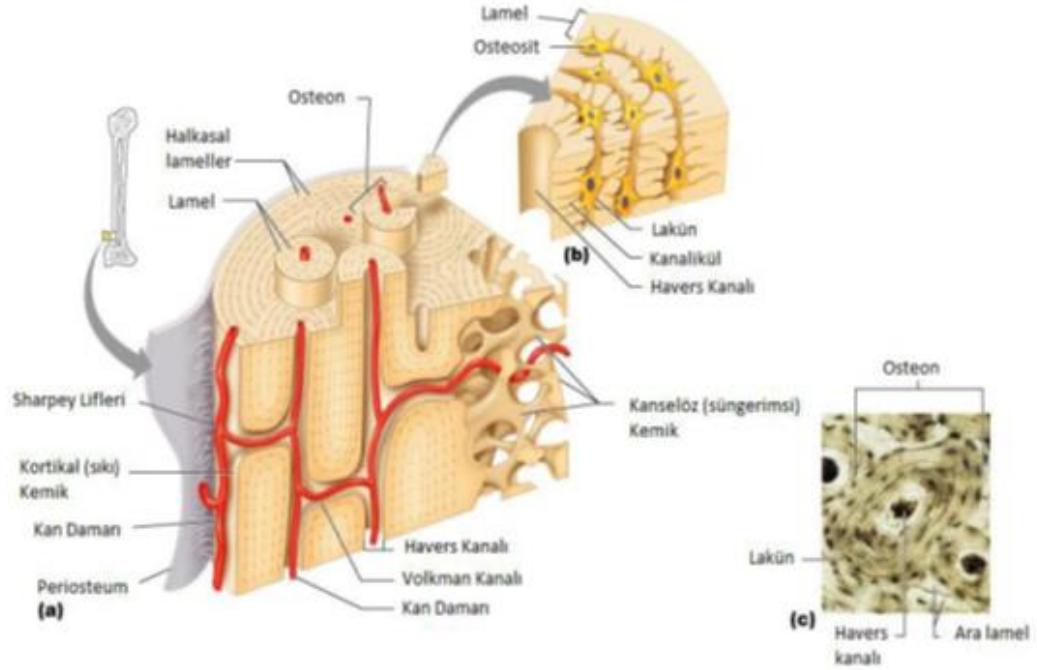
2.2. KEMİK DOKU HİSTOLOJİSİ

Kemikten enine bir kesit alınıp makroskopik olarak bakıldığında dış yüzeyi kompakt (kortikal) kemik olarak adlandırılır ve kemiğin yaklaşık %80'nini oluşturur. İç yüzeyde bulunan birbiriyle bağlantılı birçok boşluktan oluşan kemik ise trabeküler (süngerimsi) kemik dokusu olarak adlandırılır ve kemik dokusunun yaklaşık %20'sini oluşturur [16].

Uzun kemiklerin epifiz adı verilen uç kısımlarında ince bir kompakt kemiğin çevrelediği süngerimsi kemik bulunmaktadır. Diyafiz bölgesinin ise neredeyse tamamı kompakt kemikten oluşmakta ve bu bölgede de kemik iliği boşluğunu çevreleyen ince bir süngerimsi kemik bulunmaktadır. El ve ayak bileği kemikleri gibi kısa kemiklerin ortasında kompakt kemiğin çevrelediği süngerimsi kemik bulunmaktadır. Kafatası kemikleri gibi yassı kemiklerde diploe adı verilen süngerimsi kemik tabakası orta hatta bulunmakta, bunun altında ve üstünde plak adı verilen kompakt kemik kısımları bulunmaktadır [15].

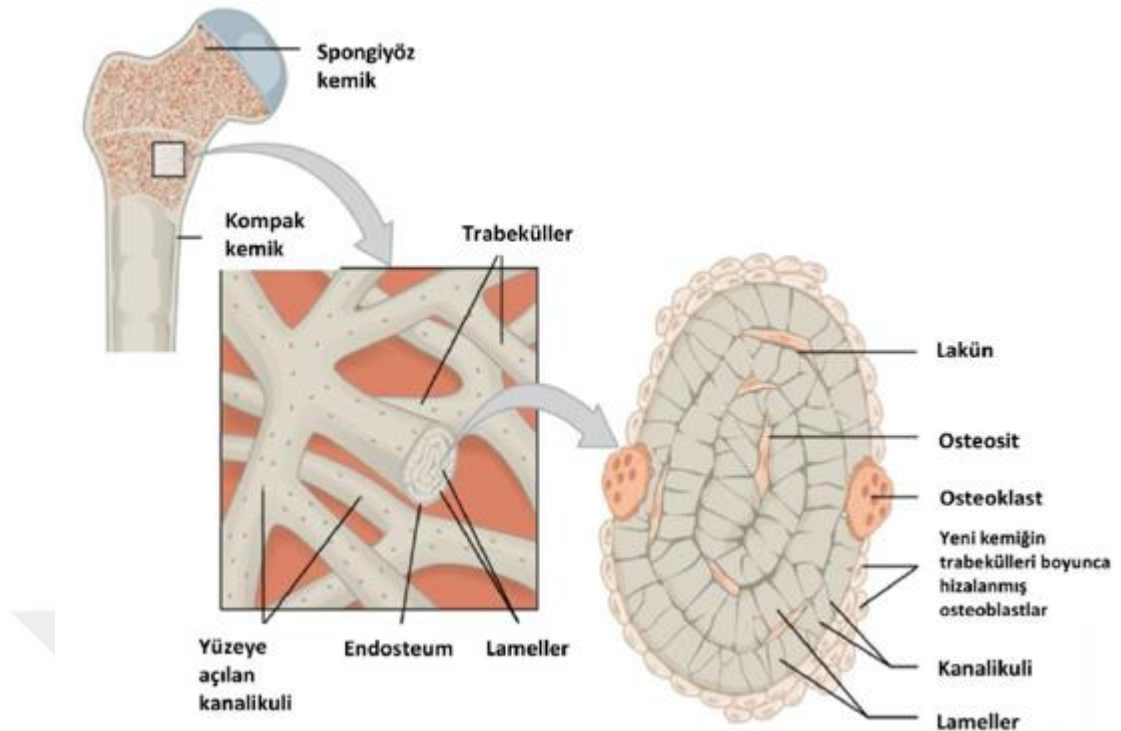
Kompakt kemiklerde kemiğin uzun eksenine paralel uzanan kanallar bulunmaktadır. Bu kanallara havers kanalları adı verilir. Havers kanalları içerisinde

bağ dokusu tarafından çevrelenen nörovasküler yapılar bulunmaktadır. Bu kanallar mikroskopik olarak incelendiğinde lamellerden, hücrelerden ve matriks dokusundan oluştuğu gözlenir. Havers kanalları etrafındaki lameller ile birlikte kemiğin yapısal birimi olan osteonları oluşturur. Havers kanalları longitudinal uzanmakta olup yan kanallar ile periosteum ve kemik iliği ile bağlantı kurarlar. Bu yan kanallara Volkmann kanalları adı verilir. Havers kanalları içerisindeki vasküler yapılar volkmann kanalları ile diğer vasküler yapılar ile bağlantılıdır. Vasküler yapılar kapiller, postkapiller venüller ve az sıklıkta da arteriollerden oluşurlar. Sert bir yapıya sahip olan kemik dokusu bu kanallar vasıtasıyla metabolit alışverişini tüm hücrelere ulaştırır [17] (Şekil 3).



Şekil 3. Kemiğin Mikroskopik Yapısı

Spongiyöz kemik dokusu bol boşluklu ve peteğe benzer görünümü olan içerisinde kemik iliğini barındıran kemik dokusudur. Bu kemik dokusu daha sık olarak uzun kemiklerin epifiz bölgesinde bulunur. Destekleyici işlevleri, kompresyon yükleme tipinin baskın olduğu yerlerde oluşur (örneğin; vertebra gövdelerinde). Böylece kemik dokunun sağlamlığı artmaktadır. Spongiyöz kemiğin iç hüzmeleri üç boyutlu olarak stres yönünde dizilim gösterdiği için sayısı değişir, kemik maruz kaldığı strese karşı yeniden şekillenmiş olur. Bu olaya Wolff yasası denir [18] .



Şekil 4. Spongilyöz Kemiğin Yapısı

Kemik yapısı mikroskopik olarak gözlemlendiğinde hem süngerimsi kemiğin hem de kompakt kemiğin 2 farklı organizasyon içerdiği görülür. Olgun lamellar kemik matriksi ayırık tabakalar halinde bulunur. Örgü kemikte ise yeni oluşmuş rastgele dizilim bileşenleri bulunur.

2.2.1. Lamellar Kemik

Erişkin kemiklerin çoğu ister kompakt kemik isterse süngerimsi kemik olsun 3-7 µm kalınlıkta kalsiyum çökmüş matriks lamellerinden ya da tabakalarından oluşan lameller kemik şeklinde düzenlenmektedir. Lameller birbirine paralel olarak düzenlendiği gibi bir kanal etrafında da üst üste sıralanabilirler. Lameller içerisinde tip 1 kollajen bulunur. Bu kollajen lifler lamel içerisinde birbirine paralel olarak sıralanır. Bir diğer lamelde ise kollajen liflerin yönü ortogonal olarak 90 derece yön değiştirir. Tip 1 kollajenin lameller içindeki düzenli dizilimi sayesinde kemiğe dayanıklılık kazandırılmış olur. Osteon ya da havers sistemi içerisinde gevşek bağ dokusu, nörovasküler yapılar ve endosteumun olduğu kanal ve etrafında 100-250 µm kalınlıkta lameller kompleksine verilen addır. Ardışık lameller arasında laküna adı verilen boşluklar içinde osteositler bulunur. Osteositler, dentritik benzeri

uzantılarının içerisinde bulunduğu kanalcıklar vasıtasıyla birbirleri ile iletişim kurarlar. Dentritik benzeri uzantılar arasında aralıklı bağlantılar bulunur. Osteon yapısında bulunan her bir hücre besin, oksijen ihtiyacını ve alış verişini kanal sistemi içerisinde bulunan damarlardan sağlar. Osteonların etrafı sement çizgisi adı verilen yapısı mineralden, kollajenden ve kollajen olmayan proteinlerden oluşan dış tabaka ile çevrilidir [15]. Osteonlar silindirik şekilli olup kemiğin uzun eksenine paralel olarak uzanırlar. Merkezi kanal sistemleri birbirleriyle periosteumla ve de kemik iliğiyle yatay delici kanallar (volkmann kanalları) ile bağlantı kurarlar. Yatay kanallar etrafında birkaç adet halkasal lamel bulunur. Merkezi kanallar ve yatay kanallar daha önceden bu bölgede bulunan bir damarın etrafında matriksin birikmesi ile oluşurlar. Bütünlüğü korunmuş osteonların arasında düzensiz dağılımı olan ara lameller (interstisyel lameller) bulunmaktadır. Bunlar kemik büyümesi ya da yeniden şekillenmesi sırasında osteoklastlar tarafından yıkılan osteon kalıntılarıdır. Kompakt kemikte dış dairesel lameller ve iç dairesel lameller bulunur. Dış dairesel lameller periosteuma yakındır. İç dairesel lameller ise kemik iliği boşluğuna yakındır. Bu lameller osteonları içerden ve dışarıdan sararak orta bölümün sağlamlığını artırır. Kemiğin yeniden şekillenmesi insan hayatı boyunca sürmektedir. Sağlıklı bir erişkinde kemiğin %5-10'u bir yıl içerisinde yenilenmektedir.

2.2.2. Örgü (Woven) Kemik

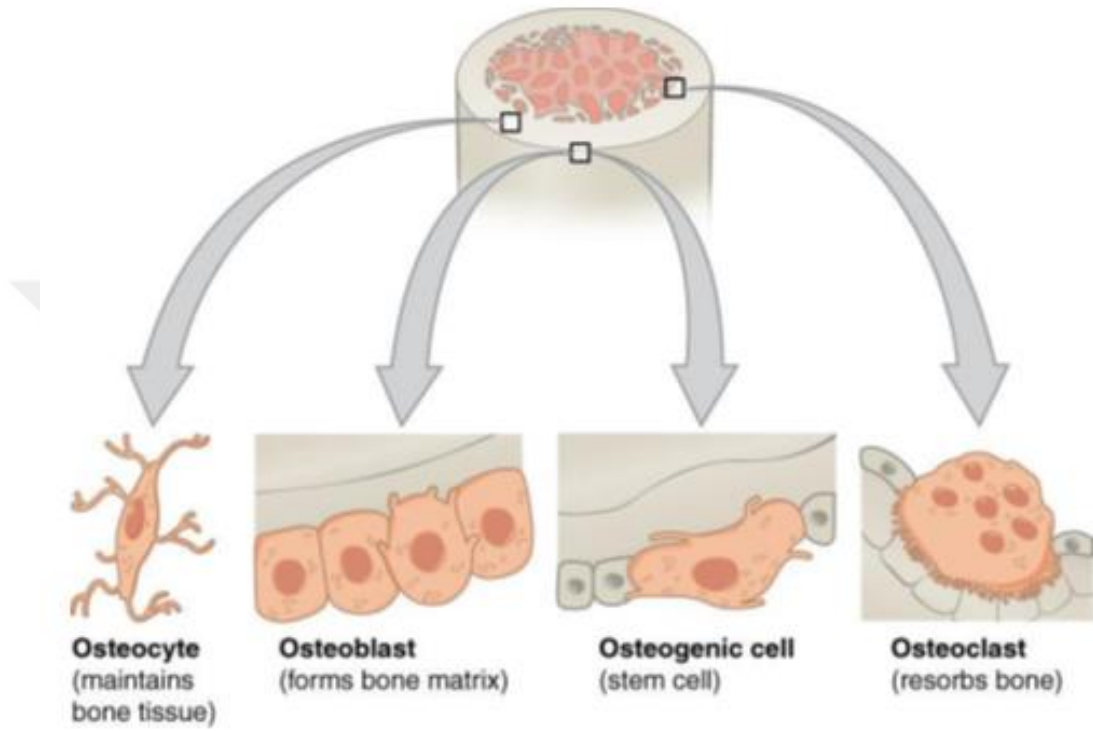
Kırık iyileşmesi sırasında ve embriyonik gelişimde ortaya çıkan ilk kemik dokusu olup lamel içermemektedir. Tip 1 kollajen liflerin düzensiz yerleşimi ile ayırt edilmektedir. Örgü kemik genellikle geçicidir ve yerini lameller kemiğe bırakır. İnsan vücudunda kafatası sütürlerinde ve tendonların kemiğe yapışma bölgelerinde bulunmaktadır. Kollajen dağılımı düzensiz, mineral içeriği az ve osteosit içeriği açısından lameller kemiğe göre daha zengindir. Bu özellikler sebebiyle örgü kemiğin hızlı olduğu anlaşılmaktadır. Örgü kemik lameller kemiğe göre daha az dayanıklıdır.

2.2.3. Kemik Hücreleri

Kemik dokusunda 4 tip hücre bulunmaktadır [19] (Şekil 5).

- Osteoblastlar

- Osteositler
- Osteoklastlar
- Osteoprogenitör hücreler



Şekil 5. Kemik Hücreleri

2.2.3.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kübik ya da alçak prizmatik şekilli olup kemik dokusu matriksinin sentezlenmesinde görev alırlar. İri çekirdekleri bulunan, sitoplazması bazofilik boyanan, gelişmiş golgi aygıtları ve endoplazmik retikulumları bulunan, sitoplazmasında lipid damlacıkları ve lizozomal benzeri yapılar olan hücrelerdir. Hücrelerarası iletişim kısa çıkıntılar aracılığıyla sağlanmaktadır. Osteoblastlar kuvvetli PAS pozitif reaksiyon verirler. Bu hücrelerde alkalen fosfataz enzimi bulunmaktadır. Alkalen fosfataz enzimi hem matriks yapımında hem de kalsifikasyonda görev alır. Alkalen fosfataz fosfatın hidrolizini sağlar ve

sonrasında dokuda artan lokal inorganik fosfat konsantrasyonu kalsiyum iyonları ile birleşerek kalsiyum tuzları olarak çöker. Kemik oluşum hızı ölçümünde kanda Alkalen fosfataz tayininden faydalanılmaktadır. Osteoblastlar; tip 1 kollajen

sentezinde, osteonektin benzeri glikoproteinlerin ve proteoglikanlar gibi organik matriks bileşenlerinin sentezi ve salgılanmasında görev alırlar. Sentez özelliklerini kaybeden osteoblastlar matriks içerisindeki lakünelarda osteositlere dönüşürler.

2.2.3.2. Osteositler

Osteoblastların çoğu salgıladıkları matriks ile çevrilir ve zamanla matriksin mineralize olması ile lakünelar içerisinde osteositlere dönüşürler. Osteoblastlar, osteositlere dönüşme aşamasında etrafı mineralize matriks ile çevrili dentritik uzantılar oluştururlar. Dentritik uzantılar, lakünelardan ışınal tarzı uzanan 250-300 nm çapındaki çok sayıda kanalcıklar içerisine yerleşirler. Osteositler kan damarları ile metabolit alışverişini kanalcıklar içerisindeki matriks ve dentritik uzantılar arasındaki az miktarda hücrelerarası sıvı ile sağlarlar. Osteositler diğer osteositlerle, osteoblastlarla ve kemik yüzeyini örten hücrelerle dentritik uzantılardaki aralık bağlantıları yoluyla bağlantı kurarlar. Yassı şeklinde olan osteositler osteoblastlar ile kıyaslandıklarında daha az granüllü endoplazmik retikulum ve golgi oranına fakat daha yoğun kromatin ağına sahiptirler. Kemik matriksinin düzenlenmesini sağlayan osteositler kemik matriksinin birçok aktivitesini osteoblastlarla paylaşırlar. Kemikğin yeniden şekillenmesinde endokrin ve parakrin etki sağlayan proteinleri ifade ederler. Sahip oldukları lakünelar ve kanalcık sistemleri sayesinde kemikte oluşan mikrohasarın algılanmasında sonrasında iyileşme için osteoklastların ve osteoblastların tetiklenmesinde işlev görürler. Osteositlerin ölümü sonrasında kemik matriksinde erime izlenir.

2.2.3.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok çekirdekli ve hareketli hücrelerdir. Osteoklastların çok sayıda ve farklı kalınlıkta olan şekilsiz uzantıları mevcuttur. Bu hücreler kemik rezorbsiyonundan sorumlu olup rezorbsiyonun başladığı bölgelerde enzimatik faaliyetlerle oluşmuş hawship laküneları içerisinde bulunurlar. Monositlerin birleşimi ile oluşan osteoklastlar mononükleer fagositik sistemin bir parçasıdır. Osteoklastlar asidofilik boyanan sitoplazmaya sahiptirler. Kemik matriksine bakan yüzeyleri girintili çıkıntılı, farklı uzunlukta ve kalınlıkta fırçası kenarlara sahiptir. Bu sayede enzimatik faaliyet için gerekli yüzey alanı artmış olur. Sitoplazmalarında bol miktarda lizozom, polizom ve mitokondri bulunur. Gelişmiş golgi kompleksleri

mevcuttur. Kalsiyum içeren kristallere sitoplazmik vakullerde rastlandığı gibi uzantılar arasında da rastlanır. Osteoklastlar matrikse asit, proteolitik enzimler ve kollejenazları salgırlar. Kalsifiye olmuş matriksi serbest hale getirir. Kemik rezorbsiyonu sırasında oluşan atık maddelerin ortamdan uzaklaştırılmasında da görev üstlenirler [20]. Osteoklastlar hormonlar tarafından da uyarılırlar. Parathormon bu hücrelerde RNA sentezini artırırken kalsitonin ise azaltmaktadır. Osteoklastlar kemik rezorbsiyonunda ve remodelingte etki gösterir. Bu görevini osteoblastlar ile uyum içerisinde çalışarak yerine getirirler. Osteoklast gelişimi için ihtiyaç duyulan iki polipeptit osteoblastlar tarafından üretilir. Bunlar M-CSF (Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör) ve RANKL (Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa Ligandı)'dır [19].

2.2.3.4. Osteoprogenitör hücreler

Osteoprogenitör hücreler kemiğin ana hücreleridir ve mezenşim kökenli hücrelerdir. Endosteumda, periosteumun iç yüzeyinde ve havers kanallarında bulunurlar. Sitoplazmaları asidofiliktir ve nükleusları ise soluk boyanır. Mitoz ile çoğalarak olgun kemik hücrelerine farklılaşırlar. Kemik büyümesinde, kırık iyileşmesinde, kemik hasarında mitozla çoğalarak osteoblastlara farklılaşırlar.

2.2.4. Kemik Matriksi

Kemik matriksi organik ve inorganik olmak üzere iki bölüme ayrılır [21].

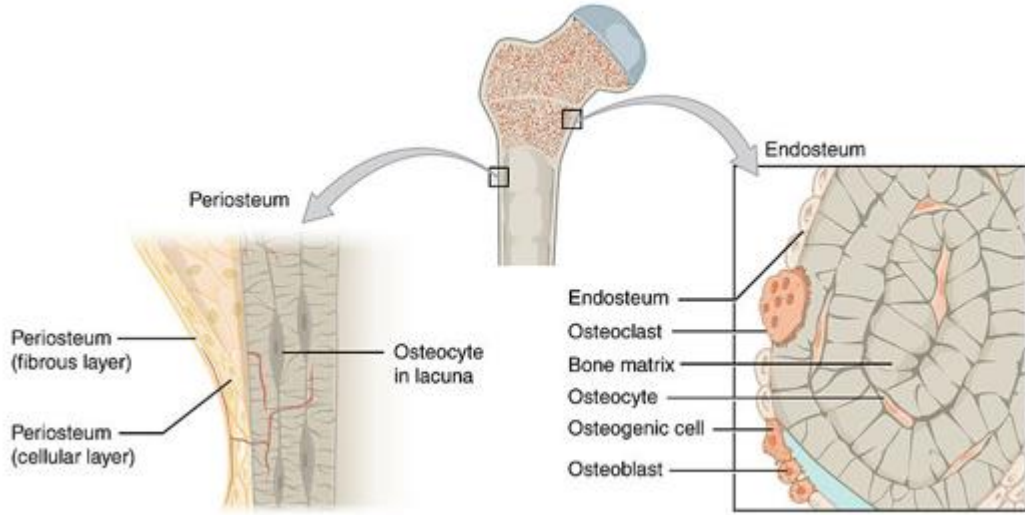
Organik matriks; kollajen (çoğunlukla tip1), lipid, protein ve glikozaminoglikanlardan oluşan temel maddeden oluşur. Kemik dokuda lifler birbirlerine paralel sıralanırlar ve belirli aralıklarla aralarında porlar bulunmaktadır. Lifler arasında kemiğe sertliğini veren hidroksiapatit kristalleri bulunmaktadır. Kemik matriksi asidofilik boyanmaktadır. Organik matriks kollajen liflerinden zengin olması sebebiyle bu liflere yönelik boyalarla boyanabilmektedir. Histolojik incelemelerde kemik dekalsifikasyon işlemine tabi tutulduğunda inorganik tuzlar ortamdan ayrılacağından kemik yumuşar fakat mikroskobik yapısını, şeklini ve sağlamlığını korur. Eğer kemik dokuya histolojik inceleme için maserasyon işlemi yani organik maddeleri ortamdan uzaklaştırmaya yönelik bir işlem uygulanırsa kemiğin esnekliği ve sağlamlığı bozularak kolay kırılır hale gelir. Kemiğin organizma için fonksiyonlarını yerine getirebilmesi matriksin organik, inorganik elemanlarının uyum içinde çalışmasına bağlıdır [19].

İnorganik matriks; kemiğin kompresif gücünü sağlayan kalsiyum hidroksiapatit ve kalsiyum fosfattan oluşur. Hidroksiapatit kristallari kollajen ile birlikte kemiğin sertliğini ve dayanıklılığını sağlar. Kemiğin kuru ağırlığının yaklaşık %50'sini inorganik bölüm oluşturur [22].

2.2.5. Periosteum ve Endosteum

Periosteum bağ dokusundan yapıli tabaka olup eklem yüzeyleri haricinde kemik dokuyu dış yüzeyinden örter. Kemiğe destek yapı olmasının yanında kemiğin gelişiminde, büyümesinde ve tamir işleminde görev alır. Periosteum yapısında elastik lifler ve kollajen bulunmaktadır. Periosteumun kemik dokuya bağlanmasını Sharpey lifleri adı verilen kollajenler sağlar. Bu lifler kemik dokusu matriksi içine girerek periosteumun kemiğe bağlanmasını sağlar [23]. Periosteumdaki kan damarları dallanarak kemik içine ilerler ve kemiğin beslenmesini, metabolitlerin kemik hücrelerine ulaşımını sağlar. Periosteumun iç bölgesinde osteoblastlar, osteoprogenitör hücreler ve kemiği örten hücrelerden oluşan hücre içeriği yoğun olan bir tabaka bulunmaktadır. Bu sayede kemiğin büyümesi ve tamirinde önemli bir role sahiptir. Periosteum kırık kallusu oluşumunda rol alır.

Endosteum ise periosteumdan daha ince olup kemik iliği boşluğunu ve kompakt kemik kanal sistemini örter. Bu tabakanın hem kemik doku hücrelerini hem de hematopoetik hücreleri yapabilme yeteneği bulunmaktadır. Kemiğin bazı boşluklarını ve yüzeylerini örten bu iki tabakanın içerdiği hücreler ve fonksiyonları sebebiyle zedelenmesi ya da zarar görmesi, kemik için yaşamsal öneme sahip fonksiyonların da zarar görmesine sebep olur [23] .



Şekil 6. Periosteum ve Endosteum

2.2.6. Kemik Gelişimi (Osteogenez)

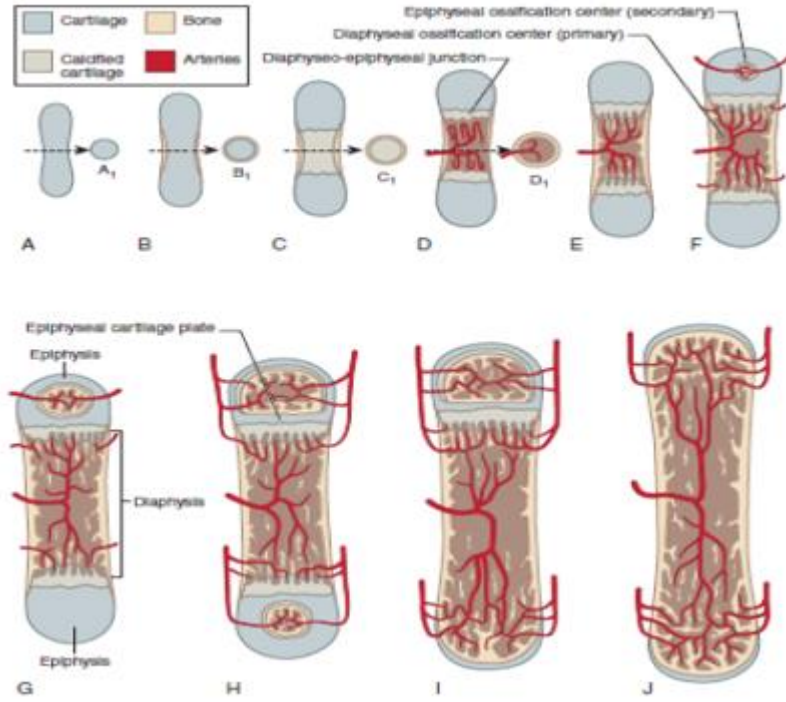
Kemik gelişimi intramembranöz kemikleşme ve endokondral kemikleşme olarak iki şekilde gerçekleşmektedir. Bu iki kemik gelişimi türünde de önce örgü kemik yapısı oluşur ve sonra yerini lamellar kemiğe bırakır. Bütün kemiklerin büyümesi esnasında lamellar kemik alanları, süngerimsi kemik alanları ve kemik emilim alanları komşuluk halinde bulunurlar.

İntramembranöz kemikleşmede kıkırdak dokudan kemik dokuya dönüşüm yoktur. Kemiklerin embriyodaki mezenşimal bağ dokusundan doğrudan kemik haline dönüşmesidir. Bazı yüz ve kafatası kemiklerinin gelişimindeki doğal süreç olmasının yanında, kırık iyileşmesi sırasında eğer rijit fiksasyon sağlanırsa, mezenkimal öncü hücreler intramembranöz kemikleşmeyle doğrudan kemik oluşturucu osteoblastlara dönüşürler [24]. Mezenkimal hücrelerden farklılaşan osteoblastlar kemik matriksi salgırlar. Oluşan primer kemik spikülleri ve trabekülleri anastomoz yaparak ağı kemik dokuyu oluşturur. Osteoblastlar, ürettiği kemik matriks mineralize olduktan sonra osteosit dönüşür ve matriks içinde organize olur. Kalsifiye olmayan iç ve dış kısımlarda mezenkimal doku periosteum ve endosteuma dönüşür. Kollajen ve matriks evresinde osteoblastik aktivite ile primer kansellöz kemik şekillenir. Bu dönemde lamelsiz kemik yapısı hakimdir. Ara madde kalsiyum çökeltilerinden izoledir ve osteoid doku hakimdir. Daha sonraları kalsifikasyon şekillenir ve osteoblastlar lakunalar içerisine yerleşirler. Bu aşamadan sonra endokondral kemikte olduğu gibi kansellöz kemik şekillenir ve mezenkimal bağ doku kırmızı kemik

iliğine diferansiye olur. Kompakt kemikte de endokondral kemikleşmede olduğu gibi damarlar bağ dokusu ve haversian kanallar oluşurlar. Embriyonik yassı kemik oluşumu ve distraksiyon osteogenezis tipi kemik oluşu bu şekilde gerçekleşir. Özetle intramembranöz kemikleşme mezenkimal hücrelerin yüzey boyunca yerleşmesi ve direkt osteoblastlara dönüşmesi, osteoblastlardan organik matriks üretilmesi sonrası kemik oluşum şeklidir.

Enkondral kemikleşme ise kemiğin şeklini andıran bir hiyalin kıkırdak dokusu içerisinde kemikleşmesidir. Vücutta bulunan kemiklerin büyük bir bölümü endokondral kemikleşme ile kemikleşme sürecini tamamlarlar. Bu kemikleşmede ilk kemikleşme kıkırdak şablon diyafizinde perikondriumdan farklılaşan osteoblastların bulunduğu kemik tasma içerisinde oluşur. Bu kemik tasma altında bulunan kıkırdak dokusuna difüzyon ile besin ve oksijen geçisini engelleyerek kondrositlerin şişmesine, hipertrofiye olmasına, matriksin sıkışmasına ve bu bölgede osteokalsin ve alkalen fosfataz sentezlenerek kalsifikasyona sebep olur. Hipertrofiye olan kondrositlerin ölümü ile birlikte matriks içerisinde boş alanlar oluşur.

Perikondriumdan gelen ve kemik tasmayı geçen kan damarları içerisindeki osteoprogenitör hücreler bu boşluklar içerisine yerleşir. Damarlanmanın artması ile birlikte osteoblastlar her köşeye dağılırlar ve örgü kemik dokusunu oluştururlar. Bu süreçte kıkırdak bazofilik yeni oluşan kemik dokusu ise asidofilik boyanır. Diyafizde oluşan bu süreç genellikle ilk trimesterde başlar ve bu merkeze birincil kemikleşme merkezi adı verilir. İkincil kemikleşme merkezi ise epifiz bölgesinde oluşur. Bu merkezler içerisinde büyümeleri aşamasında içerisinde kemik iliği boşlukları ve süngerimsi kemik trabekülleri oluşur. Birincil ve ikincil kemikleşme merkezlerinden geriye iki kıkırdak dokusu kalır. Bunlardan birincisi eklem kıkırdağıdır ki insan yaşamı boyunca kalır. Diğeri ise epifizi diyafize bağlayan epifiz kıkırdağıdır. Bu kıkırdak dokusu uzun kemiklerin büyümesini sağlar (Şekil 7).



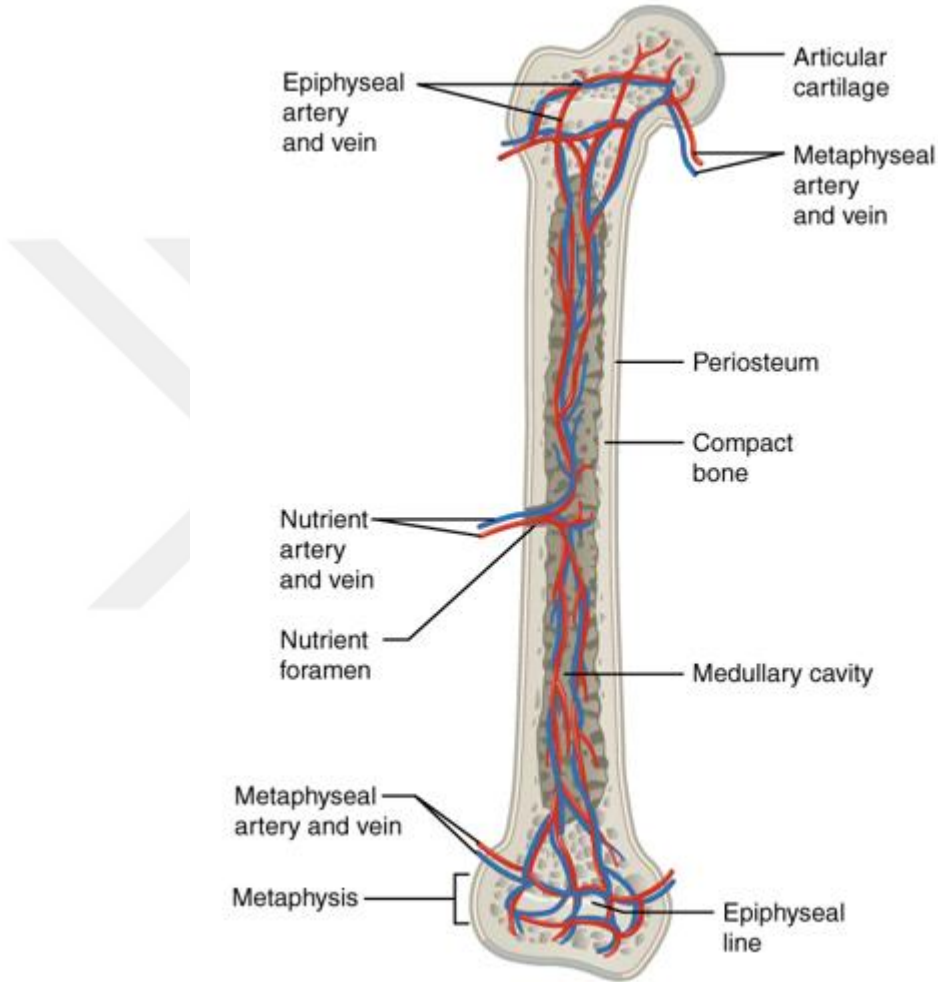
Şekil 7. Enkondral Kemikleşme

2.2.7. Kemiğin Beslenmesi

Bir organ olarak kemikler kardiyak out-put'un %5-10'unu alırlar. Kemiğin kanlanması; besleyici arter sistemi (iç 2/3 lük kısmın yüksek basınçlı sistemi), metafizyel-epifizyel sistem ve periosteal sistem (dış 1/3 lük kısmın düşük basınçlı sistemi) tarafından sağlanır (Şekil 8). Besleyici arterler ana sistemik arterlerden köken alır. Diyafizial kortekste bulunan foramen nutrisiyadan girerek medüller kanalda inen ve çıkan küçük arterlere dallanır. Havers sistemi içindeki damarlar aracılığıyla olgun diafiz korteksinin en az üçte ikisini besler. Besleyici arter sistemi yüksek basınçlıdır. Metafizyal-epifizyal damar sistemi eklem çevresi vasküler pleksuslardan doğar. Periosteal damar sistemi ise primer olarak olgun diyafizyal korteksin en çok dış üçte birini besleyen kapillerlerden oluşur. Bu sistem düşük basınçlıdır. Kemiğin sıvı bileşenlerinin %65'i ekstrasvasküler alanda, %12'si haversiyen ve laküner alanda, %3'ü kırmızı kan hücrelerinde ve %20'si diğer alanlardadır [25].

Spongiyöz kemik ve medüller kavite, kompakt kemiğin içinden geçen arterlerden beslenir. Arterler besleyici foramenlerden, diyafizdeki küçük deliklerden geçer. Spongiyöz kemikteki osteositler, kemiğe nüfuz eden ve kemik iliği

boşluklarında dolaşan kanın içine giren periosteumun kan damarlarıyla beslenir. Kan, kemik iliği boşluklarından geçerken, damarlar tarafından toplanır, bu daha sonra foramen vasıtasıyla kemikten çıkar. Kan damarlarına ek olarak, sinirler kemiğin metabolik olarak daha aktif bölgelerinde yoğunlaşma eğilimi göstererek aynı yolları izler. Sinirler ağrıyı hisseder, ayrıca sinirler kan dolaşımını düzenlemede ve kemik büyümesinde rol oynar [26].



Şekil 8. Kemiğin Kanlanma Şeması

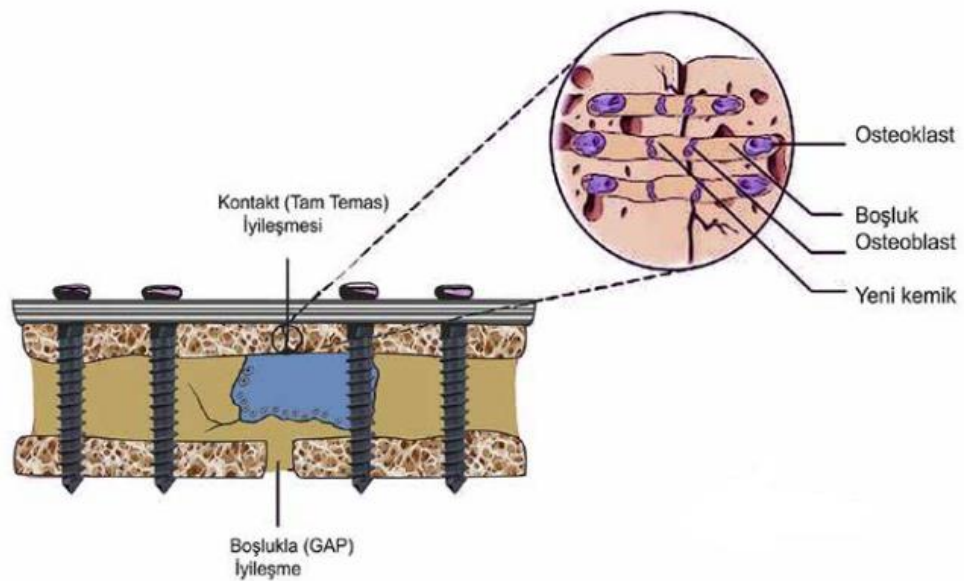
2.3. KIRIK İYİLEŞMESİ

Kırık; dıştan veya içten gelen zorlanmalarla kemiğin yapısal bütünlüğünün bozulmasıyla meydana gelir. Kırık iyileşmesi kemik hasarına ya da yaralanmasına bağlı olarak en uygun iskelet fonksiyonlarının yeniden kazanılmasını sağlayan iyi organize olmuş ve karmaşık bir tamir sürecidir. Kemik doku diğer birçok dokudan farklı olarak biyokimyasal ve biyomekanik olarak tamamen yeniden şekillenme ile

ve bu şekillenme olurken skar dokusu oluşmadan iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu anda başlar ve kırık uçları arasının düzenli kemik dokusu ile birleşmesine kadar sürer [27]. Kırık iyileşmesi, kemiğin kırık öncesi durumu sağlanana dek birbiriyle ilişkili, farklı ve karmaşık olaylardan oluşur. Bu süreç birçok hücre tipinin tamire katıldığı bir embriyonik gelişim sürecine benzemektedir. Kırık iyileşmesine periost, korteks, kemik iliği ve çevre yumuşak dokular dahil olurlar. Bu süreçte kemik iliği kaynaklı hematopoetik hücreler, immün hücreler ve etraf dokulardan kaynaklı mezenşimal hücreler gözlenirler [28]. Kemikte direkt (primer) iyileşme ve indirekt (sekonder) iyileşme olmak üzere 2 tip iyileşme mekanizması gözlenir [26].

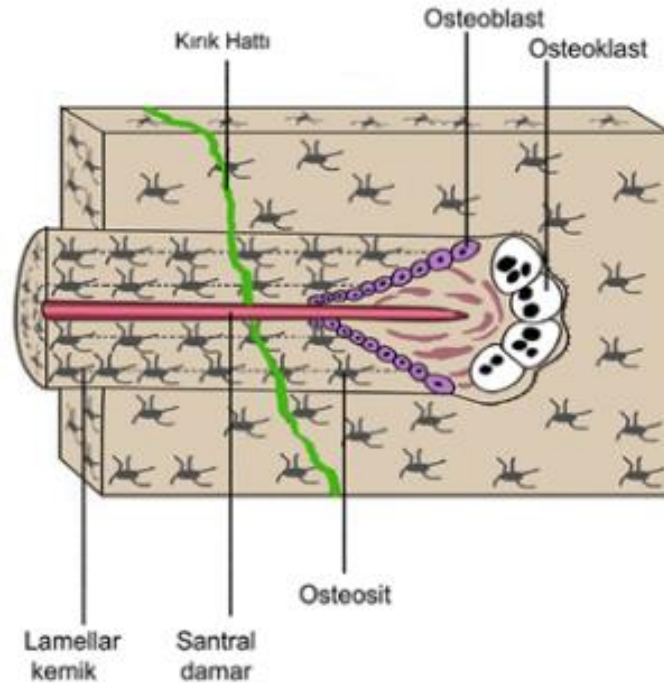
2.3.1. Doğrudan / Direkt (Primer) İyileşme

Kırık iyileşmesinin doğal süreci göz önünde bulundurulduğunda primer iyileşme nadir görülmektedir. Kırık kemik parçaları arasında hareketin olmadığı, tam anatomik redüksiyonun olduğu, kemik kanlanmasında bozulmanın olmadığı, osteoblast ve osteoklast aktivitesi ile oluşan kallus dokusunun oluşmadığı iyileşme türüdür. Kırığın primer iyileşmesi tam denge ya da rijit tespitin olduğu durumlarda görülür. Kırık uçları arasında damarlanma ve havers kanallarının oluşumu kallus formasyonu oluşmadan meydana gelir. Primer kemik iyileşmesi, tam temasta (kontakt) kemik iyileşme ve minimal boşluktaki (gap) iyileşme olarak iki şekilde görülür (Şekil 9). Bu iki iyileşme türünde de anatomik olarak düzgün şekilli ve biyomekanik olarak dayanıklı lameller kemik oluşur [29].



Şekil 9. Primer Kemik İyileşmesinin Tipleri

Primer kemik iyileşmesinde kırık fragmanları arası mesafe 0,01 mm den küçükse fragmanlar arası gerim % 2'den az olur ve kontakt iyileşme gözlenir. Kırığa yakın olan bölgelerdeki osteonların uç kısımlarında cutting cone (kesici konik uç) adı verilen üniteler bulunmaktadır (Şekil 10). Bu ünitelerin tepe noktalarında bulunan osteoklastlar günde 50-100 mikrometre ilerleyerek nekrotik alanları temizlerler ve arkadan gelen vasküler yapılara ve osteoprogenitör hücrelere yol açmış olurlar. Bu ünitenin arkasında bulunan osteoblastlar ise kemik matriksi ve havers sistemlerini oluştururlar. Havers sistemlerinin kanlanması ile birlikte bölgeye mezenşimal hücreler gelir. Köprüleşen osteonlar olgunlaşır, yeniden şekillere lameller kemik oluşur. Böylece periosteal kallus dokusu oluşmadan primer kemik iyileşmesi gerçekleşmiş olur [30].

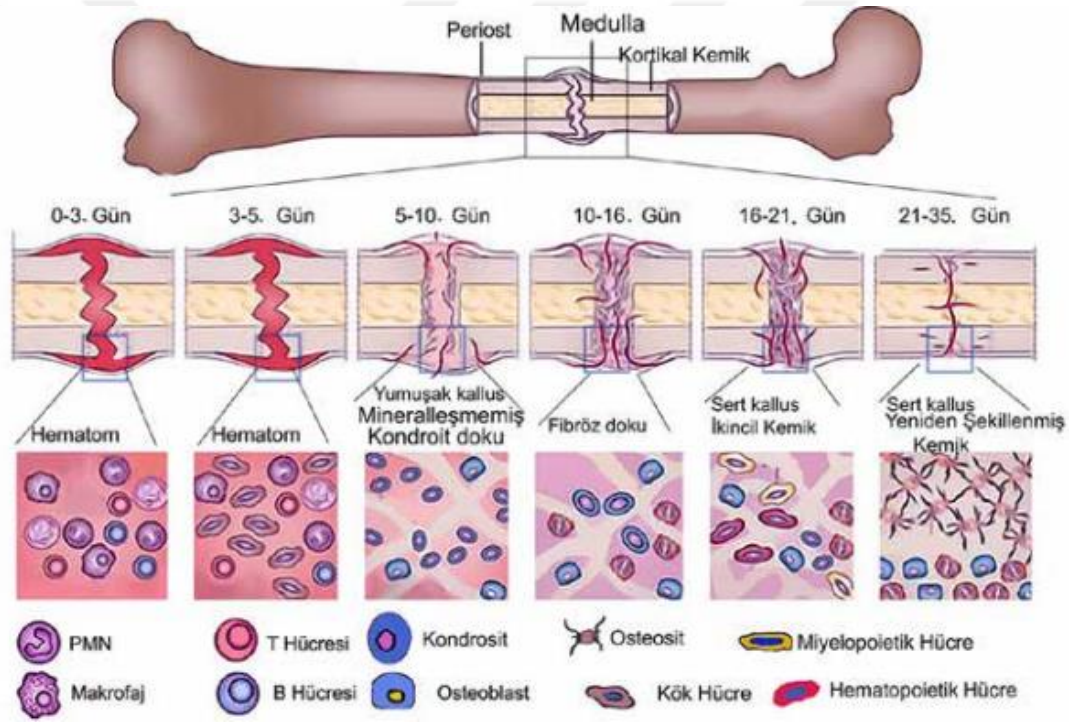


Şekil 10. Primer Kemik İyileşmesindeki Tam Temas

Primer kemik iyileşmesinde kırık fragman parçaları arasındaki mesafe 800 μm -1 mm'den az mesafede ise boşlukla (gap) iyileşme gözlenir. Kırık hattında kemiğin uzun aksına dik lameller kemik oluşumu olur ve bölgede osteoprogenitör hücreler içeren vaskülerize osteonlar oluşur. Bu aşama 3-8 hafta sürer ve sonrasında yeniden şekillenme meydana gelir. Anatomik ve biyomekanik yeterlilik için bu yeniden şekillenme gereklidir [30].

2.3.2. Dolaylı / İndirekt (Sekonder) İyileşme

Birçok kırık iyileşme sürecinde sekonder kırık iyileşmesi izlenir. Kırık fragmanlarının uçları arasında hareket olduğu zaman önce yumuşak kallus ardından da sert kallus dokusu oluşur. Subperiosteal alanda intramembranöz kemikleşmeye bağlı olarak medüller sert kallus oluşurken periost dışında ve kırık uçlarında endokondral kemikleşmeye bağlı olarak yumuşak kallus oluşur. Primer kemik iyileşmesinin aksine sekonder kemik iyileşmesinde dengesiz ya da esnek tespit mevcuttur ve kallus dokusu oluşumu gözlenir. Sekonder kırık iyileşmesinde inflamasyon fazı, onarım fazı ve yeniden şekillenme fazı olmak üzere 3 faz izlenir [22] (Şekil 11).



Şekil 11. Sekonder Kemik İyileşmesinin Aşamaları

İnflamasyon Fazı

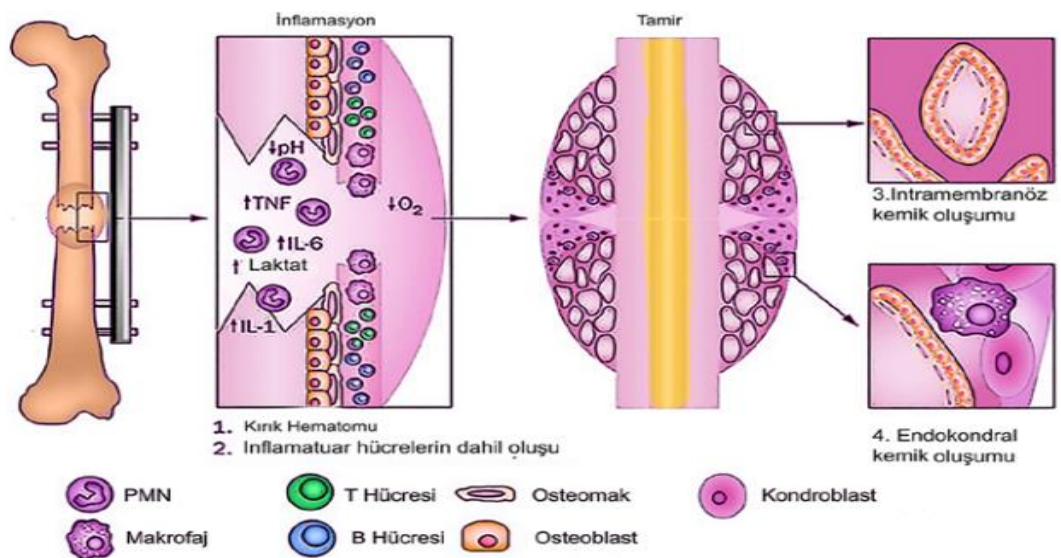
Travmaya bağlı kırık sonrasında hem çevresel hem de intramedüller kanama oluşur. Bu kanamaya bağlı oluşan hematoma içerisinde kemik iliği hücreleri bulunur ve hematoma oluşumu ile inflamasyon süreci de başlar. İnflamasyon yanıtının başlamasıyla hematoma da koagülasyon meydana gelir ve fibrin oluşur. Bölgede oluşan fibrin onarımdan sorumlu hücrelerin migrasyonunu kolaylaştırır ve

trombositler tarafından büyüme faktörleri salınır. Kırık bölgesindeki hematoma bu yönüyle bölgedeki hematopoetik hücrelerin ve büyüme faktörlerinin kaynağını oluşturur. Kırık bölgesindeki hasar görmüş osteositler ve hasar görmüş matriks sebebiyle inflammatuar mediyatörler (TNF- α , TGF- β , IL-1 β , IL-6, IL-17F, IL - 18 ve IL-23) salınır [31]. Bu inflammatuar mediatörler vazodilatasyona ve PMNL, makrofaj, lenfosit gibi inflammatuar hücrelerin bölgeye gelmesine sebep olur. İnflammatuar sitokinlerin uzun süreli salınımının kırık iyileşmesi üzerinde olumsuz sonuçlarının olduğu bilinmekle birlikte kısa süreli kontrollü salınımı sonucu oluşan inflamasyon yanıtı ise kırık iyileşmesinde önemli bir role sahiptir. İlk 24 saatte inflammatuar yanıt en yüksek seviyeye çıkar ve 7. Güne kadar devam eder. İlk aşamada TNF- α , IL-1, IL-6, IL-11, IL-18 yükselir. TNF- α ilk 24 saatte en yüksek seviyeye çıkar ve 3. gün tekrar normal seviyeye geriler. TNF- α kemotaktik etkisi ile sekonder inflammatuar etkiye sebep olur. Kırık iyileşmesinde birçok inflammatuar mediatörün önemli bir etkisi vardır, fakat bu süreçte IL-1 ve IL-6 önemli kritik bir role sahiptir. Makrofajlarla IL-1 düzeyinin artması; osteoblastlardan IL-6 salınımının artmasına, kırıkta kallus oluşumunun uyarılmasına ve IL-1, IL-2 reseptörlerinin uyarılarak anjiogenezin uyarılmasına sebep olur. Akut fazda artan IL-6 seviyesi VEGF üzerinden damarlanma artışına ve osteoblast, osteoklast farklılaşması üzerinde uyarıcı etkiye sebep olur. İnflamasyon fazında nekrotik ve hasarlı dokular bölgeden temizlenir, inflammatuar hücrelerden salınan sitokinler aracılığıyla bölgede anjiyogenez uyarılır [32].

Onarım Fazı

Onarım fazı kırık iyileşmesi sırasında en önemli fazdır. İlk aşamada kırık hematoma organize olur. Kırık bölgesinde lokal mekanizmalarla aktive olan öncü hücreler; hücrelerarası madde sentezlenmesi, vaskülarizasyon, destek hücrelerin oluşması için farklılaşmaya ve organize olmaya başlarlar. Kimyasal, biyomekanik ve elektriksel faktörler kırık hattındaki hücrelerin aktifleşmesinde uyarı oluştururlar. Onarım evresi kırık sonrasında hemen başlamasına rağmen yapısal olarak tipik hale gelmesi yaklaşık 7-12 gündür. Bu mekanizmada aktif role sahip hücreler mezenkimal kökenli olan ve birçok yöne farklılaşma eğilimi gösteren pluripotent hücrelerdir. Bu hücrelerin köken aldıkları yerler çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusu, periosteumda bulunan osteojenik tabaka ve azınlıkta olarak da endosteumdur. İlk

değişime uğrayan hücreler kılcal damarlarla hematoma içerisine giren fibroblastlardır. Kırık oluşumunun 3. gününde bölgede yoğun miktarda mezenkimal hücre bulunmaktadır. Bu hücreler vasıtası ile kırık bölgesinde yumuşak bir granülasyon dokusu oluşur. Fibrin matrikste bulunan fibroblastlar, periosteal ve endosteal kökenli osteojenik hücreler çoğalıp farklılaşarak bu granülasyon dokusunu oluştururlar [21]. İyileşme sırasında BMP-2'nin mezenşimal hücrelerin çoğalmasına ek olarak hücrelerin farklılaşmasında ve migrasyonunda önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. BMP-2'nin segmental kemik defektlerinin iyileşmesinde uyarıcı etkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Sekonder iyileşme sırasında hem intramembranöz kemikleşme hem de endokondral kemikleşme görülmektedir (Şekil 12). Kırık uçları arasındaki merkezi bölgede ve periostemun dış bölgesinde endokondral kemikleşme olur. Fibröz dokulardan ve kırıkta zengin olan bu doku yumuşak kallus dokusudur. Zamanla bu bölgenin mineralize olması, vaskülarizasyon, kırıkta hücrelerin apoptozisi, osteoblastların çoğalması ve endokondral kemikleşme ile sert kallus dokusu oluşur. Yapılan hayvan deneyi araştırmalarında yumuşak kallus oluşumunun 7-9. günlerde olduğu ve matrikste tip 2 kollajen ile proteoglikan sentezinin arttığı izlenmiştir. Buna ilaveten kırık fragmanları arasında intramembranöz kemikleşme ile sert kallus oluşur. Mezenşimal hücreler osteoblastlara farklılaşarak direkt kemik dokusunu oluştururlar. TNF Beta kırıkta oluşumu ve endokondral kemikleşmeyi uyarırken, BMP-5 ve BMP-6 intramembranöz kemikleşmede görevli hücrelerin çoğalmasını sağlarlar [33].



Şekil 12. Sekonder İyileşmede İntramembranöz ve Endokondral Kemik Oluşumu

İyileşme sürecinin başarılı bir şekilde sonlanması için anjiogeneze ihtiyaç vardır. Damarlanmada VEGF ve anjiyopoetin rol oynar. İyileşmenin erken döneminde anjiyopoetin 1 ve 2 düzeyleri artar. VEGF, hipertrofik kondrositlerden ve osteoblatlardan salgılanarak endotelial mezenşimal hücrelerin çoğalmasına ve damar invazyonuna sebep olur. Böylelikle avasküler kırık dokusu vasküler kemik dokusuna dönüşür. Damarlanma sürecinde VEGF ve BMP sinerjik etki gösterirler. Mekanik uyarılar VEGFR-2 reseptörleri üzerinden damarlanma sürecine katkıda bulunurlar [34]. Kallus dokusundaki kondrositlerde bulunan kalsiyum granülleri ekstrasellüler matrikse çıkarak fosfat iyonları ile birleşir ve mineralizasyon başlar. Ardından apatit kristaller meydana gelir. Sert kallus meydana geldikçe mineralize olmuş kırık dokusu yerini örgü kemiğe bırakarak iyileşme dokusu mekanik olarak daha dayanıklı hale gelir. Onarım kırık fragman uçları birleşene kadar ve kortikal kemik devamlılığı sağlanana kadar devam eder [35].

Yeniden Şekillenme Fazı

Yeniden şekillenme döneminde kırık çevresindeki fazla kemik dokusu rezorbe olur, medüller kanal oluşur ve kemik dokusu normal yapısına geçer. Sert kallus dokusu dayanıklı olması ve stabiliteyi sağlamasına rağmen kemiğin normal biyomekanik özelliğini göstermez. Sert kallus dokusunun lameller kemik dokusuna geçişi yeniden şekillenme ile olur. Yeniden şekillenme onarım döneminin sonunda başlar ve yıllarca devam edebilir [36]. Sert kallus dokusunun osteoklastlar tarafından temizlenmesi ve osteoblastların lameller kemik üretimi bir denge içerisinde devam eder. Kemik kendisine etki eden strese bağlı olarak remodelize olur. Aksiyel yüklenmenin başlamasıyla birlikte mineralize dokuda elektriksel polarite oluşur. Elektropozitif konveks yüzde osteoklastlar, elektronegatif konkav yüzde ise osteoblastlar uyarılırlar. İçerideki kallus dokusu yerini medüller kanala, dışarıdaki kallus dokusu ise yerini lameller kemiğe bırakır. Tamir döneminde oluşan örgü kemik yerini lameller kemiğe bırakır.

Kemiğin yeniden şekillenmesine ilişkin kanunlar:

Wolff Kanunu: Artan mekanik yük kemik kazanımını artırırken mekanik yükün etkimemesi kemik kaybı oluşturur. Bu kayıp çoğu zaman geri dönüşlüdür.

Piezoelektrik: Yeniden şekillenme elektrik yüküne göre oluşur. Kemiğin kompresyon tarafı elektronegatif iken çekme tarafı elektropozitifdir. Elektronegatiflik osteoblastik aktivite artışına, elektropozitiflik osteoklastik aktivite artışına yol açar.

Hueter-Volkmann Kanunu: Yeniden şekillenme hormon ve sitokinlerle yürütülür. Kompresyon büyümeyi azaltırken çekme büyümeyi aktive eder. Bu kanun uzunlamasına fizis büyümesi, yeniden şekillenme ve kırık iyileşmesi üzerine kurulmuştur.

2.3.3. Kırık İyileşmesinde Etkili Olan Faktörler

2.3.3.1. Lokal Faktörler

- Travmanın derecesi ve etkisi
- Kırık uçlarının birbirine göre konumu
- Kırık yerinin dolaşımı
- Eklem içi kırıklar
- Kırılan kemiğin türü
- Kırık hattının özelliği
- Cilt ve yumuşak doku yaralanması
- Lokal enfeksiyon varlığı
- Yerel patolojik koşullar
- Kırığın açık kırık olması
- Elektrik akımı
- Kırık bölgesinde denervasyon olması
- Yeterli tespit yapılmaması veya tespit süresinin kısa tutulması

2.3.3.2. Genel Faktörler

-Yaş: Azalan yaşla orantılı olarak mezankimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmesi hızlanır [26].

-Genel Durum: Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. Enfeksiyöz hastalıklar ve kronik hastalıklar hiperemi nedeniyle Ca^{+2} tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller [37].

-Hormonlar: İnsülin ve büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Proteine bağlı Ca^{+2} artışını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur. Kallus hacminde artışa sebep olur. Kalsitonin PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Osteoklastları inhibe ederek kemik çözünmesini azaltır. Kemik çözünmesini engelleyici etkisi vardır. Kortikosteroidler, kollajen sentezini inhibe ederek kemik oluşumunu engeller, çözünmesini artırır. Mezankimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlattığından, kırık iyileşmesini geciktirir. Aynı zamanda kallus oluşumunu azaltır. FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler [27]. Paratiroid hormon, kalsiyum, fosfat ve D vitamini metabolizmasını etkileyerek kemik mineral dengesinde kilit role sahiptir. Sürekli salınımı osteoklastik aktiviteyi uyarırken; aralıklı ve dengeli salınımının osteoprogenitör hücreleri etkileyerek, osteoblastik aktiviteyi artırarak kırık iyileşmesini uyardığı ve hızlandırdığı bilinmektedir [38].

-Vitaminler: A vitamini normal dozda mezankimel hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir [26]. C Vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler. D Vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D Vitamini eksikliğinde Ca^{+2} düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. D Vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki eder [27]. B6 Vitamini eksikliği ve K Vitamini antagonistleri ise kırık iyileşmesine olumsuz etki eder [38].

-İlaçlar: Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. Deneysel çalışmalarda L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilendiği gösterilmiştir [26]. İndometazinin yüksek dozlarda kırık iyileşmesini durdurduğu bilinmektedir. Lazer tedavisinin deneysel kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir [37].

-Hiperbarik Oksijen: Günde iki saat kadar 2–3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulanmasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir [27].

-Kırık Bölgesi Stresleri: İyi tespit edilmiş kırık kemiklere erken fonksiyon ve kontrollü yük verilmesiyle PGE-2 miktarı artar, böylece kemik gelişimi uyarılır ve iyi sonuç alınmaktadır [27].

-Elektriksel Uyarım ve Ultrason: Gecikmiş kaynama ve kaynamama tedavisinde elektromanyetik uyarı %64-85 arası değişen başarı oranları bildirilmiş, ancak hala akut kırıkların tedavisinde etkili olduğu ispatlanamamıştır.

-Sistemik Faktörler: Kafa travması ve spinal kord yaralanması olan hastalarda kırık iyileşmesinin aşırı uyarılması, iyileşmede nörolojik mekanizmaların ya da nörolojik yaralanmaya ikincil dolaşım mekanizmasında gelişen değişikliklerin etkili olduğunu göstermektedir.

-Mekanik Yüklenmeler: Kompresif aksiyel yüklenmelerin periosteal kallus oluşumunu uyardığı, makaslama ve tensil kuvvetlerin kaynamayı inhibe ettiği görülmüştür. Kemik yüklendiğinde kırık fragmanlar yer değiştirir. Bu hareket kırık hattında çok yönlü farklı kuvvetlerin (aksiyel, torsiyonel, bending) oluşumuna yol açar. Fiksasyonun rijiditesi, kırık uçların yüzey alanı, fragmanlar arası hareketi etkileyerek doku yüklenmesini ve kırık boşluğundaki hücre yanıtını belirler. Fragmanlar arası hareketin yönü; yüklenmeye, kas kuvvetlerine ve seçilen fiksasyon materyalinin sertliğine göre değişkendir. Bu hareketin oluşturduğu kuvvet kırığın şekline göre değişkendir. Parçalı kırıklarda daha geniş yüzey alanı bulunduğundan hareket bu kırık alanlarına paylaşılır ve daha büyük hareketler tolere edebilir. Oluşacak kallus dokusunun miktarı fragmanlar arası hareketin boyutuna bağlıdır. Yeterli stabilitenin olduğu durumlarda, bu harekete bağlı olarak kallusta kırık dokusu oluşumu uyarılır ve endokondral iyileşme olur. Fragmanlar arası hareket kritik seviyenin üzerinde olursa kırık hattında oluşan damarlanma bozulur ve stabil doku oluşumu engellenir.

-Biyokimyasal Faktörler: BMP, hücre göçünde mezenkimal kök hücrelerinin osteoblastlara diferansiyasyonunda, kemik oluşumunun aktive edilmesinde ve kemik matriksinin sentezlenmesinde etkilidir. Farklı çeşitlerde BMP'ler mevcuttur. BMP-2, kırık iyileşmesi çalışmalarında üzerinde en fazla araştırma yapılan BMP'dir. Osteonekroz ya da kaynamama gibi durumların tedavisinde ise en fazla çalışma yapılan BMP 7'dir [39]. FGF, mezenkimal hücrelerin mitogenezinde önemli bir rol

almakta ve FGF genlerindeki ya da reseptörlerindeki mutasyonlar, akondroplazi veya tanatoforik displazi gibi şiddetli iskelet anomalileri ile seyreden genetik hastalıklara sebep olmaktadır. Bu nedenle FGF sinyalinin osteogenezde önemli bir rolünün olduğu düşünülmektedir. Rekombinant insan FGF-2'nin tibia shaft kırıklarında kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [40]. TGF-B osteoblastlar, fibroblastlar ve kondrositler üzerinde etki etmektedir. Bu şekilde TGF-B'nin anjiogenezde, matriks sentezinde, endokondral kemikleşme sürecinde kalsifikasyonda ve kırık kallus dokusunda kırıkta ve kemik oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir [41]. PDGF'nin anjiogenezi destekleme yeteneği ile birlikte osteojenik hücreleri içeren mezenkimal hücreler için mitojen ve kemoatraktan olarak güçlü uyarıcı etkisi mevcuttur [42]. VEGF kırık hattındaki vasküler rejenerasyonda önemli bir komponenttir. Epifizyel büyüme plağındaki hipertrofik kondrositlerden salınan VEGF metafizyel damarların kırıkta dokusu invazyonunu destekler ve bu durum yeni kemik formasyonu ile sonuçlanır [43]. IGF-2 kırıkta matriksi etkileyerek anjiogenez, tip 1 kollajen üretimi ve osteoprogenitör hücrelerin çoğalması üzerinde etki etmektedir [27].

2.3.3.3. Kırık Tespit Yöntemlerinin Kırık İyileşmesine Etkisi

Kırık iyileşmesi kırık hattında bir miktar hareketten olumlu etkilenir. Kırık parçaları arasındaki hareket tüm yapının yani kemik ve implantın fonksiyonu ile yakından ilişkilidir.

Konservatif Tedavi

Konservatif yöntemde dizilimin tekrardan sağlanması için kapalı redüksiyon gerekmektedir. Takip eden stabilizasyon redüksiyonun devam etmesini sağlarken parçaların hareketini engeller, burada kallus oluşumu ile indirekt iyileşme meydana gelir. Konservatif tedavide stabilizasyon aşağıdaki yöntemler ile elde edilir;

Traksiyon: Bu yöntem kırık hattının distalinden uygulanan cilt ve kemiğin içerisinden geçirilen metal bir pin ile (iskelet traksiyonu) iki şekilde uygulanabilir. Kemiğin uzun aksı boyunca uygulanan traksiyon sonucunda ligamentotaksis ile kemik parçalarının dizilimi sağlanır ve hareketi azaltarak bir miktar stabilite sağlar.

Dıştan Atelleme: Dıştan uygulanan ateller tahta, plastik veya alçıdan olabilir. Belirli miktarda kırık stabilizasyonu ile sonuçlanır. Atelin boyutu en önemli mekanik unsurdur. Sirküler dıştan ateller eğri geometrisine bağlı olarak daha katı ve güçlüdür. Dıştan uygulanan ateller üç nokta temas prensibi ile redüksiyonu sürdürür.

Çevre dokuların basıncı parçaların hareketlerini azaltır. Cisim kırıklarında doğru parça uzunluğu, dizilim ve rotasyonu kriterlerinin tamamı, ekstremitenin tam fonksiyonu için gereklidir. Eklem içi kırıklarda kusursuz tam anatomik redüksiyon, sekonder artroza neden olabilecek eklem uyumsuzluğu ya da dengesizliğinden kaçınmak için önemlidir.

İntramedüller Çivileme

Modern kırık tedavisinde en sık uygulanan tespit yöntemlerinden olan intramedüller çivileme aksiyel yükü kemik ile paylaşır, aynı zamanda iyi bir kemik dizilimine ve erken yük verilmesine olanak sağlar. Kırık hattında yumuşak doku hasarına yol açmamaları, minimal invaziv uygulamaya yatkın olmaları da intramedüller çivilerin diğer bir avantajıdır. Çiviler oymalı ya da oymasız olarak kullanılabilir. Bu konuda ciddi bir tartışma olmakla birlikte sınırlı bir oyma işlemi yaygın olarak önerilmektedir. Oyma işlemi ve geniş çivi kullanımı mekanik anlamda en sağlam yapıyı oluşturur. Bununla birlikte aşırı oyma işlemi iyileşen kemikte damarsal beslenmeyi ciddi olarak bozabilir [44].

İntramedüller çivilemede diğer bir mekanik olay desteklenmemiş uzunluk olarak tanımlanan çivi uzunluğu ile kırık fragmanlar arasındaki mesafedir. Bu konsept kırık tipi ile bağlantılıdır. Örneğin basit transvers kırıklarda her iki korteks bütünüyle karşılaşacaktır. Buna karşın çok parçalı kırıklarda ya da kemik kayıplarında çivinin uzunluğu desteklenememiş olacaktır. Karşılaşan korteksler arası mesafenin en küçük miktarlarda artışı bile kırık hattında zorlanmayı dramatik olarak artıracaktır [44]. Son yıllarda kilitli çiviler rutin kullanılmaktadır. Kitleme vidaları, tespit sisteminin torsiyonel ve aksiyel kompresif güçlere direncini anlamlı olarak artırmakta, alt ekstremitte kırıklarında erken yük verilmesini mümkün kılabilir.

Plak Vida Tespiti

Biyomekanik olarak kırık üzerine gelen toplam yük, plaklar ile kemik arasında paylaşılmaktadır. İntramedüller çividen farklı olarak plaklar yükü bizzat taşıdığından, plak üzerine gelen yük ciddi oranda artmaktadır. Özellikle alt ekstremitte kırıklarının plak vida tespitinden sonra bir süre yük verdirilmemesi gerekir. Kemik-plak tespitinin mekaniğini etkileyen başlıca üç ara yüzey; vida-plak, vida-kemik ve plak-kemik ara yüzeyleridir. Bu ara yüzeylerdeki herhangi bir değişim plak uygulanmış kemiğin mekanik davranışlarını önemli derecede değiştirir. Osteoporotik kemikte vidaların yeterli tutunamamaları plak tespitinin yetersizliğine ve sonuçta kaynamamaya yol açacaktır. Plak vida tespitinde çalışma uzunluğu vidalar ile kırık hattı arasındaki mesafe olarak tanımlanır. Vidaların mümkün olduğu kadar kırık hattına yakın konulmaları çalışma uzunluğunu azaltacak ve tespiti güçlendirecektir. Çok parçalı kırıklarda köprüleyici plak yaparken birer vida eklemlere yakın birer vida ise kırık hattına yakın konmalıdır. Plak, kemiğin çevresinin en uygun tarafına ve mümkün olduğunca bükülme aksının yani dış-bükey tarafına yerleştirilmelidir. Plagın altındaki kemiği yüklenme ile zayıflatması stress shielding olarak bilinir. Bu durumda kemiğin üzerindeki plağa cevabı, kitlesinin ve geometrisinin azalması ve mekanik özelliklerinin önemli ölçüde zayıflaması şeklinde olacaktır. Bu nedenle kırık kaynamasını takiben bazı plakların çıkartılması önerilir [44].

Minimal İnvaziv Plak Osteosentezi (MIPO)

Minimal invazif osteosentez, küçük cerrahi sahanın kullanıldığı, kemiğe yumuşak doku aracılığı ile müdahale edilen ve kırık hattına indirekt redüksiyonun uygulandığı bir yöntemdir. Esnek stabilizasyon kırık hattında mikro harekete yola açarak kallus formasyonunu indükler. Buna “göreceli stabilite” adı verilmektedir. Buna karşın kırık hattında uygulanan rijid osteosentez direkt kırık iyileşmesine yol açar. Buna mutlak stabilite adı verilir. Kırık hattında gerilim %2’den daha az ise kallus dokusu oluşur. %10-30 arasındaki gerilim ise fibröz kaynamaya yol açmaktadır. Bir başka deyişle gerilim değerleri %2’ye kadar olduğunda lamellar doku ile tolere edilirken, %10-30 arasındaki gerilim kırık sahasında rezorbsiyon ile sonuçlanır. Özellikle parçalı kırıklarda kırık hattındaki gerilimin daha az olması esnek tespit uygulanmasına izin vermektedir [45]. MIPO ile indirekt redüksiyon yoluyla periost diseksiyonunu sınırlayarak, kanlanmanın korunması

hedeflenmektedir. İndirekt redüksiyonda amaç sadece fragmanların dizilimidir. Bu yöntemle, mekanik mükemmellik ve maksimum stabilite arasında bir denge elde edilebilir. Bir internal fiksator olan MIPO'da plağın kemik yüzeye tamamen oturtulması gerekmemektedir. Böylelikle kemik yüzeyinde minimal temas oluşturarak kan dolaşımı hasarı en aza indirgenir. Sonuç olarak minimal cerrahi travma ve stabil tespit ile kemik kanlanması sürdürülür [45]. Minimal invazif kırık cerrahisinde; köprüleme plakları, kas veya cilt altı plaklar, intramedüller çiviler ve eksternal fiksatorler kullanılır. Yüksek kaynama ve düşük enfeksiyon oranları, çoklu travmalı olgular, erken harekete izin vermesi ve konvansiyonel plaklara göre greftleme ihtiyacının az olması MIPO'nun avantajlarıdır. Buna karşın koronal ve sagittal dizilim sorunları, uzunluk ve rotasyon restorasyonunun zorluğu ve kaynama gecikmesi karşılaşılan başlıca sorunlardır [45].

Eksternal Tespit Yöntemleri

Eksternal tespit yöntemleri, kırık tespitinde olduğu gibi ekstremitte uzatmada da kullanılır. Bu cihazlar farklı konfigürasyonlarla neredeyse sonsuz kombinasyona, ayrıca iyileşme döneminde tespit derecesinin değiştirilmesine de izin verir. Özellikle akut kırık tedavisinde iyileşmenin ilerleyen dönemlerinde kırık uçlarındaki yüklenmeyi ve hareketi artırabilen sistemler, kırık iyileşmesini olumlu etkilemekte, kallus sağlamlığını artırmaktadır. Bu amaçla yaygın kullanılan yöntem dinamizasyondur. Bu cihazların dinamizasyonu kırık uçları arasındaki mikro hareketi uyarır. Kırık sahasındaki mikro hareket, kan dolaşımındaki artışa paralel olarak kallus hacminde %25 artışa yol açar. Dinamizasyona bir diğer alternatif ise monolateral ya da halka tipi eksternal fiksator cihazlarında kullanılabilecek olan ilerleyici destabilizasyondur. Destabilizasyon yönteminde kırık uçlarında kallus görüldükten sonra fiksatorün parçaları yavaş yavaş çıkartılarak fiksatorün sağlamlığı azaltılmakta, kırık uçlarına gelen yük ve mikrohareket miktarı ilerleyici bir şekilde artırılmaktadır. Dinamizasyon ve destabilizasyon kırığın olgunlaşmasını artırmakta, erken fiksator çıkarılmasında görülen yeniden kırık riskini ise azaltmaktadır [45].

2.3.4. Kırık İyileşmesini Hızlandırıcı Faktörler

Kırığın kaynamama nedenlerinin titizlikle değerlendirilmesi, hastaya ve kırığa göre yaklaşımlar planlanması ile kemik iyileşmesi hızlandırılabilir. Böylece

hastaların normal günlük yaşama ve işe geri dönüşleri kolaylaştırır. Hem fiziksel hem biyolojik olarak iyileşmeyi uyarıcı tedaviler uygulanabilir.

2.3.4.1. Fiziksel Uyarıcı Tedaviler

Daha az girişimsel olduğu için komplikasyonların görülme olasılığı da düşüktür. Elektromanyetik, düşük intensitede ultrasonografi, ekstrakorporeal şok terapisi olmak üzere üç farklı fiziksel uyarıcı tedavi yöntemi vardır.

-Elektriksel uyarı ve kırık iyileşmesi: Kompresyon kuvvetleri, elektronegatif potansiyeller oluşturarak kemik oluşumunu uyarır. Germe ve çekme kuvvetleri, elektropozitif potansiyeller oluşturarak kemik çözünmesini uyarır. Elektriksel alanlar oluşturarak kemik iyileşmesini uyarmak mümkündür [46]. Direkt akım, inflamatuvar reaksiyon benzeri etki oluşturur. Alternatif akım, onarım esnasında kollajen sentezi cAMP aktivitesi ve kalsifikasyonu etkiler. Pulsed elektromanyetik alanlar (PEMFs) fibrokırdağın kalsifikasyonunu uyarır.

-Düşük intensiteli ultrasonografi ve kırık iyileşmesi: Ultrasonografi ses dalgalarının, kırık bölgesinde yaygın mikro mekanik stresler oluşturarak, hücrel ve moleküler düzeyde değişikliklere yol açması ile birlikte iyileşmeyi uyarıcı etki yarattığı düşünülmektedir. Ultrasonografinin kırık iyileşmesindeki olumlu etkilerini vurgulayan birçok çalışma olmasına rağmen bazı meta-analizlerde etkinliğinin tartışmalı olduğunu belirten yayınlar da vardır [47].

-Ekstrakorporeal şok dalgası tedavisi ve kırık iyileşmesi: Elektrohidrolik, elektromanyetik ve piazoelektrik metodlarla üretilen tek yüksek amplitüdlü şok dalgalarının dokuya dağılmasıyla kırık iyileşmesini uyardığı düşünülmektedir. Bu şok dalgalarının dokuda oluşturduğu serbest radikaller ve oksijen radikalleri çeşitli büyüme faktörlerini uyarır [48].

2.3.4.2. Lokal Uyarıcı Tedaviler

Kemik iyileşmesini uyarıcı mekanizmalarına göre, osteojenik, osteokondüktif, osteoindüktif ve doku iyileşmesi faktörleri olarak sınıflandırılır.

-Otolog kemik iliği: İliak kanattan alınan kemik iliğinde hem osteojenik hem anjiyojenik özellikte öncül hücreler vardır. Kemik iliğindeki hücreler kemik

iyileşmesini etkileyen BMP ve VEGF gibi faktörler üretebilir. Yapılan çalışmalarda kırık iyileşmesine olumlu etkileri görülmüştür [49].

-Otolog kemik grefti: Kırıklardaki kemik defektlerinin iyileşmesinde ve kırık kaynamasında osteojenik (mezankimel kök hücreler, osteoblastlar, osteositler), osteoindüktif (BMP, TGF B) ve osteokondüktif etkisi vardır. Donör saha morbiditesi azdır [50]. Maliyetinin az olması, immünolojik reaksiyon oluşturmaması nedeniyle sık tercih edilen tedavi yöntemlerindendir. Kansellöz greftler kaynamama tedavisinde veya kaviter defektlerde, kortikal greftler yapısal defektlere kullanılır. Vaskülerize otogreftler geniş yapısal defektlerde kullanılır.

-Allogreft: Taze, taze dondurulmuş, taze kurutulmuş, kemik matriks jelatin (BMG), BMP kaynağı gibi allogreftler defektif kırık tedavisinde kullanılmaktadır.

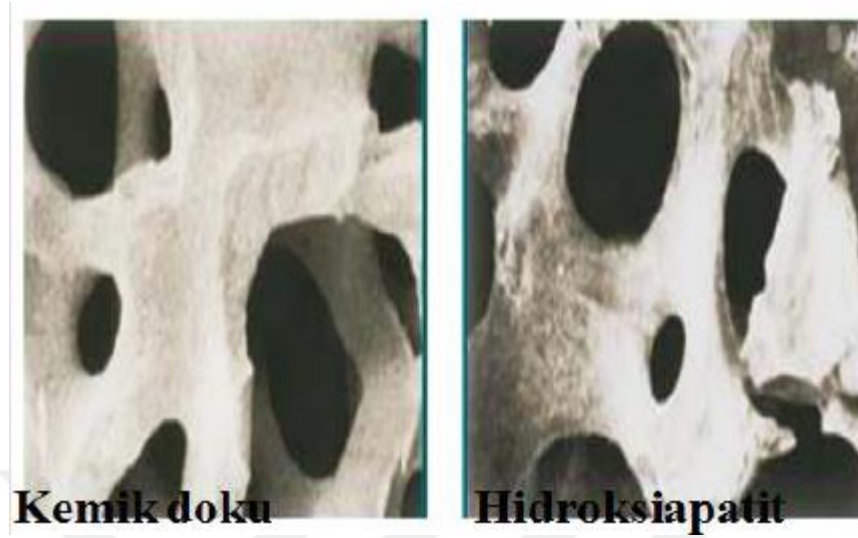
-Sentetik kemik greftleri: Kalsiyum, aluminyum ve silikondan oluşur.

-Trombositten zengin plazma (PRP): Kırık hematomunda bulunan trombositler TGF-B, PDGF, FGF, VEGF üretimi sağlayarak öncül hücre çoğalması, ekstrasellüler matriks oluşumu ve anjiyogenezisi uyarak kemik oluşumuna önemli katkı sağlar. Trombositten zengin plazma kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalara bakıldığında sonuçlar tartışmalıdır ve iyileşme üzerine etkileri değerlendirmede tatmin edici yeterliliğe sahip değildir [51].

2.4. HİDROKSİAPATİT (HA)

Osteokondüktif materyaller pasif bir çatı oluşturarak osteoprogenitör hücrelerin çatı üzerinde yeni kemik oluşturmalarına imkan sağlamaktadır. Osteokondüktif özelliğe sahip ajanların içerisinde seramikler, kollajenler, poröz metaller, poliglikolik ve polilaktik asit polimerleri ve biyoaktif camlar yer almaktadır [52]. Hidroksiapatit, seramiklerin apatit grubunun bir üyesi olup; kalsiyum fosfat apatitleri $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$ formüllü bileşiklerdir. Formüldeki X; OH^- iyonu olursa hidroksiapatit, F^- iyonu olursa florapatit, Cl^- iyonu olursa da kloroapatit olarak adlandırılır. İdeal bir HA için Ca/P oranı 10/6 yani 1,67 olmalıdır. Teorik yoğunluğu ise 3,15 g/cm³'tür. Hidroksiapatit fizyolojik pH, fizyolojik sıcaklık ve sıvı bileşimi ortamlarında en kararlı kalsiyum fosfat bileşiğidir. Biyoaktif seramiklerden yaygın

olarak alışılardan biri olan HA; kimyasal olarak kemiğin ve sert dokuların mineral bileşenleri ile benzer yapıya sahiptir (Şekil 13).



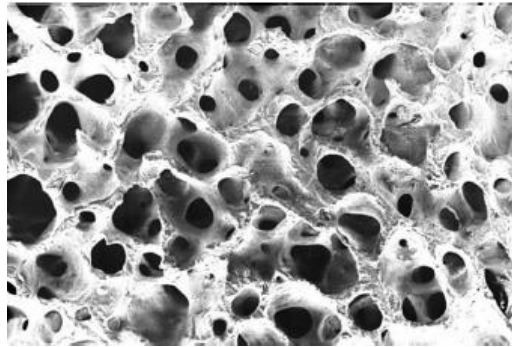
Şekil 13. Kemik Doku ve Hidroksiapatit Yapısı.

Doğal kemiğin yaklaşık olarak ağırlıkça %70 ve hacimce %50'si hidroksiapatittir. Ayrıca doğrudan kemiğe bağlanma özelliği ile beraber osteokondüktifliği, yüksek biyoaktifliği ve biyouyumluluğu gibi özellikleri nedeniyle ortopedi ve diş hekimliğinde çeşitli protezlerin yapımında yapay kemik olarak, fissür ve kırık kemiklerin onarılmasında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Metalik malzemeler üzerine kaplandığında, metalin çevresindeki biyolojik ortamdan etkilenerek aşınmasını ve bu aşınmanın sonucunda da zehirli metal iyonları salmasını engelleyen etkin bir bariyer vazifesi görmektedir [53]. Diğer bir önemli görevi kalsiyum ve fosfat kaynağı olmasıdır.

Hidroksiapatit kemiğin temel inorganik bileşeni olup ve iskelet yeniden yapılanması için bir implant maddesi olarak kullanılır. Mekanik özelliklerin değeri genellikle ölçüm tekniklerine ve HAP numunelerinin gözenekliliğine, tane büyüklüğüne ve safsızlığına bağlıdır. HA'in en tipik özelliği kırılğan bir seramik malzeme olmasıdır. HA'in mekanik dayanımı ve kırılma tokluğunun düşük oluşu, yük mukavemeti gerektiren uygulama alanlarındaki kullanımı için engel teşkil eder. Yoğun HA'in eğilme dayanımı 38-250 MPa, basma dayanımı 120-900 MPa ve çekme dayanımı ise 38-300 MPa aralığındadır. Ayrıca vickers sertliği 600 HV ve Young modülü ise 80-110 GPa aralığındadır [54]. Biyolojik uyum hidroksiapatitin

önemli özellikleri arasında ön sırada yerini almaktadır. Yüksek biyouyumluluğa sahip olması nedeniyle yerleştirildikleri ortamda katı sıvı dengesine katılmakta olup; kemikle, diğer sert dokularla veya kasla doğrudan bağ yapabilir. Hidroksiapatit; biyouyumluluğu, osteokondüktif etkileri ve pürüzsüz yüzeyleriyle dokuya dost olmaları nedeniyle en yaygın kullanılan biyoseramiklerdendir. Hidroksiapatitin biyouyumluluğu deneylerle kanıtlanmıştır. Bu deneylere dayanarak HAP 1983 yılından itibaren kullanılmaktadır. Bu uygulamada kullanılan HAP, 0,4-6 cm boyutlarında gözenekli bloklar halindedir. Bu bloklar %55-70 oranında gözenekliliğe sahip olup, bu gözenekler 200-300 µm civarındadır. Bu bloklar, 1100-1200 0C’de kurutulmuştur ve yaklaşık 15 MPa’lık sıkıştırma mukavemetine sahiptirler. HAP blok ve granülleri, yığma yoluyla kemikteki boşluklara doldurulur. Bu uygulamadaki en dikkat edilen özellik kemik ile sıkı bir yapı oluşmasıdır [55].

HA partiküllerinin ya da gözenekli yapılarının kemik gelişimine olan etkileri, gözenek büyüklüğüne, morfolojisine, kristal yapısına, gözeneklerin birbiriyle olan bağlantılarına ve kimyasal yapılarına (Ca/P oranı) bağlı olup; oluşan yeni doku 4-8 haftada şeklini alır. HA’in gözenekli yapısı (Şekil 14), kanallar sistemi gibi davranarak, oluşan yeni hücrelerin gözeneklerin içine doğru büyümesini sağlayarak doku implant etkileşimini artırıp daha iyi bir entegrasyonun sağlanmasını ve implant kaymasıyla oluşabilecek olumsuzlukların önlenmesini, dokuya kanın ve diğer önemli vücut sıvılarının ulaşmasını sağlamaktadır [56]. HA düşük bozunma hızına sahip olup; emilimi yılda %5-10 hızıyla gerçekleşir. Yine biyouyumluluğu ve biyoaktifliği özellikleri nedeniyle yapay kemik ve kemik dolgu maddesi olarak çeşitli protezlerin yapımında, fışsür ve kırık kemiklerin onarılmasında, metalik biyomalzemelerin kaplanmasında, diş implantlarının, ortopedik uygulamaları gibi birçok alanda kullanılmaktadır [6].



Şekil 14. Hidroksiapatitin Gözenekli Poroz Yapısı.

2.5. BORİK ASİT (BA)

Yeryüzünün 51. yaygın elementi olan bor, toprak, kayalar ve suda yaygın olarak bulunan bir elementtir. Bor; hayvanlar, bitkiler ve insanlar için önemli bir iz elementtir [7]. Kimyasal sembolü (B)'dir ve periyodik cetvelin 3A grubunda bulunup, bu grubun metal olmayan tek elementidir. Atom numarası 5, atom ağırlığı 10.82 ve erime noktası $2190\pm 20^{\circ}\text{C}$ 'dir. Bor, kimyasal ve fiziksel olarak çok sayıda farklı özelliklere sahiptir. Elektron yapısı ve periyodik tablodaki yeri nedeniyle, bor içeren moleküller elektrofildir ve izoelektronik olan trigonal düzlemsel yapıya sahiptir. Bor ile yapılan fazladan bağlarla oluşan bileşikler anyonik, tetrahedral olmaktadır ve nükleofil gibi davranmaktadır. Doğada 200'e yakın bor bileşiği bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olanları ve ticari önemi olanlar; Boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), Kernit ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Üleksit ($\text{NaCaB}_5\text{O}_9 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), Probertit ($\text{NaCaB}_5\text{O}_9 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Kolemanit ($\text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$), Hidroborasit ($\text{CaMgB}_6\text{O}_{11} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ve Pandermit ($\text{CaB}_{10}\text{O}_{19} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) olarak Devlet Planlama Teşkilatı tarafından belirlenmiştir. Üleksitten türevlenen borik asit ve boraks çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Borik asit; bir Lewis asididir, hidroksil iyonunu tutar, protonları bırakır. Ayrıca, borun organik bileşiklerle yaptığı kompleksler, hidroksil grubu ihtiva eder ve böylece; şekerler, polisakkaritler, adenozin-5-fosfat, piridoksin, riboflavin, dehidroaskorbik asit ve piridin nükleotidler ile etkileşime girebilir [57].

Bor ve türevleri çok uzun yıllardan bu yana kullanılmaktadır. Bor tuzları ilk kez 4 bin yıl önce Tibet'te kullanılmıştır. Babiller tarafından değerli eşyaların eritilmesinde, Mısırlılarca mumyalamada, Eski Yunan ve Romalılarca da zemine serpilerek arena temizliğinde kullanılmışlardır. 875 yılında ise, Araplar ilk kez bor tuzlarından ilaç yapmışlardır [58]. Bor bileşikleri çok uzun yıllardan bu yana bilinmesine rağmen, elementel borun keşfi 1808 yılında İngiliz kimyacı Sir Humphry ve Fransız kimyacı Gay Lussac tarafından gerçekleştirilmiştir [59].

Dünya bor rezervleri hakkında güvenilir kesin bir rakam vermek güç olmakla birlikte, dünyadaki toplam rezerv B_2O_3 olarak 1.241×10^9 tondur [60]. Türkiye dünya bor rezervlerinin %72'sine sahiptir ve dünya üretiminin %32'sini gerçekleştirmektedir. Ülkemiz 2.5 milyar tonluk kamulaştırılmış bor rezervi alanlarıyla dünyanın 450-500 yıllık ihtiyacını karşılayabilecek durumdadır [59]. Diğer önemli rezervler ABD ve Rusya'da yer almaktadır. Ayrıca ekonomik açıdan

en değerli boratlar olan boraks, kolemanit ve üleksit ülkemizde büyük miktarlarda yer almaktadır [61]. Bor mineralleri bazı alanlarda ham bor olarak kullanılmakta ise de genel olarak rafine bor bileşiklerine ve özel bor ürünlerine dönüştürüldükten sonra kullanılmaktadırlar. Çok çeşitli sektörlerde kullanılan bor mineralleri ve ürünlerinin kullanım alanları giderek artmaktadır. Üretilen bor minerallerinin %10'a yakın bir bölümü doğrudan mineral olarak tüketilirken geriye kalan kısmı bor ürünleri elde etmek için kullanılmaktadır. Bor mineralleri ve ürünleri, cam sanayi, seramik sanayi, temizleme ve beyazlatma sanayi, yanmayı önleyici maddeler, tarım, metalurji sanayi, nükleer sanayi ve tıp alanlarında kullanılmaktadır [57].

Borun vücutteki etkilerine bakacak olursak; Bor elementinin 1923 yılında bitkiler için esansiyel olduğu kabul edilmiş, hayvanlar ve insanlar için de esansiyel olabileceğine ilişkin bulgulara da yakın zamanda ulaşılabilmektedir [62]. Beslenme yoluyla vücuda alınan bor, birçok metabolik enzimin aktivitesini etkilemesinin yanı sıra steroid hormonların ve kalsiyum, magnezyum, vitamin D gibi pek çok mikro besinin metabolizmasını da etkilemektedir [8]. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre insan vücuduna günlük yaklaşık olarak 0.44 µg hava yoluyla, 0.2–0.6 mg içme suyuyla ve 1.2 mg beslenme yoluyla bor girmektedir. Dokulara ya da vücut sıvılarına geçen bor, çoğunlukla BA şeklinde bulunur. Borik asit doğal bir bileşik olup sulardan, sebzelerden ya da diğer yiyeceklerden beslenme yoluyla alınabilir [9]. Vücuda hangi yolla alınmış olursa olsun borun %90'dan fazlası ilk 24 saat içerisinde idrar yoluyla vücuttan uzaklaştırılır. Kalan kısım ise daha çok kemik, tırnak ve kıllarla, karaciğer ve dalak gibi organlarda birikmektedir. BA, magnezyum, vitamin D ve kalsiyum gibi kemik sağlığı üzerinde önemli etkileri olan mikro besinlerin metabolizmasında görev almaktadır. Buna bağlı olarak osteoporozun önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir. Bor mineral ve hormon metabolizmasında, hücre membran fonksiyonlarında ve enzim reaksiyonlarında rol oynar. Hücre dışı matris üretimini etkileyerek yara iyileşmesini hızlandırır. Beslenme yoluyla alınan bor, plazma lipid seviyesinin düşmesinde de rol oynayabilmektedir. Aynı zamanda kalp hastalıkları, osteoporoz ve artrit riskini azalttığı düşünülmektedir [9]. Çalışmalar borun insanın algılama yeteneğini ve beyin fonksiyonlarını da etkilediğini göstermektedir [63]. Bor immün sistem ve yangısal olaylarda da etkilidir. Bor yetersizliğinde sıçanların bakteriyel antijenlere karşı oluşturdıkları immün cevabın baskılandığını ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Tavuk embriyolarının pelvik kası üzerinde yürütülen bir

çalışmada borik asitin proteoglikan, protein ve kollajen sentezi üzerine etkisini değerlendirmişler ve in vitro da kültür ortamında salınımlarının arttığını belirlemişlerdir [64]. Ayrıca borik asit uygulanan hücrelerden TNF- α salındığı da gösterilmiş ve bunun yara iyileşmesini hızlandırdığı belirtilmiştir. Bor, magnezyum, vitamin D ve kalsiyum gibi kemik sağlığı üzerinde önemli etkileri olan mikro besinlerin metabolizmasında görev almaktadır. Buna bağlı olarak bor, osteoporozun önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir. Yapılan bir çalışmada, tavuklarda beslenme ile yetersiz bor alımının yetersiz magnezyum alımına da neden olduğu belirtilmiştir [10]. Uygun miktarda bor alımı plazma kalsiyum ve magnezyum seviyelerini yükseltmiştir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında borun vitamin D üzerine de dolaylı bir etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır [11]. Bor, organik bileşiklerdeki hidroksil gruplarıyla kompleks oluşturabilme özelliğinden dolayı kortikosteroidleri oluşturabilir ve böylece romatoid artrit belirtilerini hafifletir. Ayrıca artritlik kemiklerin sağlıklı kemiklerden daha az bor içerdiği tespit edilmiştir [65]. Yapılan başka çalışmada artritlik kemiklerde bor miktarı 3 ppm iken sağlıklı kemiklerde 56 ppm civarında bulunmuştur [66]. En yaygın olarak borun osteoartrit, osteoporoz ve romatoid artrit tedavilerinde kullanımı gündeme gelmektedir. Günlük 3 mg bor alımının menapoz sonrası kadınlarda östrojen etkisini arttırdığı ve bu etkinin osteoporoz tedavisinde önemli olduğu vurgulanmaktadır [67].

Wu ve ark. tarafından yapılan çalışmada da bor ve dekzametazon içeren doku iskelelerinde osteojenik aktivitenin ve hücre çoğalmasının arttığı görülmüştür [68]. Ying ve ark. borun kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasına etkisini, kültür ortamına farklı derişimlerde bor ekleyerek incelemişlerdir. 4. 7. ve 14. günlerde yapılan analizler sonucunda 1, 10 ve 100 ng/mL bor eklenen gruplarda hücre çoğalmasının kontrol gruplarıyla bir farklılık göstermediği ve 1000 ng/mL bor eklenen hücrelerin proliferasyonunun da inhibe olduğu görülmüştür. Ancak osteojenik farklılaşma göstergesi olan alkalen fosfataz aktivitesi 10 ve 100 ng/mL bor uygulanan gruplarda anlamlı derecede yükselmiştir [69]. Bu sonuçlar gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonları analizleri ile de desteklenmiştir. Literatür incelendiğinde beslenme yoluyla bor alımının kemik dokuya etkisi kısmen anlaşılmış olmasına rağmen, bor ve bileşiklerinin hücre kültür ortamındaki etkinlikleri henüz tam olarak bilinmemektedir.

2.6. MAGNEZYUM (MG)

Magnezyum ilk olarak 1808 yılında Sir Humprey Davy tarafından bulunmuştur. Atom numarası 12'dir. Atom yığını 24.305 amu ve kaynama noktası 1107, erime noktası 650 derecedir. Toprak alkali metaller sınıfındadır ve hayati önem taşıyan 11 mineralden en önemlisi kabul edilebilir [12]. İnsan vücudunda yaklaşık 28 gr Mg bulunmaktadır. Vücuttaki toplam Mg miktarına bakıldığında %53'ü kemiklerde, %27'si kasta, % 19'u yumuşak doku hücrelerinde, % 1'inden azı ise serumda ve eritrositlerde bulunmaktadır. Beyin ve kalpte daha yoğun bir şekilde bulunduğu bilinmektedir. Normal serum düzeyi 1,7-2,2 mg/dl'dir ve toplam vücuttaki miktarın sadece %0.3'ünü oluşturur. Serumda Mg üç farklı şekilde bulunabilir: İyonize (serum Mg miktarının %62'si) , %33'ü proteinlere bağlı (özellikle albümine) ve kompleks anyonik çiftler (%5 Mg sitrat ve Mg fosfat) halinde [70]. Mg ihtiyacı yaşa ve yaşam tarzına göre değişir. Erişkin bir kadın günde 300 mg, erkek ise 350 mg Mg almalıdır. Gebelik ve laktasyon gibi özel durumlarda bu miktarlar 450-700 mg'ye kadar çıkabilir. Çocuklarda, iyileşme dönemlerinde, diyet yapanlarda, düzenli egzersiz yapanlarda, kronik alkol ve sigara kullanımında Mg ihtiyacı artar [71]. Magnezyum enerji metabolizması, nükleik asit sentezi, protein sentezi başta olmak üzere birçok biyolojik reaksiyonda kofaktör görevi görür. Ayrıca hormonların reseptörlere bağlanmalarında, kalsiyum kanal kapılarında, transmembran iyon değişimi ve adenilat siklazin regülasyonunda, kas kasılmasında, nöroaktivitede, vazomotor tonusun kontrolünde, kardiyak eksitabilitede ve nörotransmitter salınımında rol alır. Bu etkilerinin çoğunu fizyolojik Ca antagonisti olarak etkinlik göstermesi ile yapmaktadır. Mg için ana depo kemikler olup kalsiyum ve fosfatla birlikte bulunmaktadır. Kas-sinir fonksiyonunun sürdürülmesi, kemik dokunun sağlamlığının devamı ve kalp ritminin korunmasında rol almaktadır. Ayrıca kasların güçlenmesi, protein sentezi ve enzim sistemi aktivitesinde büyük öneme sahiptir. 300'ün üzeri enzim reaksiyonunda kofaktör olarak bulunan, homeostazis için elzem olan eser elementlerden biri olup, hücre içindeki en baskın divalen katyondur. Magnezyum, çeşitli reaksiyonlarda direkt enzim aktivasyonuna veya enzim substratı oluşumuna katkı sağlamaktadır [13]. Hücre adezyonu veya membran geçişlerinde aktif rol alarak membran fonksiyonunu sağlar. Mg bağımlı enzim sistemlerinden biri, hücre membranları arasında elektriksel gradienti düzenleyen membran pompası olarak görev yapar ve bu nedenle Mg, elektriksel

olarak uyarılabilen dokuların aktivitesinde önemlidir [72]. Proteinlerin, nükleik asitlerin, ribozomların, mitokondrinin ve çok sayıda enzim molekülünün yapı taşıdır. Mg homeostazında temel görev alan organlar bağırsaklar, kemikler ve böbreklerdir. Mg homeostazisi intestinal absorpsiyon ve renal atılım ile düzenlenir. Mg özellikle ileumdan absorbe edilir, atılımı ve serum Mg kontrolü böbrekler ile sağlanır. Bağırsaklardan emilmesi; kemiklerde depolanması ve aşırı miktarlarında üriner ve fekal yolla atılmasıyla Mg metabolizması, antagonisti olan kalsiyum ile benzerlik göstermektedir. Magnezyum homeostazı üzerine birçok hormon etkilidir. Özellikle Ca, P ve Mg seviyelerini düzenleyen D vitamini, parathormon (PTH) ve kalsitonin başta olmak üzere insülin, glukagon, aldosteron, antidiüretik hormon (ADH) ve cinsiyet hormonları dolaylı olarak da olsa magnezyum dengesinde rol oynamaktadır. PTH, magnezyumun geri emilimini henle kulpunda ve distal tübüllerde, adenilat siklaz aktivasyonunu takiben siklik adenozin monofosfatın (cAMP) artmış üretimiyle uyarmaktadır. Magnezyum düzeyi ile PTH sekresyonu arasında negatif feedback mekanizması olup, kronik hipermagnezemi durumunda PTH sekresyonu baskılanarak Ca metabolizması da olumsuz yönde etkilenmektedir [73]. D-vitamini, magnezyumun aktif taşıma yoluyla bağırsaklardan emilimini artırırken bir yandan da üriner atılımını artırır. Bu nedenle Mg homeostazındaki etkisi tartışmalıdır. Hiperkalsemi ve hipofosfatemi durumlarında böbreklerin özellikle henle kulpunda geri emilimin bozulmasıyla, magnezyum atılımı artmakta ve bu durum hipomagnezemiyle sonuçlanmaktadır [74].

Magnezyum kemiğin farklı bölgelerinde farklı miktarlarda bulunur. İliak kanatta kortikal kemik bölgesinde trabeküler kemikten %10-20 daha az bulunur. Mg iskelet metabolizmasının bütün fazlarını etkilemektedir [14].

Hipomagnezemi serum Mg konsantrasyonun 1.6 mEq/L'nin (<1.9 mg/dl)'den düşük olduğu durumlardır. Mg eksikliğinin, genellikle Mg'dan fakir diyet, kan kaybı, aşırı terleme, ilaç ve/veya alkol kötüye kullanımına bağlı veya bazı ilaçların (loop diüretikleri, tiazid grubu diüretikler, sitotoksik ilaçlar, aminoglikozidler, steroidler gibi) kullanımına bağlı bazen de gebelik veya bebeklik döneminde olduğu gibi fizyolojik koşullarda meydana geldiği görülmektedir [75]. Mg eksikliği ile ilişkili hastalıklar siroz, tiroid ve paratiroid bezi hastalıkları, renal hastalıklar, ince bağırsak rezeksiyonları, tüberküloz olarak sayılabilir. Koroner arter hastalığı olanlarda Mg

yükleme testleri sırasında daha fazla Mg reabsorbe olması aşırı Mg kaybının ve göreceli bir Mg eksikliğinin koroner arter hastalığı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Vücutta Mg ile Ca dengesi belirli bir seviyede olmalıdır. Bu denge korunmadığında, kalsiyum miktarının fazla olması vücut için toksiktir ve kalp hastalıklarına, artritlere, osteoporoza, doku ve organlarda kalsifikasyona hatta damar sertleşmesine neden olur [76]. Düşük magnezyum seviyesi kalsiyum metabolizmasını ve kalsiyum seviyesi üzerinde etkili olan hormonları da etkiler. Yapılan  alışmalar Mg desteğinin, kemik mineral yoğunluğunu arttırarak kırık gelişimini önlediğini göstermiştir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışmada ratların sağ femur diyafizer bölgesinde basit transvers kırık oluşturup, oluşturulan bu kırık için laboratuvar ortamında ürettiğimiz/kaplama yaptığımız HA, BA, Mg kaplı K tellerinin kırık iyileşmesindeki etkilerini gözlemlemeyi amaçladık. Amacımız çeşitli maddeler ile kaplama yaptığımız biyomateriyallerin kırık fiksasyonu ve iyileşmesindeki etkisini ortaya koymaktır.

Yaptığımız tez çalışmasının etik uygunluğu Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından AKÜHADYEK-25-21 Referans nolu araştırma, 49533702/30 sayı numaralı sayfa ile onaylanmış ve çalışma, proje no: 21.TUS.004 ile AFSÜ BAPK tarafından desteklenmiştir. Çalışmamız Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık ve Araştırma Deney Hayvanları Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan bütün denekler Kocatepe Deney Hayvanları Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmamızda toplam 60 adet Wistar Albino türü rat kullanıldı. Deney hayvanları;

Grup 1 : Kontrol Grubu (Çelik K teli ile fiksasyon yapılan) 12 adet rat

Grup 2 : HA kaplı K teli ile fiksasyon yapılan 12 adet rat

Grup 3 : HA + BA kaplı K teli ile fiksasyon yapılan 12 adet rat

Grup 4 : HA + BA + Mg kaplı K teli ile fiksasyon yapılan 12 adet rat

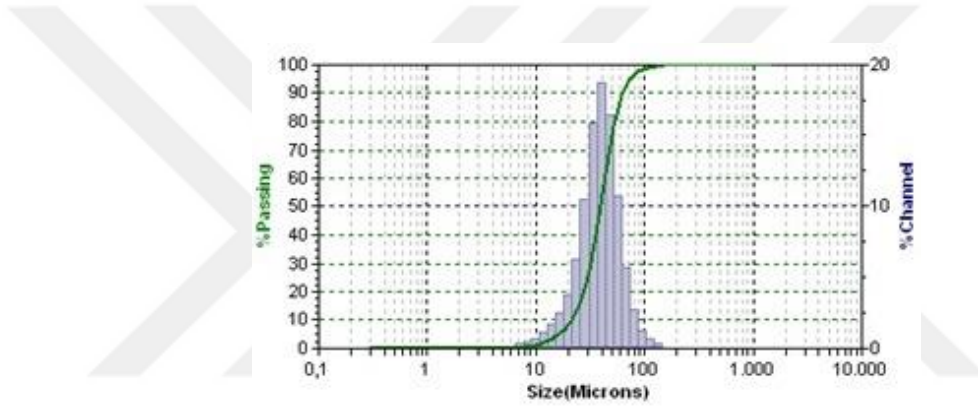
Grup 5 : HA + Mg kaplı K teli ile fiksasyon yapılan 12 adet rat olacak şekilde 5 farklı gruba ayrıldı.

Ortalama yaşları 3 ay, ağırlıkları 250-300 gr olarak hesaplanan deney hayvanları aynı merkezde polietilen karışımlarından yapılmış olan kafeslerde, gruplarına göre isimlendirilerek her kafeste üç adet kobay olacak şekilde bakımları sağlandı. Hayvanlara günlük rutin yem ve su verildi. Cerrahi uygulandıktan sonra hayvanların sularına Sulphamezathine (sulfadimidin sodyum, CEVA-DİF) %16'lık solüsyon verilerek antibiyotik profilaksisi sağlandı. Hayvanların rutin günlük temizlikleri ve pansumanları yapıldı. Deneklerin sayısı önceden yapılan çalışmalar ve istatistiksel anlamlarına göre grup başı en az 6 olarak hesaplandı ve güç analizi %95 olarak belirlendi. Her gruptaki denekler için 6. hafta ve 12. haftada sakrifiye

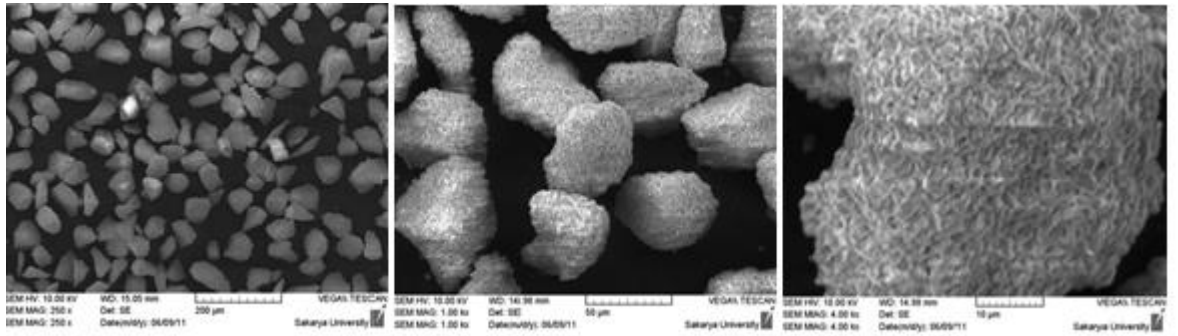
edilip radyografileri çekilerek histopatolojik inceleme planlandı. Kullanılan Wistar Albino türü denek hayvanlarının DNA benzerliği %99 olması çalışmamızın güç analizini kuvvetlendirmiştir.

3.1. K TELİNİN HİDROKSİAPATİT, BORİK ASİT VE MAGNEZYUM İLE KAPLANMASI

Kaplama tozu materyalleri Afyon Kocatepe Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği laboratuvarında elde edilmiştir. Kaplama tozlarının ana bileşeni olarak saf HA tozu Captal 60 (Biotal-İngiltere) kullanıldı. 2. grup için saf HA tozu, diğer gruplar için saf HA tozuna belirli oranlarda BA ve Mg katkılanarak elde edilen karışım tozlar kullanıldı.



Şekil 15. Saf HA tozunun (Captal 60) tane boyut dağılımı

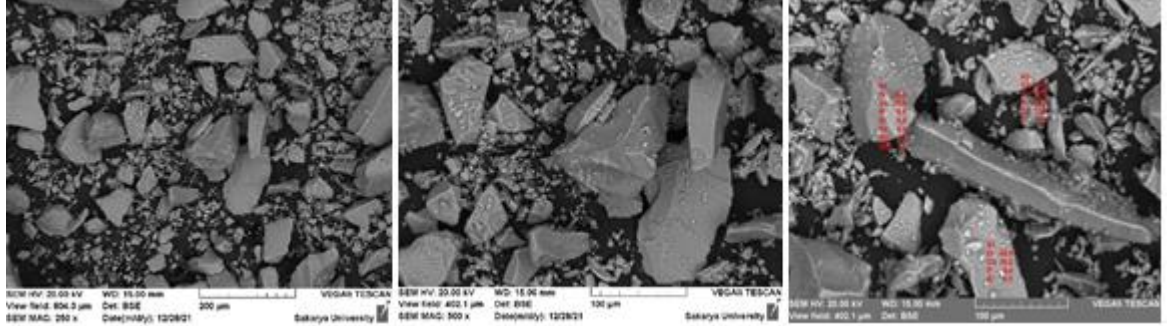


Şekil 16. Saf HA tozunun (Captal 60) farklı büyütmelerde elektron mikroskobu görüntüleri

3.1.1. Borik Asit Katkılı Hidroksiapatit Üretimi

HA'e BA katkılanması için öncelikle 95 gr HA ve 5 gr BA tartıldı. BA 60°C'de 200 ml etil alkolde çözüldü ve 60 °C'ye ısıtılmış 95 gr HA tozu üzerine eklendi. Bu karışım alkol ortamdan tamamen buharlaşıp uzaklaşınca kadar 60

°C’de ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen borik asit katkılı hidroksiapatitin karakterizasyonu Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile yapıldı (Şekil 17).

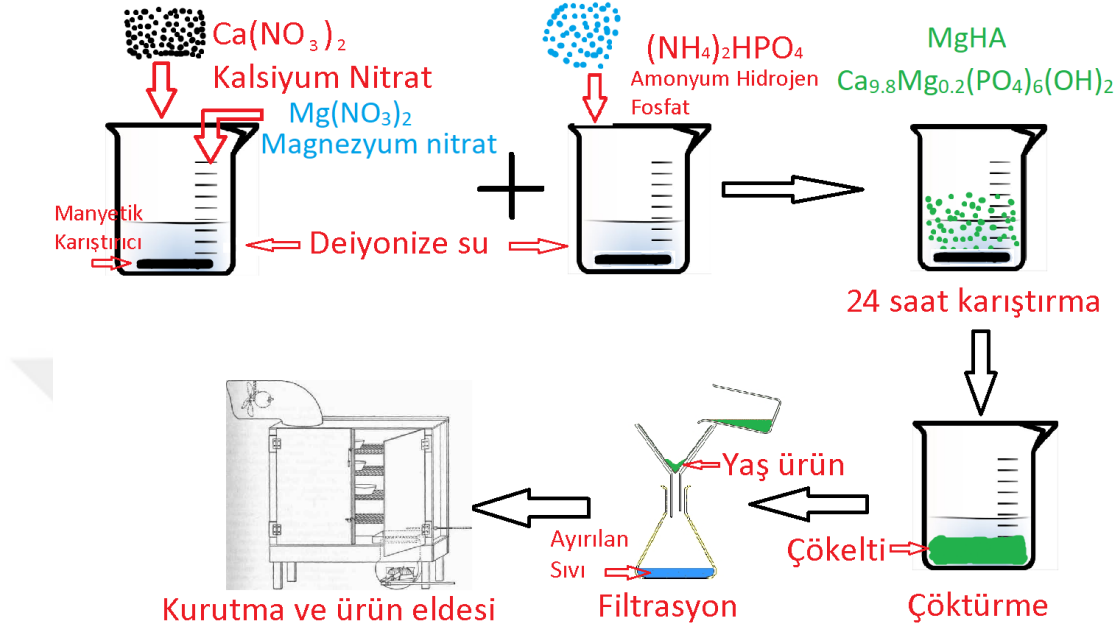
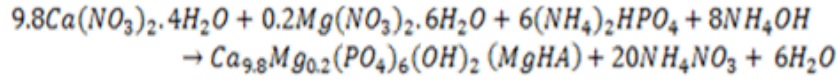


Şekil 17. Saf HA tozuna %5 BA katkılanırılmış toz karışımın farklı büyütmelede elektron mikroskobu görüntüleri

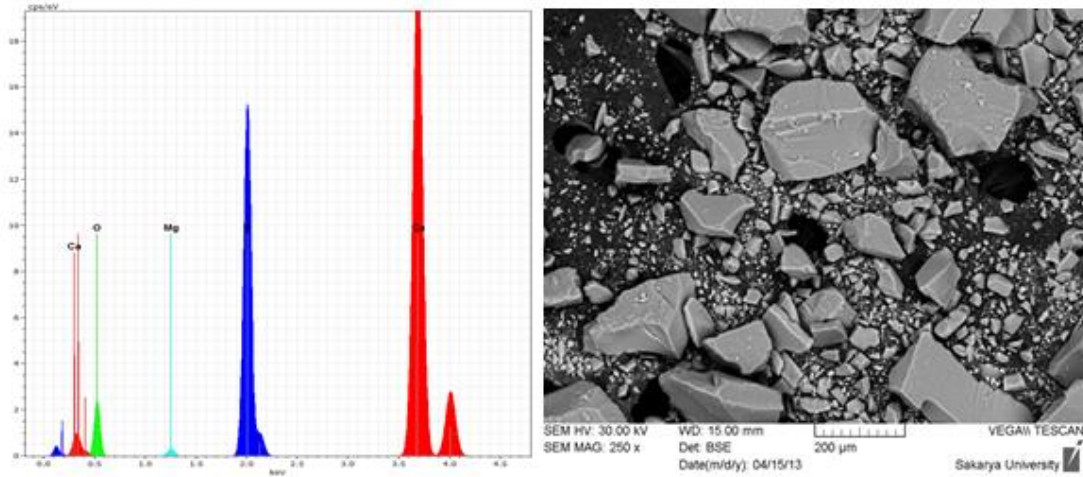
3.1.2. Magnezyum Katkılı Hidroksiapatit Üretimi

Mg iyon değişimli HA sentezinde kimyasal çöktürme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde, analitik kalitede olan reaktanlar; kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Merck, >%98), magnezyum nitrat hegzahidrat ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck, >%98) ve diamonyum hidrojen fosfat ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, Merck, >%98) ($\text{Ca}+\text{Mg}$)/P mol oranını 1.67 olacak şekilde hassas bir terazide tartılarak ayrı ayrı beherlerde deiyonize su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözünmüştür. Daha sonra ilk önce kalsiyum nitrat ve magnezyum nitrat solüsyonları birbiri üzerine ilave edilmiştir. Mg iyon değişimi Ca/P stokiometrisinin bozulmaması için kalsiyum iyon miktarı azaltılarak yapılmıştır. Bu çalışmada Ca iyon miktarının %2’si kadar Mg iyonuyla yer değiştirilmiştir. Ardından bu solüsyon yavaşça diamonyum hidrojen fosfat solüsyonunun içerisine dökülmüştür. Bu işlem sırasında berrak diamonyum hidrojen fosfat solüsyonu yavaş yavaş buzlu bir görüntü almış ve sonunda da magnezyum iyon değişimli HA kristallerini (MgHA) içeren süspansiyona dönüşmüştür. Süspansiyonun pH’ı sulu amonyak solüsyonu (NH_4OH , Merck, %29) ile ~10’a ayarlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon ardından 24 saat karıştırılıp daha sonra da 24 saat çöktürülmüştür. Çöktürülen HA partikülleri üst sıvı fazdan ayrılarak yan ürünlerin giderilmesi için deiyonize edilmiş su ile birkaç kere yıkanmış ve filtre kâğıdı ile filtre edilmiştir. Elde edilen Mg-HA keki etüvde kurutulmuş ve sonunda agat havanda kırılarak toz haline getirilmiştir. Üretilen tozlar atmosferik fırın

içerisinde kalsine edilmiştir. Sentez reaksiyonu aşağıdaki eşitlikte verilmiş olup MgHA üretimi aşağıdaki şekilde şematize edilmiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Magnezyum katkılı hidroksiapatit üretim aşamalarının şematik gösterimi

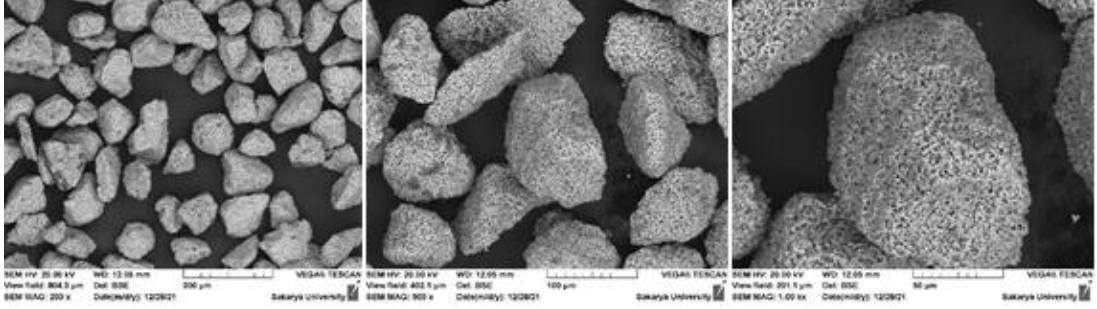


Şekil 19. Saf hidroksiapatit tozuna %2 Mg katkandırılmış toz karışımının analizi (a) ve elektron mikroskobu görüntüsü (b)

3.1.3. Borik Asit ve Magnezyum Katkılı Hidroksiapatit Üretimi

%2 Mg içeren HA'e, BA katkılanması için öncelikle 95 gr %2 Mg içeren HA ve 5 gr BA tartıldı. Borik asit 60°C'de 200 ml etil alkolde çözüldü ve 60 °C'ye

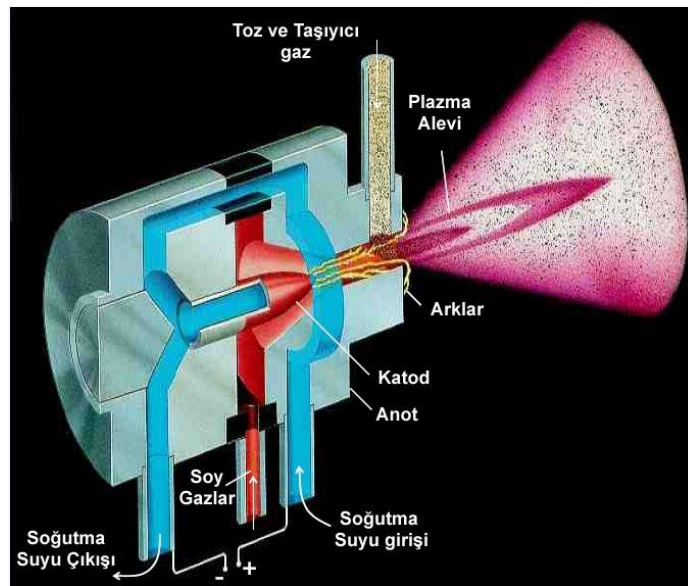
ısıtılmış 95 gr %2 Mg içeren hidroksiapatit üzerine eklendi. Bu karışım alkol ortamdan tamamen buharlaşıp uzaklaşınca kadar 60°C’de ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen borik asit ve magnezyum katkılı hidroksiapatitin karakterizasyonu Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile yapıldı (Şekil 20).



Şekil 20. %2 Mg içeren hidroksiapatit tozuna, %5 BA katkılanmış toz karışımının farklı büyütmelerde elektron mikroskobu görüntüleri

3.1.4. Üretilen Toz Karışımlarının K Tellerine Kaplanması

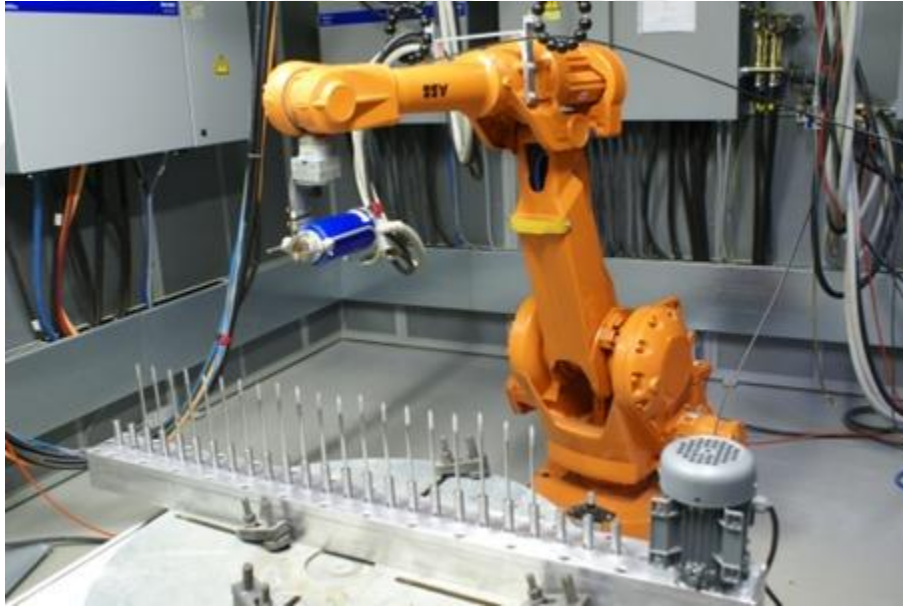
Üretilen toz karışımlar K tellerine kaplanmak üzere Sakarya Üniversitesi Termal Sprey Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı’na gönderildi. Kaplama yöntemi olarak Atmosferik Plazma Sprey kaplama yöntemi kullanıldı (Şekil 21). Kaplama sistemi olarak Oerlikon Metco MultiCoat kullanıldı (Şekil 22). Kaplama tabancası olarak F4 kullanıldı. Kaplamalar, robotik kol yardımıyla (ABB robot) yapıldı (Şekil 23). Kaplama yapılan K tellerinin makroskopik ve mikroskopik görüntüsü Şekil 25-26’ da gösterilmiştir.



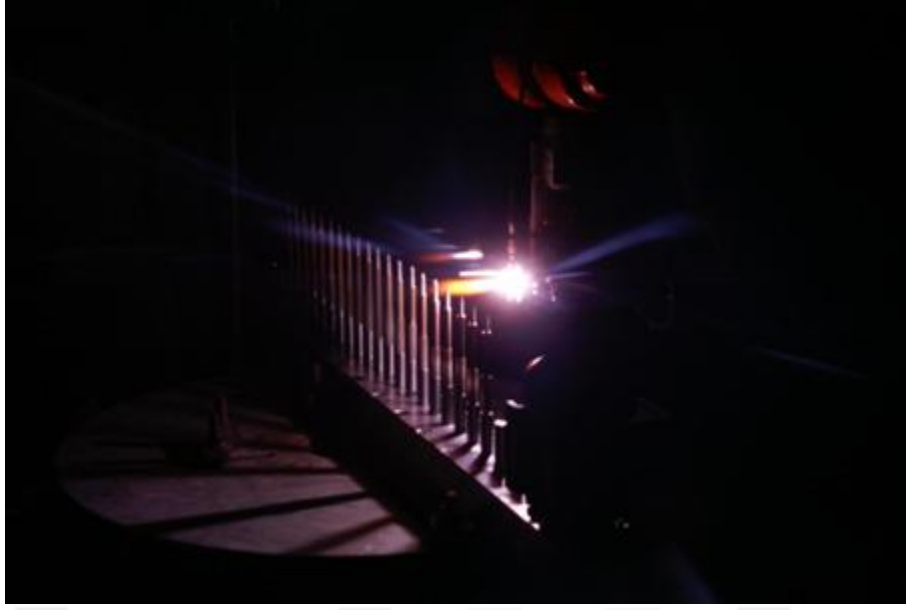
Şekil 21. Atmosferik Plazma Sprey prensibi



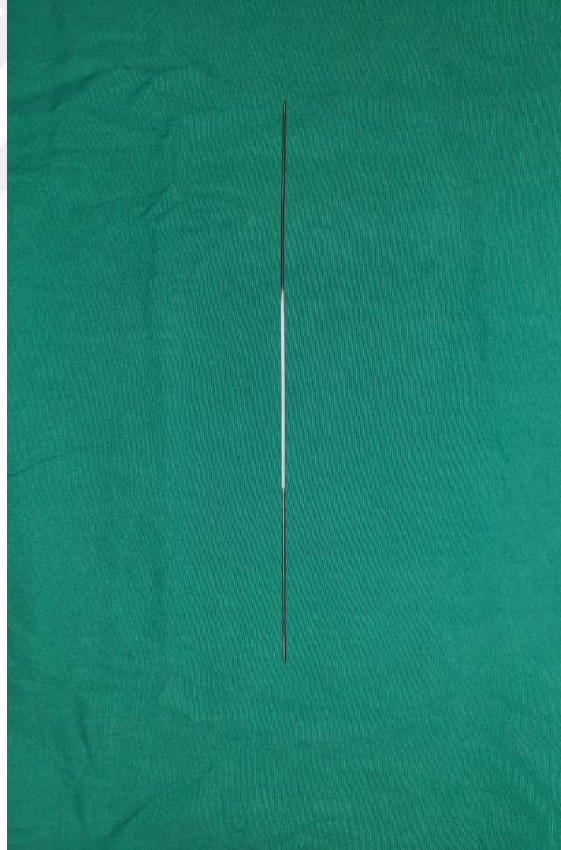
Şekil 22. Oerlikon Metco MultiCoat kaplama sistemi



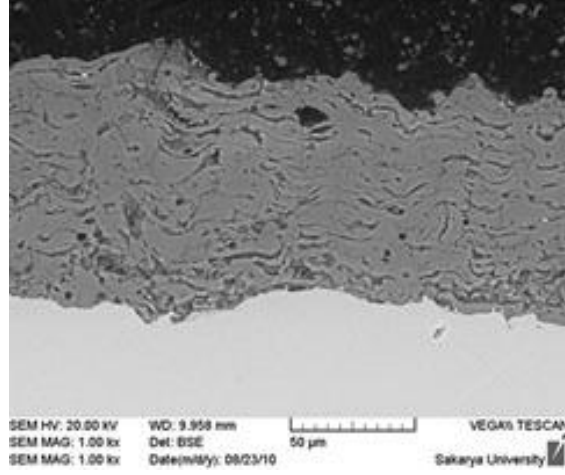
Şekil 23. Plazma Sprey Cihazı



Şekil 24. Sprey kaplama anı



Şekil 25. Kaplanmış K-telinin makroskopik görüntüsü



Şekil 26. Kaplanmış K-telinin kaplama kalınlığının mikroskop görüntüsü

3.2. ANESTEZİ VE ANALJEZİ

Çalışmada 5 adet grup oluşturulmuş ve grup 1,2,3,4,5 olarak isimlendirilmiştir. Rastgele gruplara ayrılan ratlar gruplara uygun olan biyomateryaller kullanılacak şekilde her gruptaki deney hayvanı aynı günde cerrahi yapıldı. Toplamda 5 günde ilk cerrahi prosedür tamamlandı. Standart cerrahi prosedüre göre hayvanlara verilmek üzere Xylazınbio (ksilazın etken madde, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) 50 ml %2'lik çözeltiden 400 grama 0,1 ml olacak şekilde, Alfamine (Ketamin etken madde, Atafen, İzmir) 50 ml %10'luk çözeltiden 400 grama 0,3 ml olacak şekilde insülin enjektörüne toplam 0,4 ml anestezik karışım hazırlandı (Şekil 27). Hayvanların kuadriseps kası içine im uygulanarak anestezi indüksiyonu sağlandı. Cerrahi süresi boyunca ihtiyaç duyulması halinde 0,1 ml ek doz uygulandı. Anestezi hazırlıkları ardından standardizasyon amaçlı her deneğin sağ femur kemiği opere edildi. Cerrahi işlemi tamamlanan deney hayvanında yara yeri temizliği sonrasında uygun süturuzasyon uygulandı. Postoperatif dönemde hayvanların rahat olabilmeleri için ılık ortamda bakımları sağlandı, ilk 3 gün boyunca pansumanlarının korunmasına dikkat edildi.



Şekil 27. Xylazin Bio %2 ksilazin etken madde (a), Alfamine %10 ketamin etken madde (b)

3.3. CERRAHİ TEKNİK

Klasik anestezi prosedürü uygulanarak denek hayvanlarının indüksiyonu sağlandıktan sonra standardizasyon amacıyla bütün ratların sağ alt ekstremitelerine cerrahi operasyon planlandı. Antiseptik olarak %10'luk povidon-iyot içeren Batticon (Adeka, İstanbul) solüsyonu kullanıldı (Şekil 28). Batticon ile hayvanların ekstremiteleri steril edildi. Cerrahi steril örtü kullanılarak örtme işlemi sağlandı. Ortopedik cerrahide kullanılan küçük kemik ve küçük yumuşak doku setleri (Şekil 29) ile mikrocerrahi setleri (Şekil 30) steril olarak temin edildi.



Şekil 28. Batticon, Povidine-iyot %10

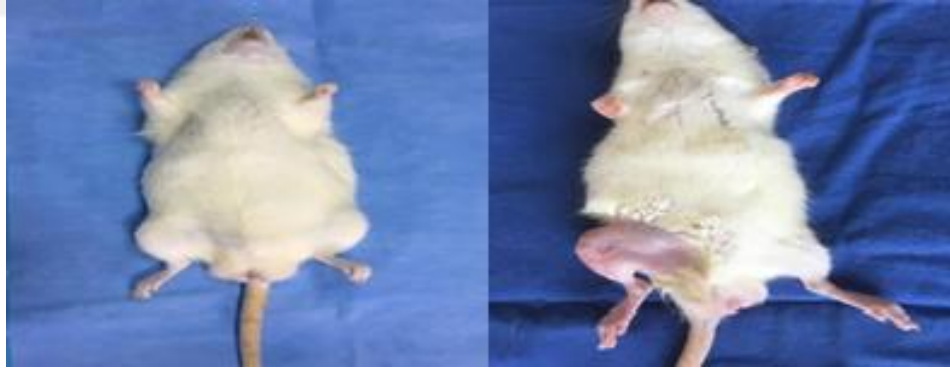


Şekil 29. Ortopedik cerrahi küçük set aletleri



Şekil 30. Ortopedik mikrocerrahi set aletleri

Belirlenen prosedüre göre hayvanlara verilmek üzere Xylazinbio (ksilazin etken madde, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) 50 ml %2'lik çözeltiden 300 grama 0,1 ml olacak şekilde, Alfamine (Ketamin etken madde, Atafen, İzmir) 50 ml %10'luk çözeltiden 300 grama 0,3 ml olacak şekilde insülin enjektörüne toplam 0,4 ml anestezi karışımı hazırlandı. Hayvanların kuadriseps kası içine im uygulanarak anestezi indüksiyonu sağlandı. Deney hayvanları indüksiyonu sağlandıktan sonra sağ dizleri tıraş edilerek yıkandı ve temizlendi (Şekil 31 a,b).



Şekil 31. Anestezi indüksiyon sonrası deney hayvanının görüntüsü(a), anestezi indüksiyon altında sağ diz cerrahi alanının tıraş ve temizlik sonrası görüntüsü(b)

Sağ alt ekstremiteleri tıraş edildikten sonra cerrahi bölgesi yıkanıp temizlenen deney hayvanlarına antiseptik olarak %10'luk povidon-iyot içeren Batticon (Adeka, İstanbul) solüsyonu kullanılarak dizleri steril edildi. Cerrahi steril örtü kullanılarak genel temizlik örtme işlemi sağlandı (Şekil 32).



Şekil 32. Steril örtü ile genel temizlik örtme işlemleri sonrası deney hayvanı görüntüsü.

Deney hayvanlarının sağ dizi orta hat insizyon sonrası cilt ve cilt altı dokular geçildi. Yumuşak doku bağlantıları ve kanlanması korunarak tek kesi ile geçildi (Şekil 33). Patellar tendona ulaşıldı. Patalla laterale deviye edilecek şekilde S insizyon ile patellar tendon paramedian kesildi. Patella laterala devrildi. Femur troklear bölgesi uygun ekartörler aracılığı ile ortaya konuldu (Şekil 34). Uygun ekartörler ile femur distal kondiller trohlear alan ve trohlear bölgede intramedüller uygulanacak olan biyomateryalin giriş noktası ortaya konuldu (Şekil 35).



Şekil 33. Sağ dizin paramedian insizyon ile cilt ve cilt altı kesilmiş görüntüsü

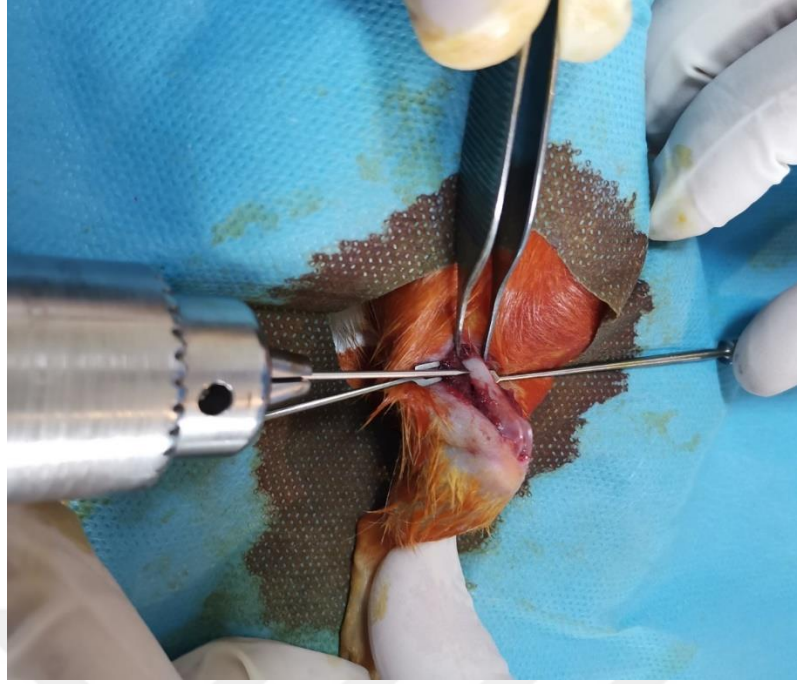


Şekil 34. Patella laterale devrilmesi ve sonrasında femur distal kondillerin görüntüsü



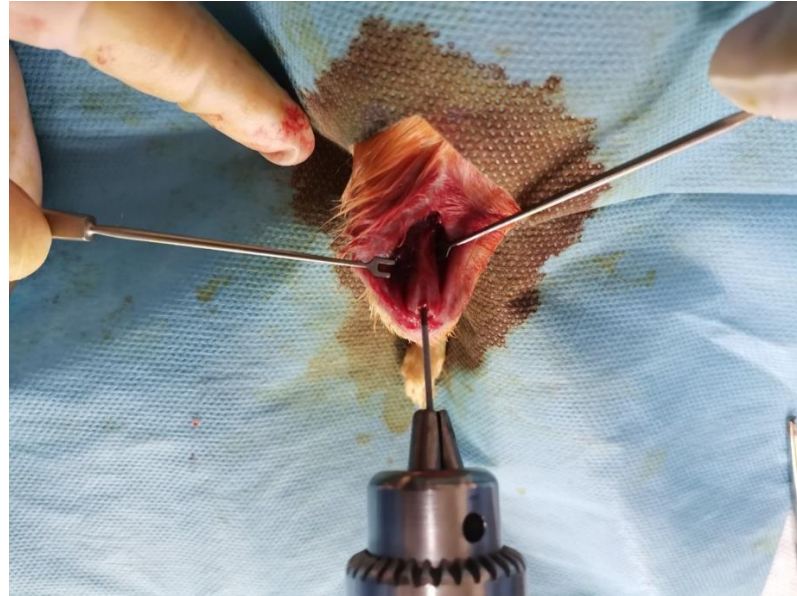
Şekil 35. Trohlear bölgede intramedüller uygulanacak olan biyomateryalin giriş noktası

Trohlear giriş yeri belirlendikten sonra cilt kesisi proksimale 5 mm daha uzatıldı ve kuadriseps kası femur anteriorundan sıyrılarak femur diyafizer alana ulaşıldı. Çevre yumuşak dokulara azami özen gösterilerek 0.8 mm metal K teli ile femur diyafizer bölgede multipl delikler oluşturuldu (Şekil 36).



Şekil 36. K teli ile femur diyafizer bölgede multipl delikler oluşturulması

Ardından küçük giple teli ile femur diyafizer bölgede transvers basit kırık oluşturuldu. Sonrasında trohlear giriş yerinden her gruba özel üretilen 1.2 mm kalınlığında olan biyomateryaller retrograd olarak proksimale yönlendirildi (Şekil 37).



Şekil 37. K telinin retrograd uygulanması

İntramedüller olarak gönderilen K telleri ve kırık hattı her deney hayvanında görüldü ve kırık redüksiyonundan emin olundu. Kırık fiksasyonunu takiben kanama kontrolü yapıp patellar tendon onarıldı. Cilt altı ve cilt onarımı 5/0 vicryl süturlar ile yapıldı (Şekil 38).



Şekil 38. Cilt onarımı yapıldıktan sonraki görüntüsü

Ardından pansuman yapıldı. Hayvanların sularına profilaktik olarak 100 ml suya 0,1 ml sulfametazin eklendi. Deney hayvanlarının her gün rutin bakımı yem ve su kontrolü yapıldı. Yara yeri pansumanı takibi yapıldı. Planlanan çalışma takvimine uyularak 6. hafta sonunda her gruptaki 6 deney hayvanı HADYEK ilkelerine uygun şekilde yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen denekler önce radyolojik değerlendirmeye tabi tutuldu. Radyolojik değerlendirme için xray görüntüleme alındı ve kallus dokusu ile kırık hattı incelendi. Gruplar halinde radyolojik görüntülemeleri tamamlanan ratların eski insizyonu kullanılarak diz eklemine ulaşıldı. Femur diyafizer bölgeye azami dikkat gösterilerek çevre dokularından ayrıldı ve femur total olarak eksize edilerek (Şekil 39), histopatolojik değerlendirme için patoloji laboratuvarına transfer edildi.



Şekil 39. Eksize edilen total femurun makroskopik görüntüsü

Gruplarda geriye kalan 6'şar adet deney hayvanı da çalışma takvimine uyularak 12. hafta sonunda aynı işlem sırası uygulandı ve 12. haftanın sonunda doku örnekleri histopatolojik inceleme için ayrıldı.

3.4. SİTOTOKSİK DEĞERLENDİRME

Hücre Kültürü Çalışmaları

Çalışmada in vitro deneyler için insan kemik osteoblast hücre hattı (hFOB 1.19 (ATCC® CRL-11372™)) kullanılmıştır. Hücre hattı % 10 FBS, 100 U/mL penisilin-streptomisin takviyeli besiyeri (Ham's F12 Medium: Dulbecco's Modified Eagle's Medium (1:1)) ortamında, 37 °C'de %5 CO₂'de kültürlenmiştir. Çalışma kapsamında HA-BA-Mg kaplı K teli materyallerinin insan kemik osteoblast hücre proliferasyonu üzerine etkisi direkt sitotoksikite testi ve indirekt sitotoksikite testi ile değerlendirilmiştir.

3.4.1. Direkt sitotoksisite testi

Bu yöntemde her bir gruba ait materyaller osteoblast hücreleri üzerine uygulanmış ve materyallerin osteoblast hücre proliferasyonu üzerine etkisi direkt sitotoksisite testi ile değerlendirilmiştir. Direkt sitotoksisite testi için CCK-8 (hücre proliferasyon analiz kiti) kullanılmıştır. Her bir grup için hücreler (4×10^3 adet) üç tekrarlı olarak 96 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Yapışması için bir gece kültür şartlarında bekletilmiştir. Gece boyu inkübasyon sonrası, yapışmış olan hücrelerin plaka kuyucuklarına besiyeri, standart K teli, HA-BA-Mg kaplı K teli materyalleri eklenmiştir. 48 saatlik inkübasyon sonrası materyaller çıkarılıp kuyucuklar 1xPBS ile yıkanmıştır. Hücrenin canlılığını belirlemek için % 10 CCK-8 çözeltisi içeren 100 uL besiyeri her kuyuya ilave edilmiştir. Dört saatlik inkübasyon sonunda plaka okuyucu kullanılarak 450 nm de absorbans değerleri belirlenmiştir. Hesaplamalarda her bir gruba ait hücrelerin canlılığı, kontrol hücrelerinin yüzdesi olarak ifade edilmiştir.

3.4.2. İndirekt sitotoksisite testi

Bu yöntemde her bir gruba ait materyaller gece boyunca oda sıcaklığında hücre besiyerinde bekletilmiştir. Kontrol olarak kullanılacak besiyeri de materyal eklenmeden aynı şartlarda bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerlerin hücreler üzerine etkisi indirekt sitotoksisite testi ile değerlendirilmiştir. İndirekt sitotoksisite testi için CCK-8 (hücre proliferasyon analiz kiti) kullanılmıştır. Test öncesinde hücreler (4×10^3 adet) 96 kuyucuklu plakaya üç tekrarlı olarak ekilmiştir. Yapışması için gece boyunca kültür şartlarında bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası, yapışmış olan hücrelerin kuyucuklarında bulunan besiyeri alınmış ve standart K teli, HA-BA-Mg kaplı K teli materyalleri ile gece boyu inkübe edilmiş olan besiyerleri eklenmiştir. Besiyeri değişikliği sonrası 48 saatlik inkübasyon uygulanmıştır. İnkübasyon sonrası materyaller çıkarılıp kuyucuklar 1xPBS ile yıkanmıştır. Hücrenin canlılığını belirlemek için % 10 CCK-8 çözeltisi içeren 100 uL besiyeri her kuyuya ilave edilmiştir. Dört saatlik inkübasyon sonunda plaka okuyucu kullanılarak 450 nm de absorbans değerleri belirlenmiştir. Hesaplamalarda, her bir gruba ait hücrelerin canlılığı, kontrol hücrelerinin yüzdesi olarak ifade edilmiştir.

3.5. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Ratların sağ femur kemikleri çıkartıldıktan sonra materyaller %10'luk

tamponlanmış formaldehit solüsyonuna yerleştirildi. Histopatolojik değerlendirmeler için materyaller Afyon Kocatepe Üniversitesi Bayat Meslek Yüksekokulu Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü laboratuvarına gönderildi. Çalışmamızdaki materyallerin kemik dokusunun histolojik değerlendirilmesi için %10'luk tamponlanmış formaldehitte tespit edilen parçaların fazla kısımları temizlendi. Gönderilen materyal %10'luk tamponlanmış formalinde 1 hafta süre ile fikse edildi. Fiksasyondan sonra tüm materyal %50'lik formik asit ve %20'lik sodyum sitrat çözeltilerinden birer ölçek alınarak hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon süreci tamamlanan kemik doku örnekleri akan çeşme suyunda yıkama işlemini takiben, artan derecelerdeki etanol serilerinden (%50-%99) ve ksilen serilerinden geçirildikten sonra 62 °C'de erimiş parafin infiltrasyonunu takiben parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2245) ile 5-7 µm kalınlığındaki kesitler lamalar üzerine alındı. Bu kesitler Hematoksilen-Eozin ve Masson's Tricrom boyama yöntemiyle boyanıp Huo ve ark. [77] yapmış olduğu histolojik skorlama sistemi skalasına göre değerlendirmeleri yapıldı. Boyanmış olan kesitler, Nikon Ci-S ışık mikroskop, Nikon DS-Fi3 kamera ve NIS-Elements D görüntü analiz sisteminde (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) incelenerek fotoğrafları çekildi.

Değerlendirme sürecinde kırık kaynama bölgesinde yeni kemik oluşumu ve tamir kalitesi Huo ve ark. yapmış olduğu histolojik skorlama sistemi skalası ile değerlendirilmiş olup değerlendirme sürecinde aşağıda yazılı kriterler kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Huo ve Ark. yapmış olduğu Histolojik Skorlama Sistemi[77]

SKOR	KIRIK HATTINDAKİ BULGULAR
1	Fibröz doku
2	Az miktarda kıkırdak dokusu ile birlikte ağırlıklı olarak fibröz doku
3	Eşit oranda fibröz ve kıkırdak doku
4	Az miktarda fibröz doku ile birlikte ağırlıklı olarak kıkırdak doku
5	Kıkırdak doku
6	Az miktarda immatür kemik ile birlikte ağırlıklı olarak kıkırdak doku
7	Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik doku
8	Az miktarda kıkırdak ile birlikte ağırlıklı olarak immatür kemik doku
9	İmmatür kemik ile kırık iyileşmesi
10	Matür kemik ile kırık iyileşmesi

3.6. RADYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Çalışmadaki tüm gruplarda yer alan ratlar numaralandırılarak sakrifikasyon sonrası anterior posterior ve lateral xray görüntülemeleri alındı. Çalışmadan bağımsız bir ortopedist tarafından Lane-Sandhu skorumaya sistemine [78] göre skorlandı (Tablo 2).

Tablo 2. Lane-Sandhu Skorumaya Sistemi [79]

SKOR	RADYOLOJİK BULGULAR
0	Kallus yok
1	Minimal kallus var
2	Kallus var ancak iyileşme tamamlanmış değil
3	Kallus var ve kırık stabil
4	Remodele olmuş kırık

3.7. BİYOMEKANİK DEĞERLENDİRME

Yaptığımız deneysel çalışmada, biyomekanik testlerle optimal değerlendirme şartlarının sağlanabilirliğinin test edilmesi için sağ femur patolojik numunelerin kullanımı öncesi ön değerlendirme çalışması yapılmıştır. Biyomekanik testlerde gruplarda yer alan ratların sol femurları deney sonrası kullanılmıştır. Elde edilen analiz verileri ışığında testler arası optimal şartlar sağlanamamış olup daha fazla materyal gereksiniminden dolayı deney gruplarında yer alan ratların sağ femurları biyomekanik testlere tabii tutulmamıştır.

3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

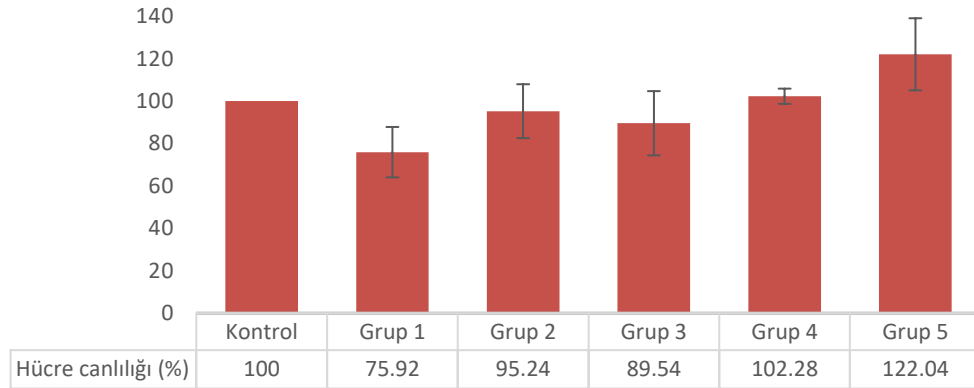
Gruplar 1,2,3,4,5 olarak numaralandırılmış olup, A ifadesi 6. hafta B ifadesi 12. hafta olarak sunulmuştur. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca değerler kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen (nonparametrik) değişkenler iki grup arasında değerlendirilirken Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. İki'den fazla grupta normal dağılım göstermeyen sürekli değişken karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis Testi kullanıldı. Kruskal-Wallis Testinin anlamlı bulunduğu durumlarda post-hoc analiz olarak Pairwise Comparisons Testi kullanıldı. $P < 0.05$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. SİTOTOKSİK BULGULAR

4.1.1. Direkt Sitotoksiste Testi

Çalışmada, HA-BA-Mg kaplı K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi amacı ile insan kemik osteoblast hücrelerinin, kontrol grubuna göre proliferasyon oranları değerlendirilmiştir. Çalışma her bir grup üç tekrarlı olacak şekilde oluşturulmuştur. Kontrol grubu olarak K teli materyalleri içermeyen sadece osteoblast hücresi içeren kuyucuklar kullanılmıştır. Hücre kültüründe K teli materyallerinin hücre proliferasyonuna etkisi yüzde olarak hesaplanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre kontrol grubu içeren kuyucukların canlılık oranı % 100 olarak değerlendirilmiştir. Bu veriye göre direkt olarak K teli materyalleri ile kültürlen osteoblast hücreleri canlılık oranı, grup 1 için % 75,92 oranında, grup 2 için % 95,24 oranında, grup 3 için % 89,54 oranında, grup 4 için % 102,28 oranında ve grup 5 için % 122,04 oranında belirlenmiştir. Sonuçlar, çalışmada kullanılan K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine toksik etki yaratmadığını göstermektedir (Şekil 40).

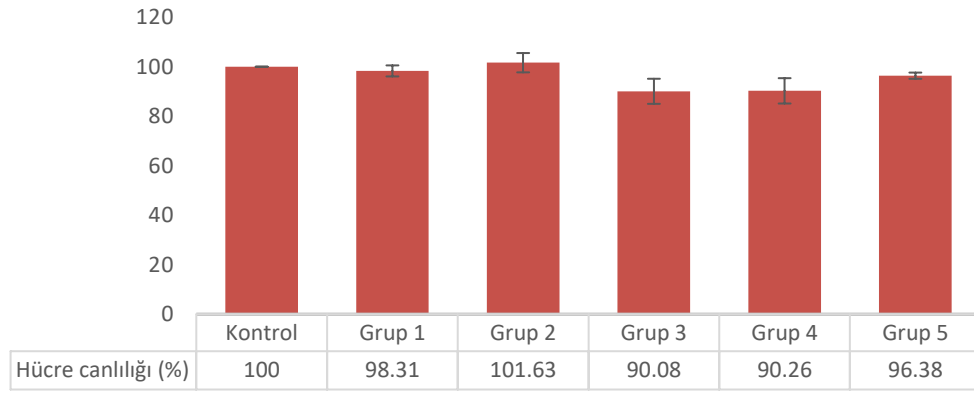


Şekil 40. Direkt sitotoksiste testinde kültürlen osteoblast hücrelerinin kontrol grubuna göre canlılık oranları

4.1.2. İndirekt Sitotoksiste Testi

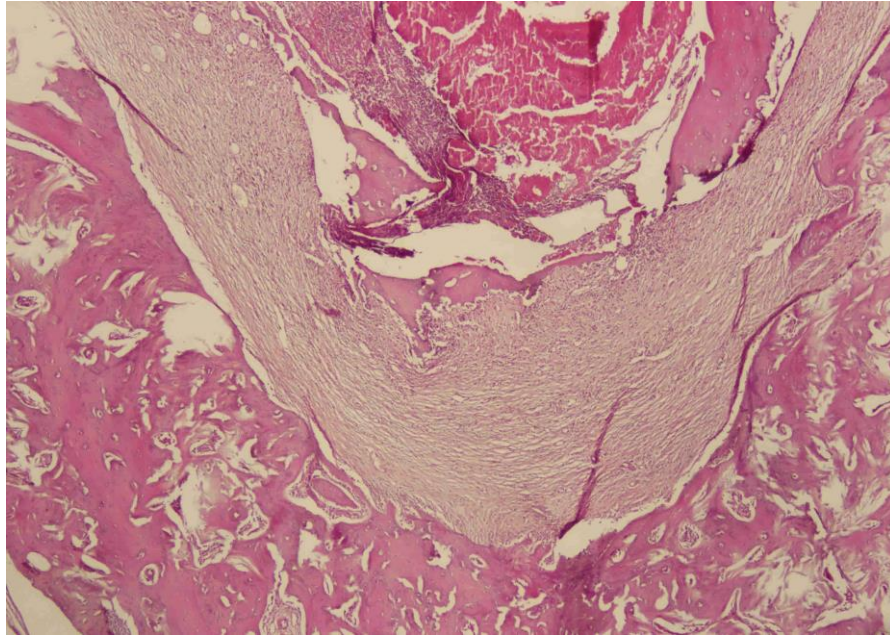
Çalışmada, HA-BA-Mg kaplı K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine etkisi indirekt sitotoksiste testi ile değerlendirilmiştir. İnsan kemik osteoblast hücrelerinin, kontrol grubuna göre proliferasyon oranları yüzde canlılık değerleri ile belirtilmiştir. Çalışma her bir grup üç tekrarlı olacak şekilde

düzenlenmiştir. Kontrol grubu olarak K teli materyalleri içermeyen sadece osteoblast hücresi içeren kuyucuklar kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre kontrol grubu içeren kuyucukların canlılık oranı % 100 olarak değerlendirilmiştir. Bu veriye göre K teli materyalleri ile inkübe edilmiş besiyeri ile kültürlenene osteoblast hücreleri canlılık oranı, grup 1 için % 98,31 oranında, grup 2 için % 101,63 oranında, grup 3 için % 90,08 oranında, grup 4 için % 90,26 oranında ve grup 5 için % 96,38 oranında belirlenmiştir. Sonuçlar, çalışmada kullanılan K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine toksik etki yaratmadığını göstermektedir (Şekil 41).

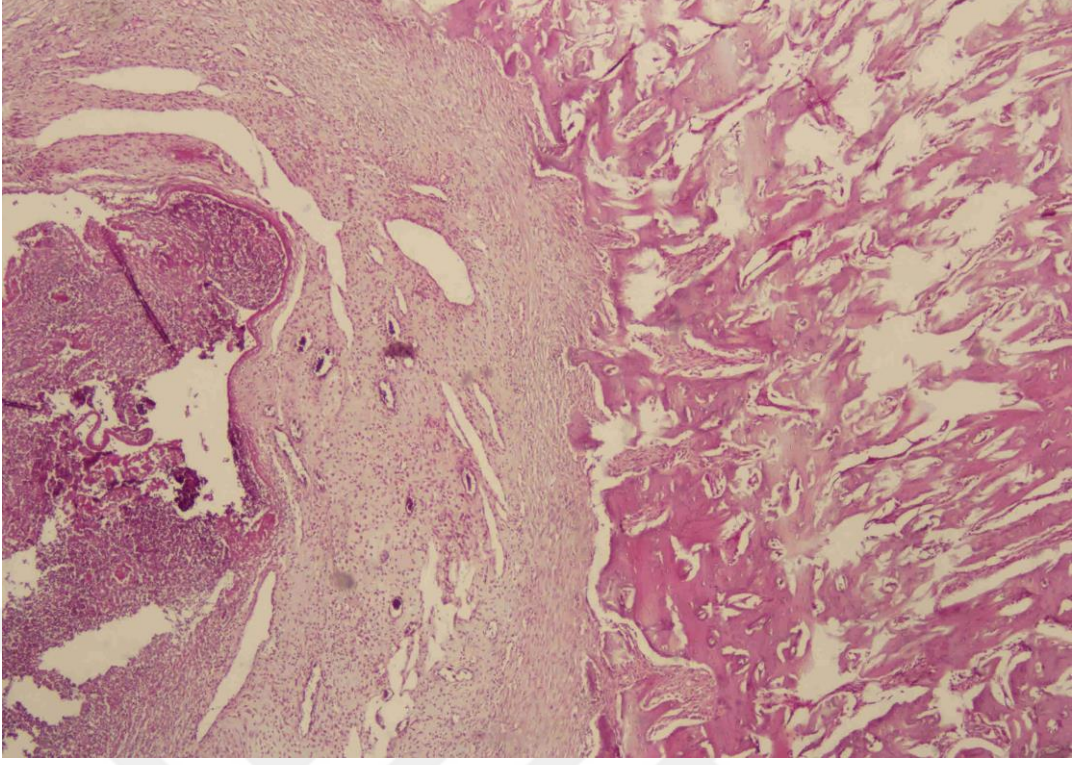


Şekil 41. İndirekt sitotoksikite testinde kültürlenene osteoblast hücrelerinin kontrol grubuna göre canlılık oranları

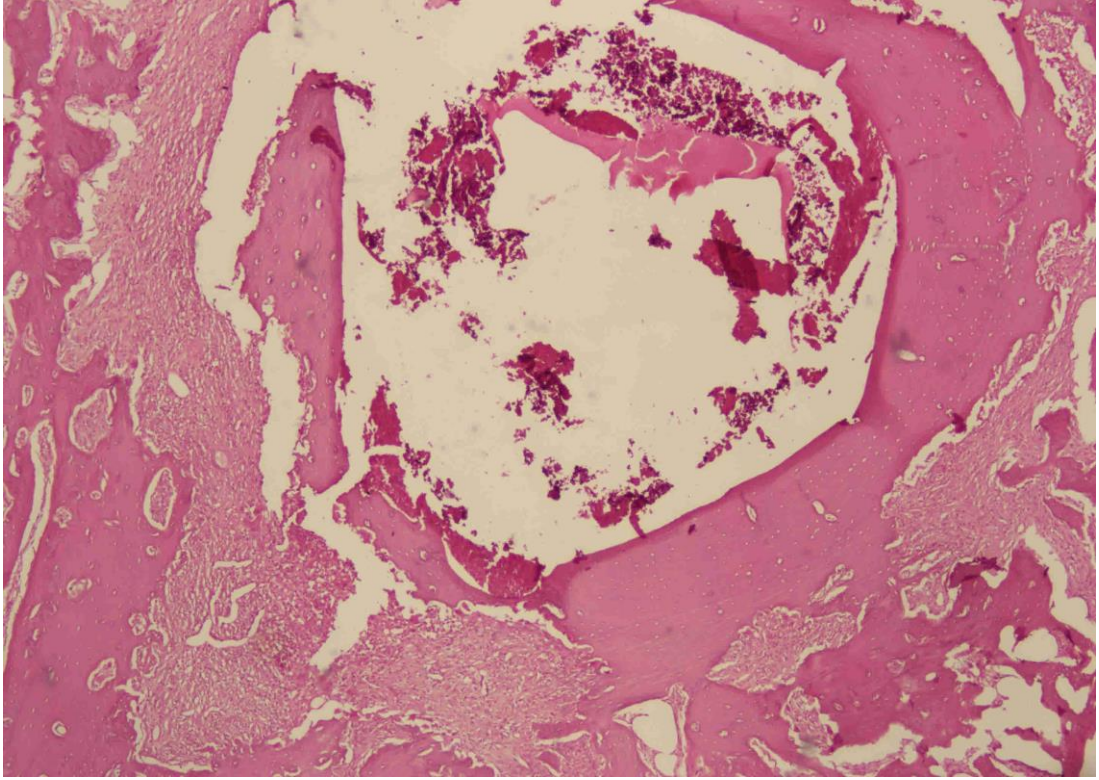
4.2. Histopatolojik Bulgular



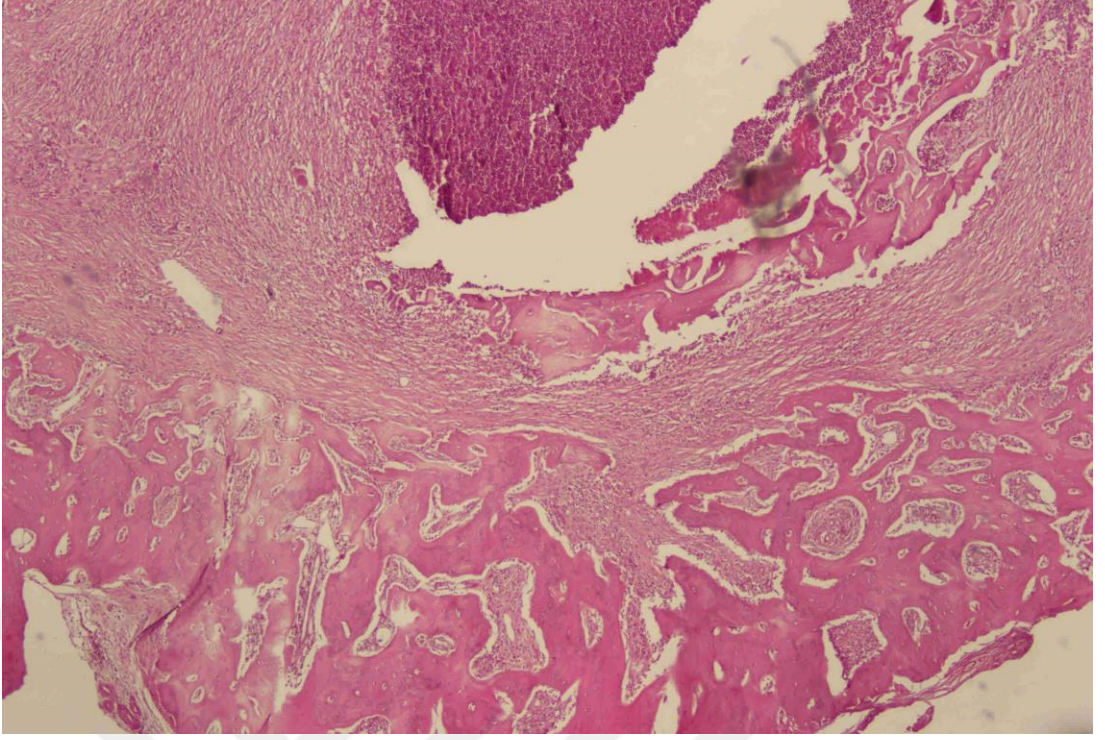
Şekil 42. 1. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



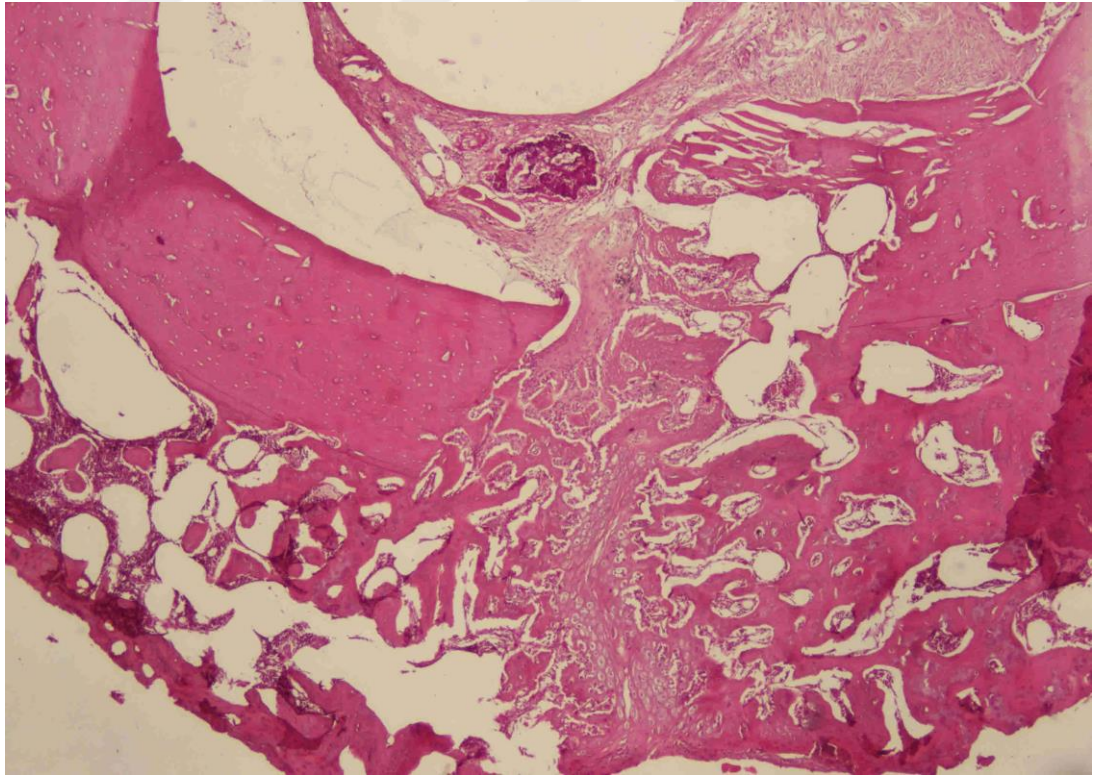
Şekil 43. 2. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



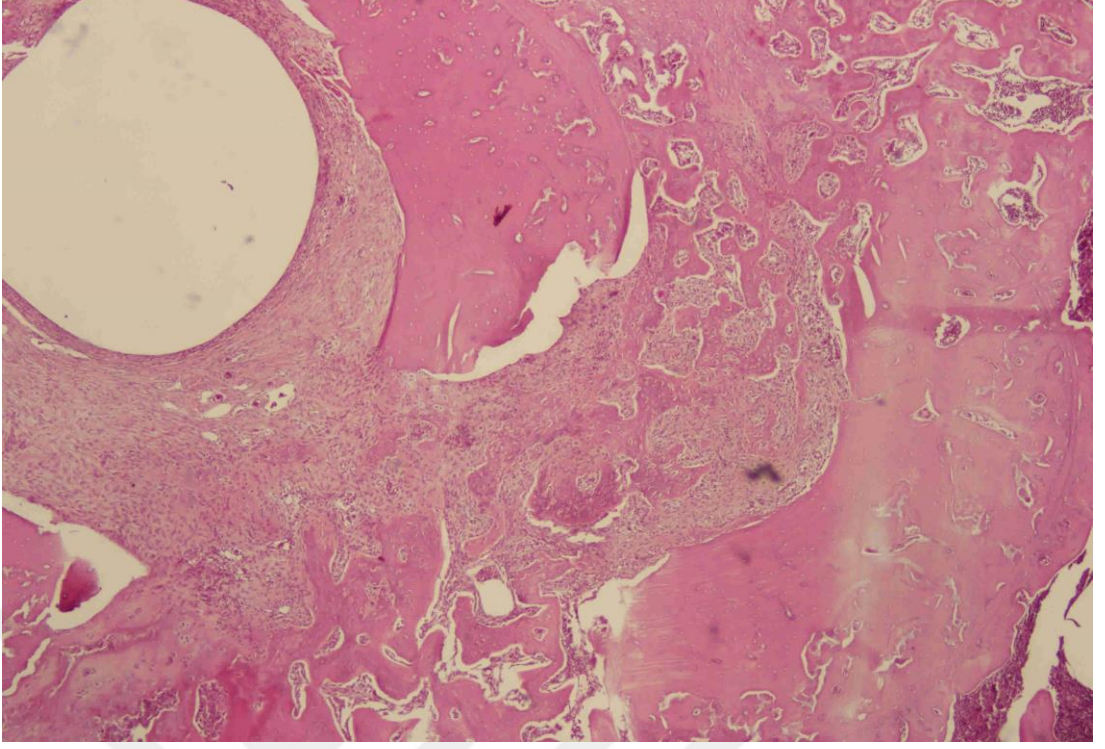
Şekil 44. 3. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



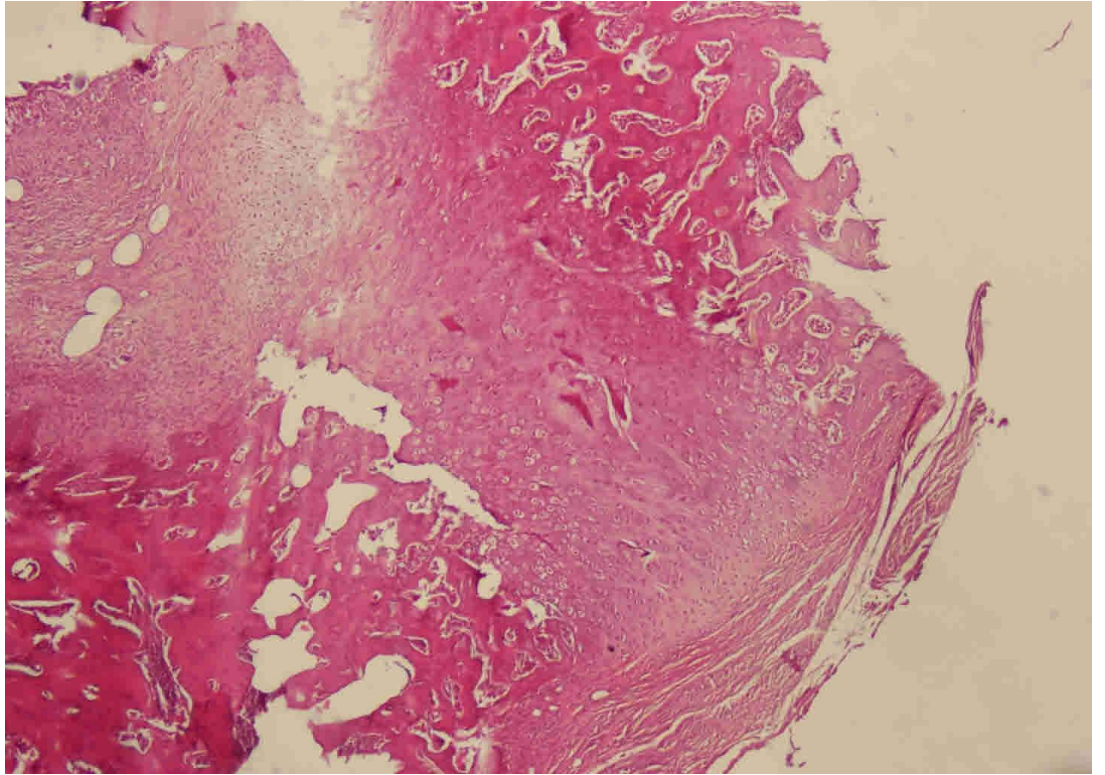
Şekil 45. 4. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



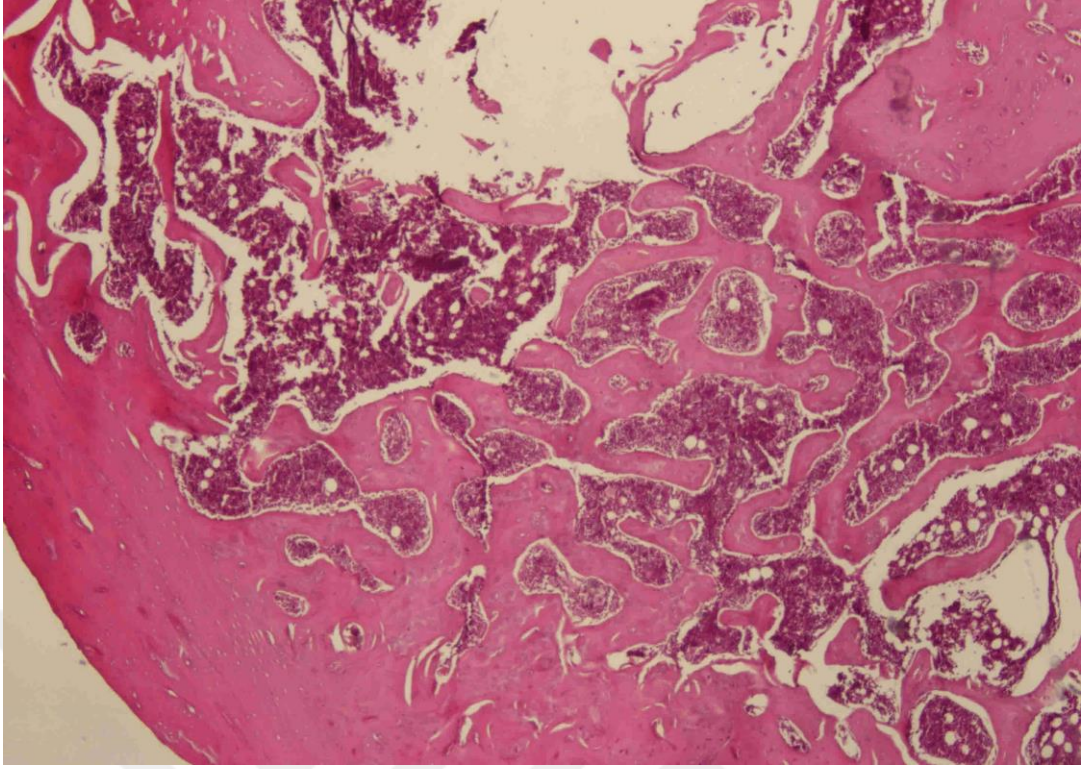
Şekil 46. 5. grup 6. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



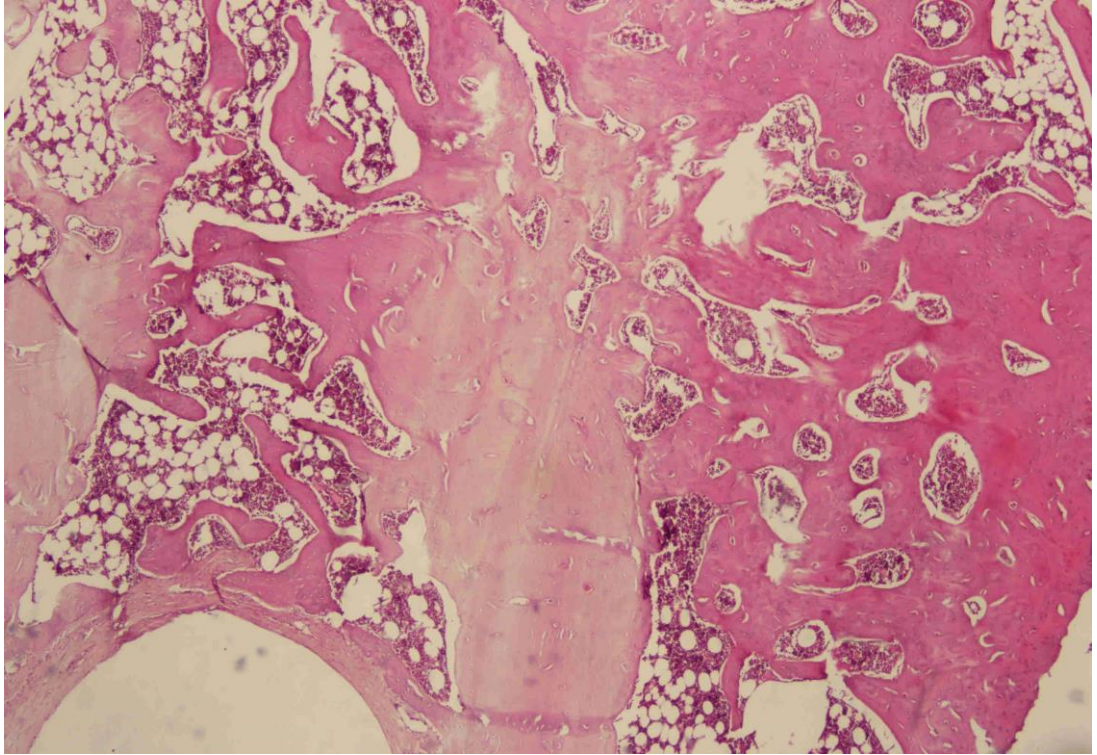
Şekil 47. 1. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



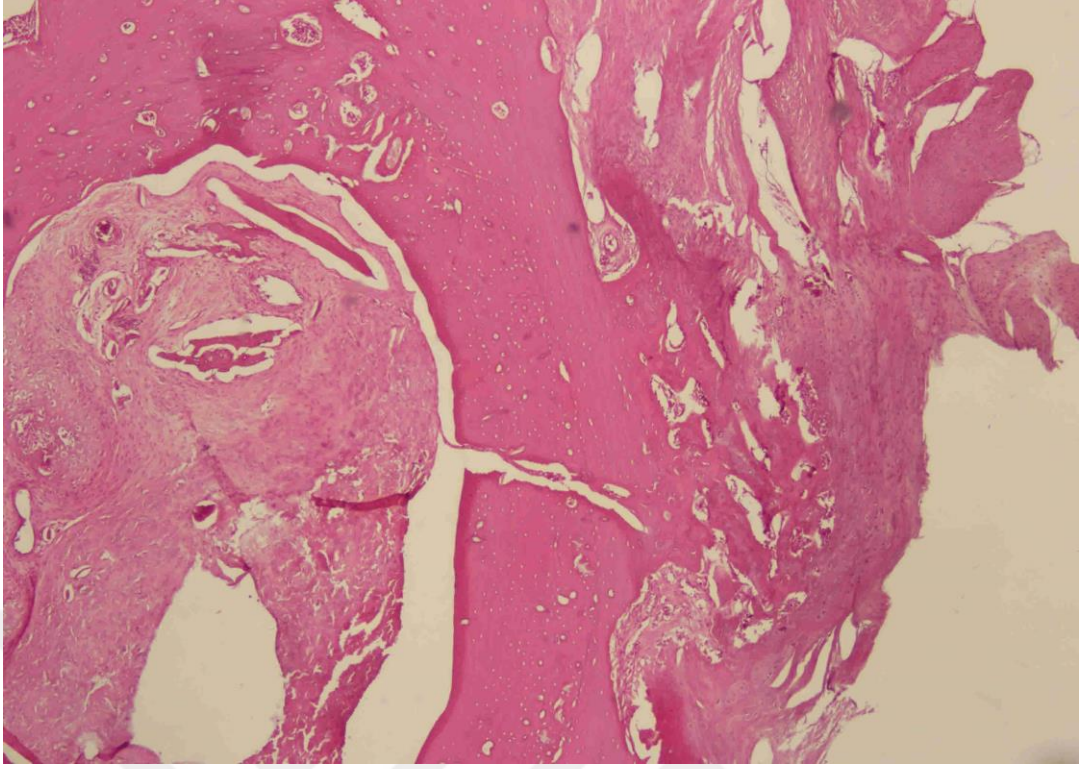
Şekil 48. 2. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



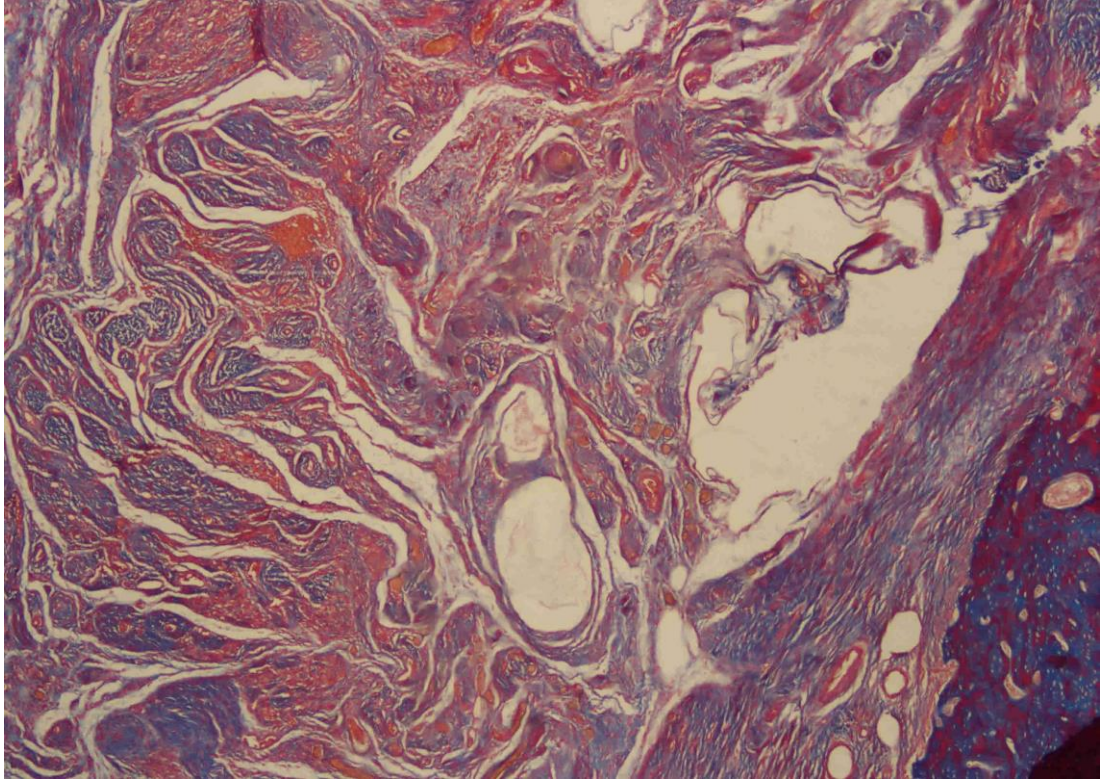
Şekil 49. 3. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



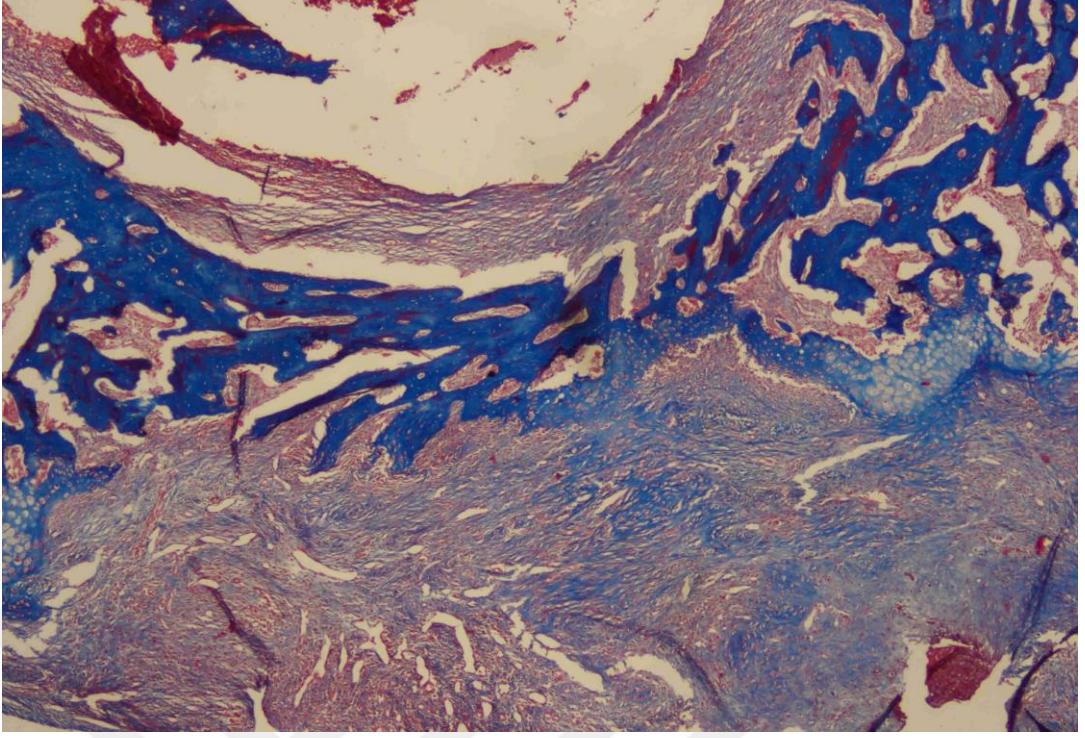
Şekil 50. 4. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



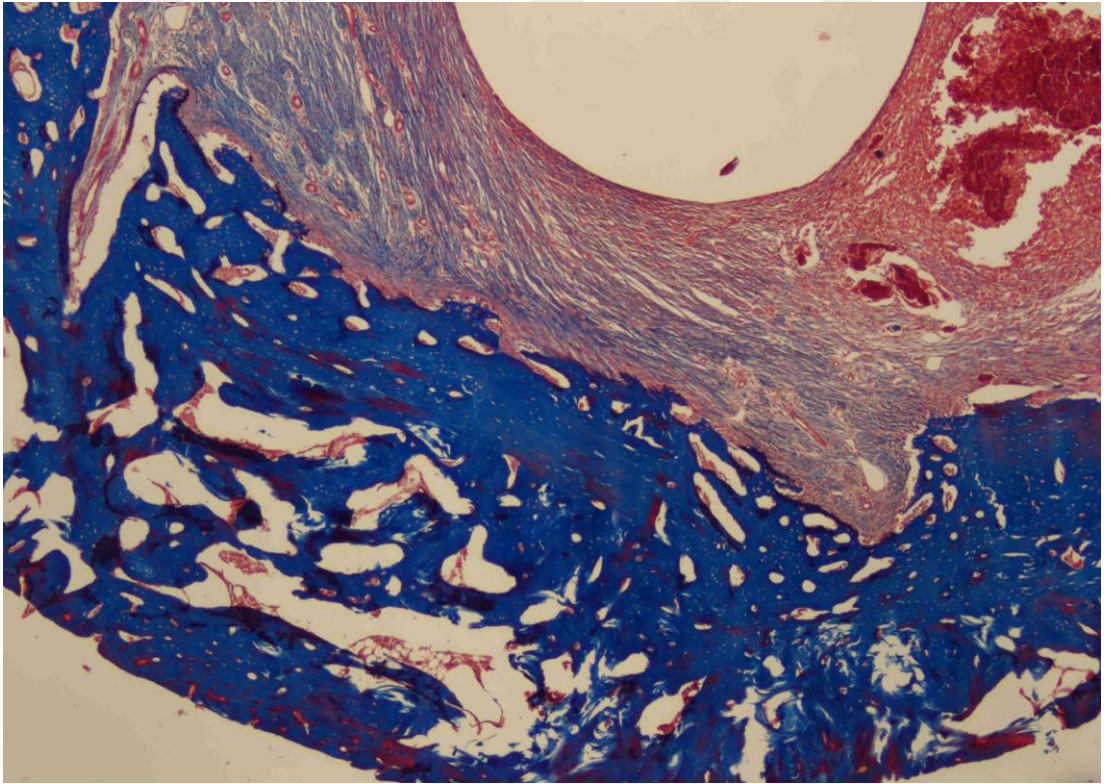
Şekil 51. 5. grup 12. hafta materyalinin Hematoksilen-Eozin boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



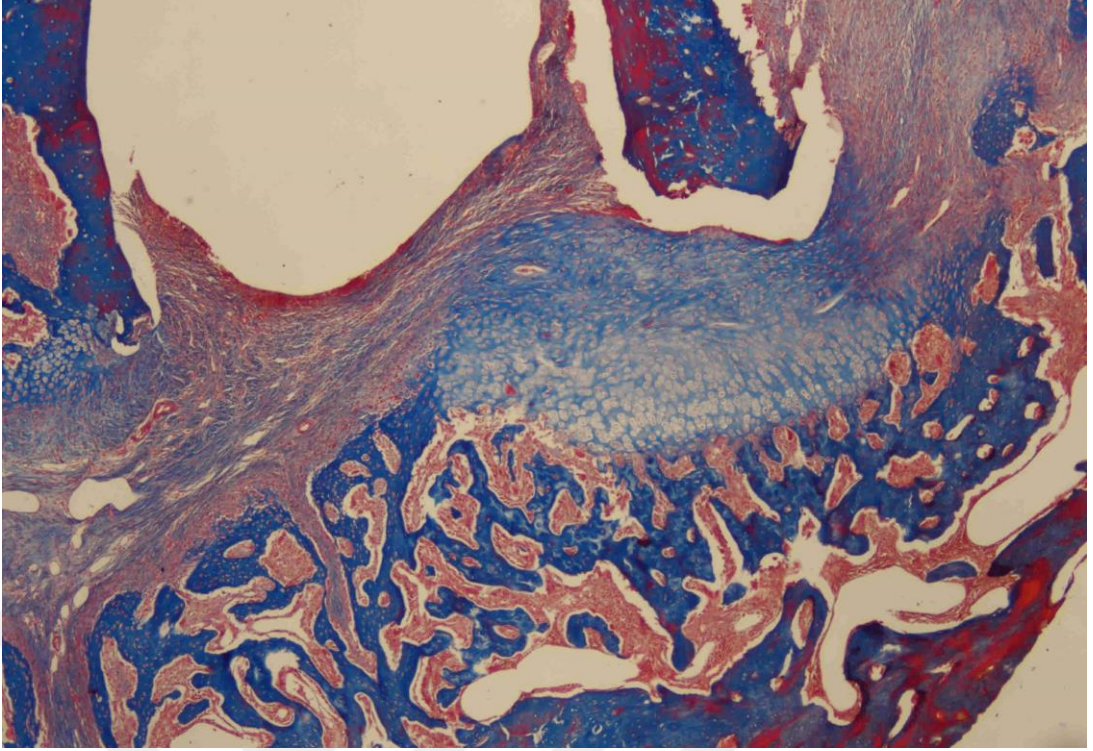
Şekil 52. 1. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



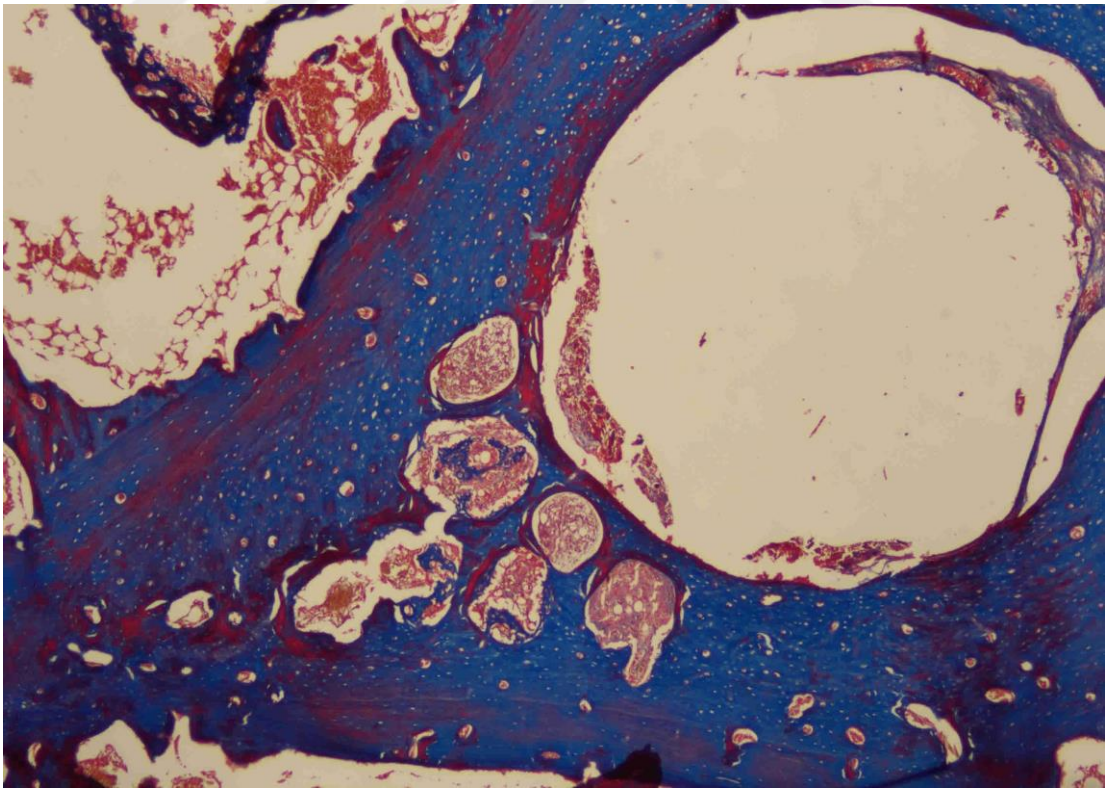
Şekil 53. 2. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



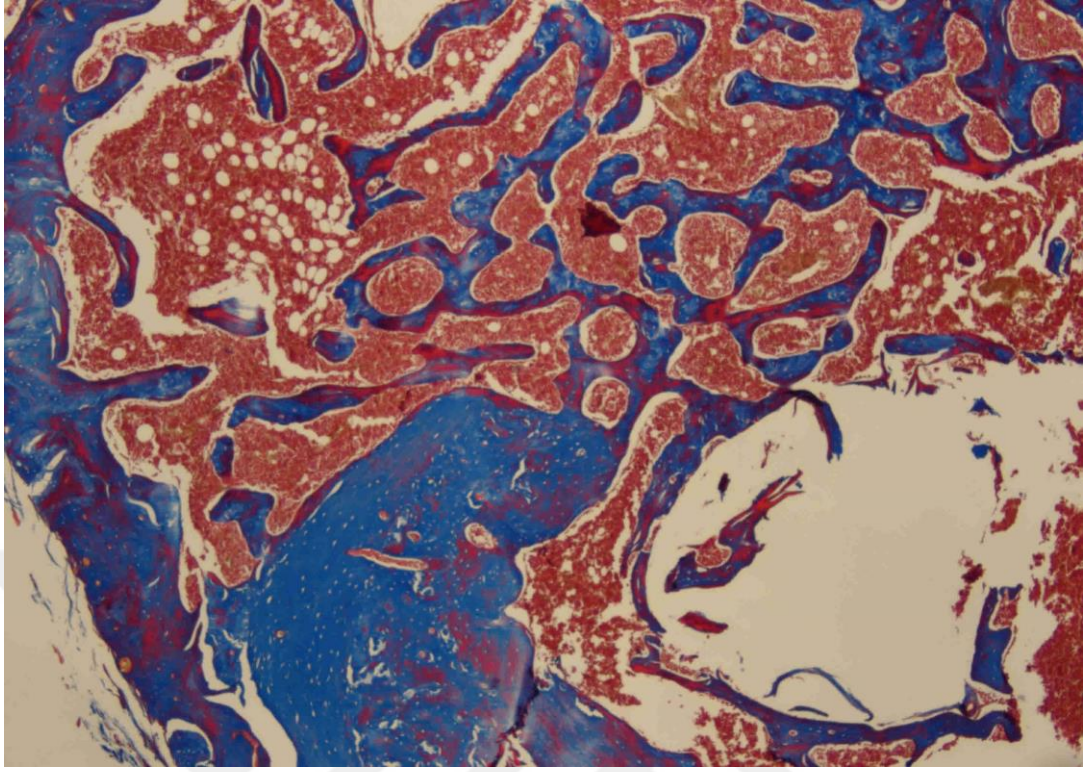
Şekil 54. 3. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



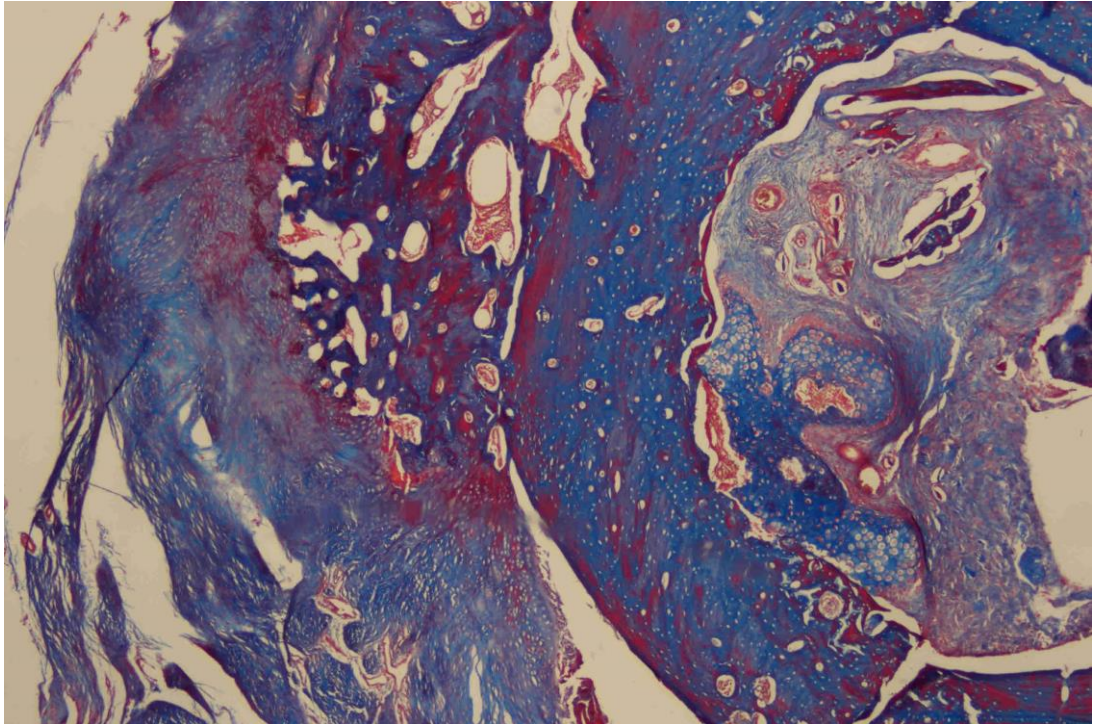
Şekil 55. 4. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



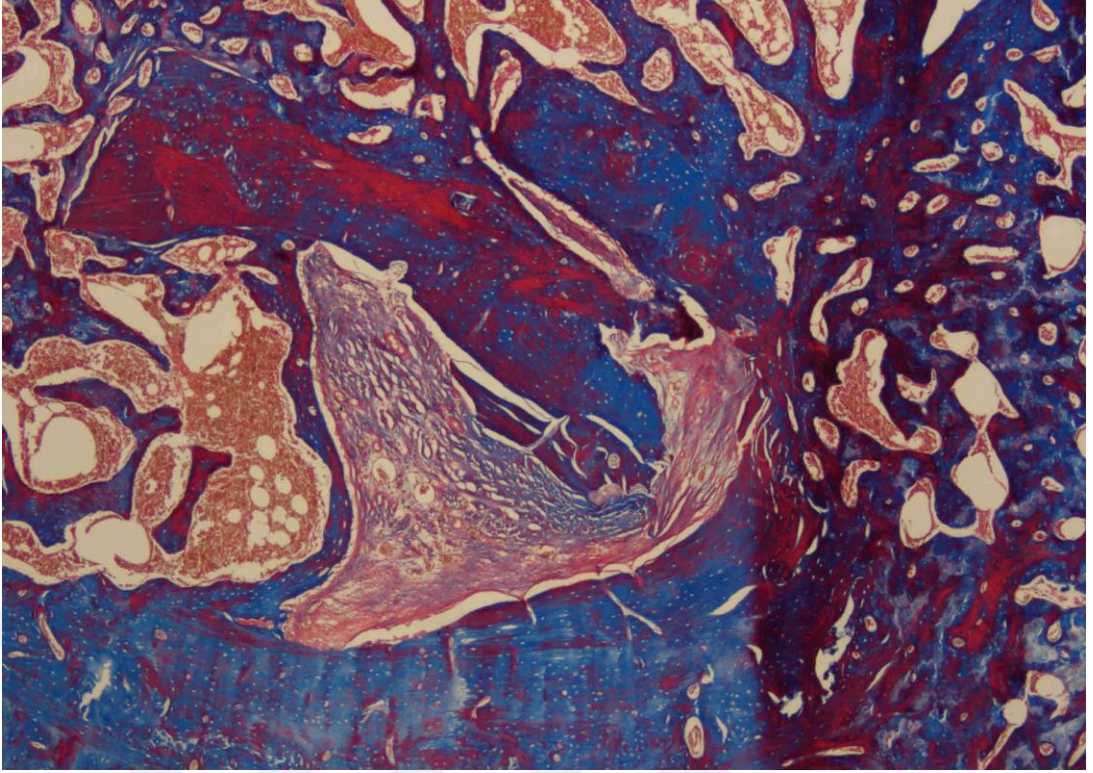
Şekil 56. 5. grup 6. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



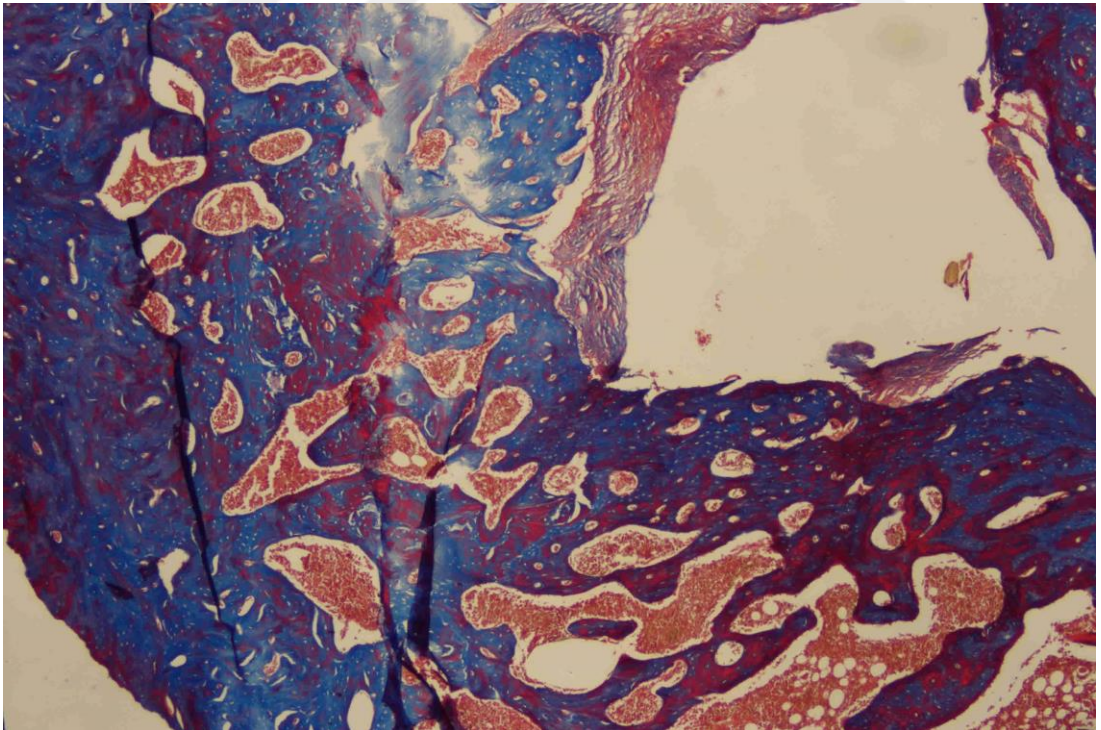
Şekil 57. 1. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



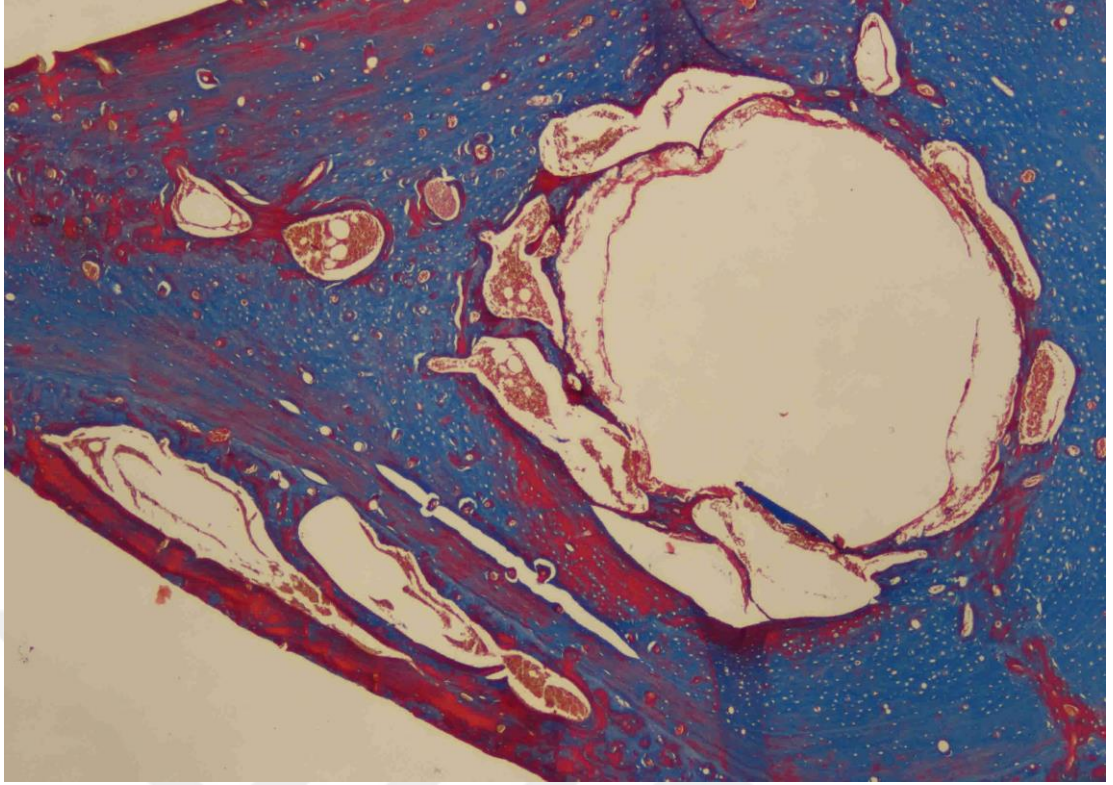
Şekil 58. 2. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



Şekil 59. 3. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



Şekil 60. 4. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü



Şekil 61. 5. grup 12. hafta materyalinin Masson-Tricrom boyamaya ait mikroskopik görüntüsü

4.3. RADYOLOJİK BULGULAR



Şekil 62. 1. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 63. 2. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 64. 3. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 65. 4. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 66. 5. grup 6. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 67. 1. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 68. 2. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 69. 3. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 70. 4. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler



Şekil 71. 5. grup 12. hafta radyolojik görüntülemeler

4.4. İSTATİSTİKSEL BULGULAR

İstatiksel analizler IBM SPSS.23 programı yardımıyla yapıldı. Gruplar 1,2,3,4,5 olarak numaralandırılmış olup, A ifadesi 6. hafta B ifadesi 12. hafta olarak sunulmuştur. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca değerler kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen (nonparametrik) değişkenler iki grup arasında değerlendirilirken Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. İki'den fazla grupta normal dağılım göstermeyen sürekli değişken karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis Testi kullanıldı. Kruskal-Wallis Testinin anlamlı bulunduğu durumlarda post-hoc analiz olarak Pairwise Comparisons Testi kullanıldı. $p < 0.05$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

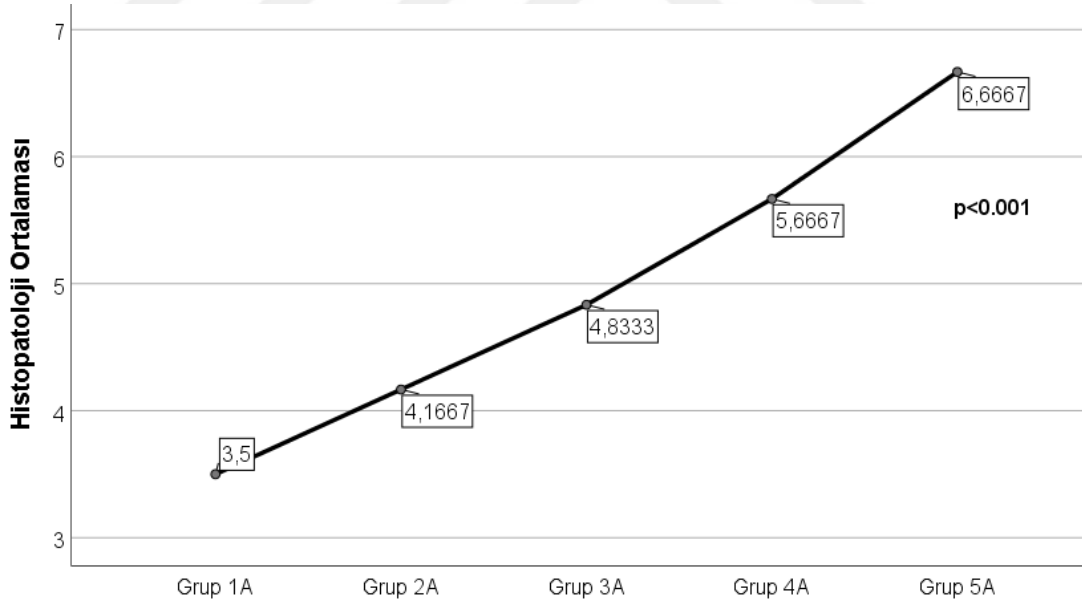
4.4.1. Histopatolojik Bulgular

Tablo 3. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası aynı gruptaki 6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının ortalamaları ve istatistik sonuçları

	HUO		p ²
	Ort ± s.s.	Medyan	
Grup 1A	3,50±0,54	3,50	0,002
Grup 1B	6,17±0,40	6,00	
Grup 2A	4,17±0,40	4,00	0,002
Grup 2B	6,00±0,63	7,00	
Grup 3A	4,83±0,40	5,00	0,002
Grup 3B	7,67±0,51	8,00	
Grup 4A	5,67±0,51	6,00	0,003
Grup 4B	7,67±0,51	8,00	
Grup 5A	6,67±0,51	7,00	0,003
Grup 5B	9,67±0,51	10,00	

p²* Mann Whitney U Testi

Tüm gruplarda, aynı grup içerisindeki 6. hafta ve 12. hafta deney grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır. Aynı gruptaki 12.hafta deney gruplarının, 6.hafta deney gruplarına göre kırık iyileşmesinde anlamlı artış görülmüştür.



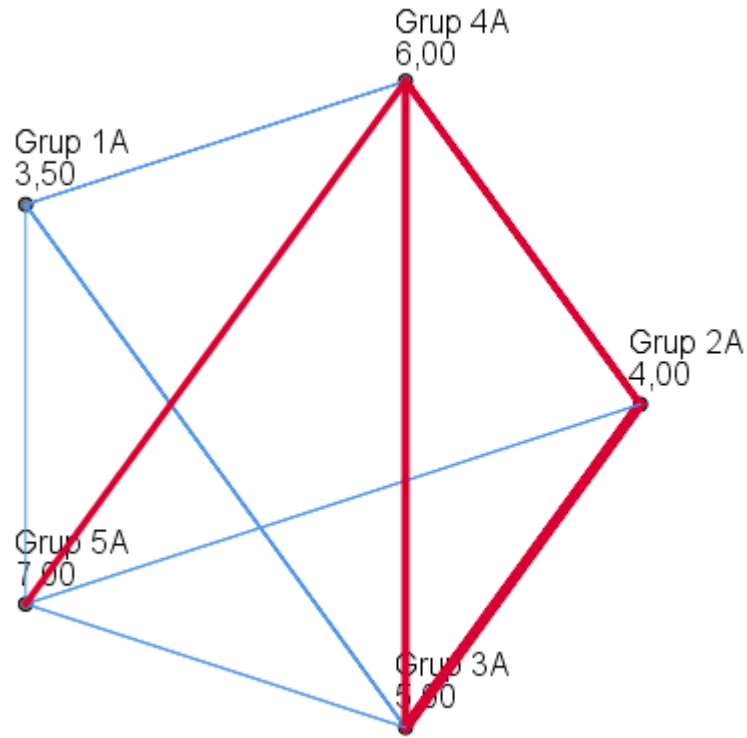
Şekil 72. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası gruptaki 6. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması

Tüm gruplar 6. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 5. deney grubunun en yüksek değerde ve anlamlı olduğu görülmüştür. (p<0.001)

Tablo 4. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası, 6. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırılması

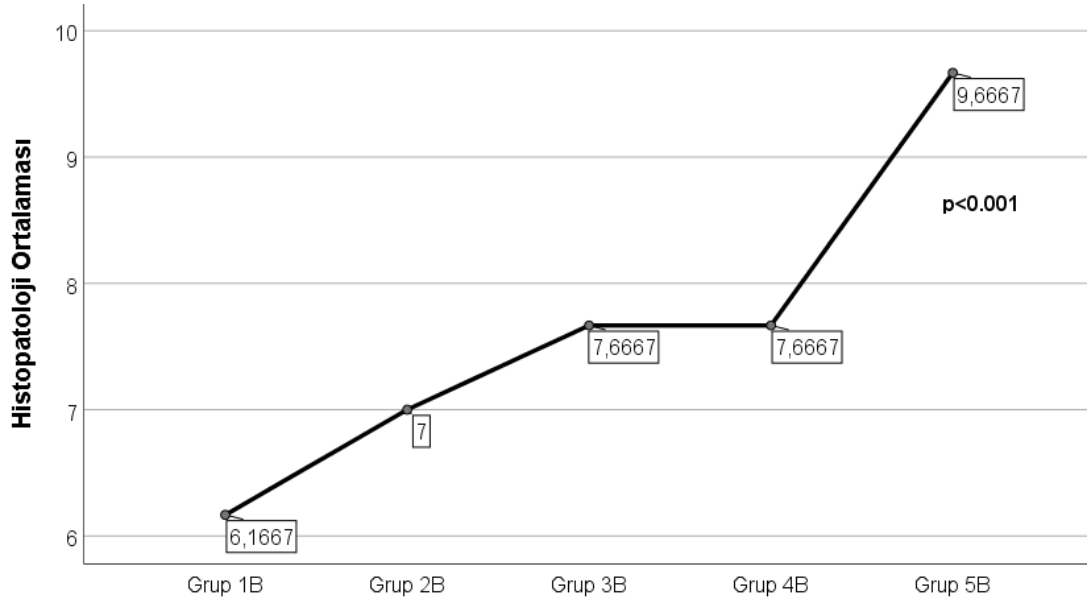
	p^2
Grup 1A- Grup 2A	1,000
Grup 1A- Grup 3A	0,034
Grup 1A- Grup 4A	0,005
Grup 1A- Grup 5A	0,005
Grup 2A- Grup 3A	0,209
Grup 2A- Grup 4A	0,143
Grup 2A- Grup 5A	0,005
Grup 3A- Grup 4A	0,143
Grup 3A- Grup 5A	0,005
Grup 4A- Grup 5A	0,143

p2* Kruskal-Wallis Testi



Şekil 73. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası 6. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırılması

Tüm gruplardaki 6. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırıldığında; Şekil 73. deki mavi çizgiler gruplar arası anlamlı fark olduğunu, kırmızı çizgiler gruplar arası anlamlı fark olmadığını göstermektedir.



Şekil 74. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası gruptaki 12. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması

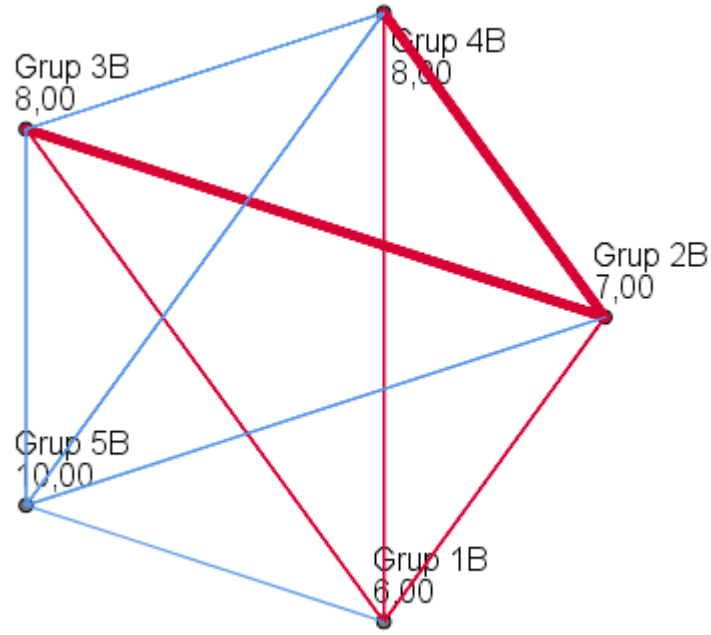
Tüm gruplar 12. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 5. deney grubunun en yüksek değerde ve anlamlı olduğu görülmüştür. ($p<0.001$)

Tablo 5. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası, 12. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırılması

	p ²
Grup 1B- Grup 2B	0,209
Grup 1B- Grup 3B	0,143
Grup 1B- Grup 4B	0,143
Grup 1B- Grup 5B	0,005
Grup 2B- Grup 3B	0,790
Grup 2B- Grup 4B	0,790
Grup 2B- Grup 5B	0,005
Grup 3B- Grup 4B	-
Grup 3B- Grup 5B	0,005
Grup 4B- Grup 5B	0,005

p²* Kruskal-Wallis Testi

(Grup 3B ile Grup 4B medyan değerleri aynı olduğu için ikili grup karşılaştırması yapılamadı.)



Şekil 75. Huo ve Ark. değerlendirmesi sonrası, 12. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırılması

Tüm gruplardaki 12. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırıldığında; Şekil 75. deki mavi çizgiler gruplar arası anlamlı fark olduğunu, kırmızı çizgiler gruplar arası anlamlı fark olmadığını göstermektedir.

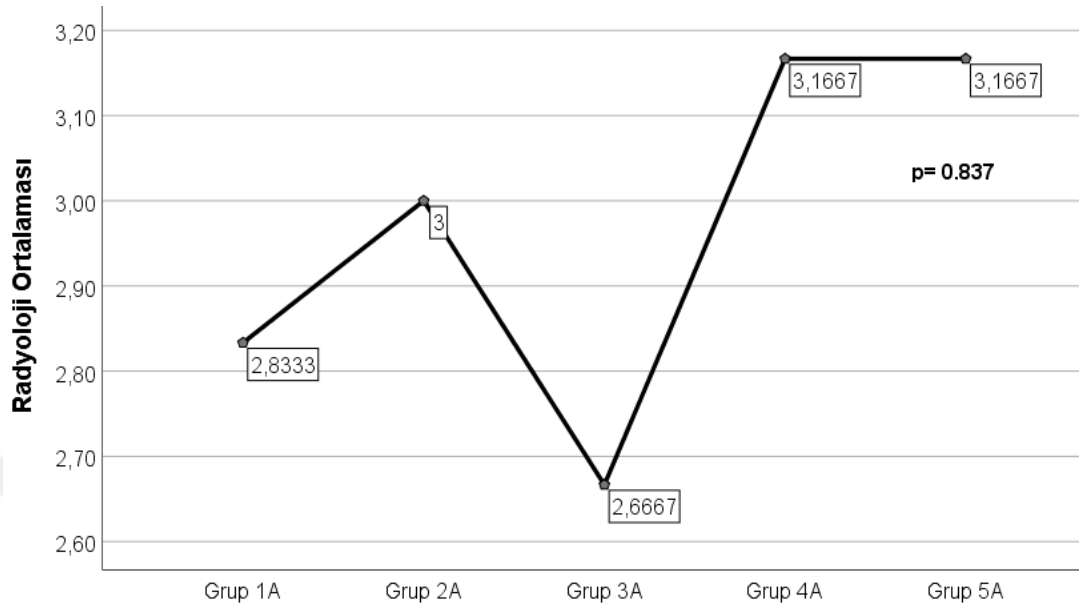
4.4.2. Radyolojik Bulgular

Tablo 6. Lane-Sandhu değerlendirmesi sonrası aynı gruplardaki 6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının ortalamaları ve istatistik sonuçları

	LANE-SANDHU		p ²
	Ort ± s.s.	Medyan	
Grup 1A	2,83±1,16	3,00	0,799
Grup 1B	3,00±1,09	3,00	
Grup 2A	3,00±0,89	3,00	0,162
Grup 2B	3,66±0,51	4,00	
Grup 3A	2,66±1,03	3,00	0,235
Grup 3B	3,33±0,81	3,50	
Grup 4A	3,16±0,75	3,00	1,000
Grup 4B	3,16±0,75	3,00	
Grup 5A	3,16±0,40	3,00	0,093
Grup 5B	3,66±0,51	4,00	

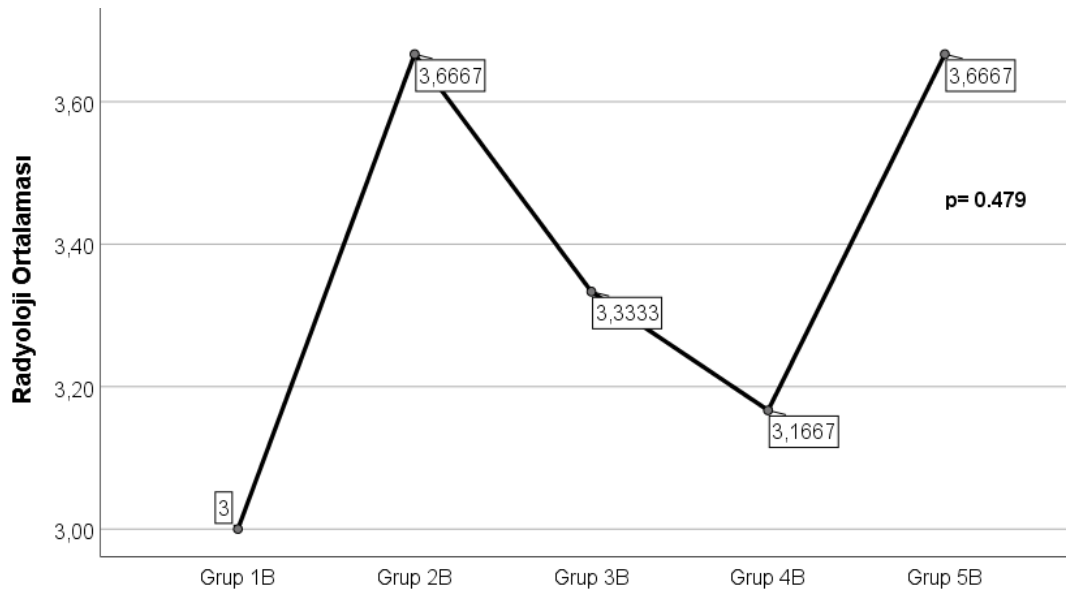
p2* Mann Whitney U Testi

Tüm gruplarda, aynı grup içerisindeki 6. hafta ve 12. hafta deney grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.



Şekil 76. Lane-Sandhu değerlendirmesi sonrası gruplardaki 6. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması

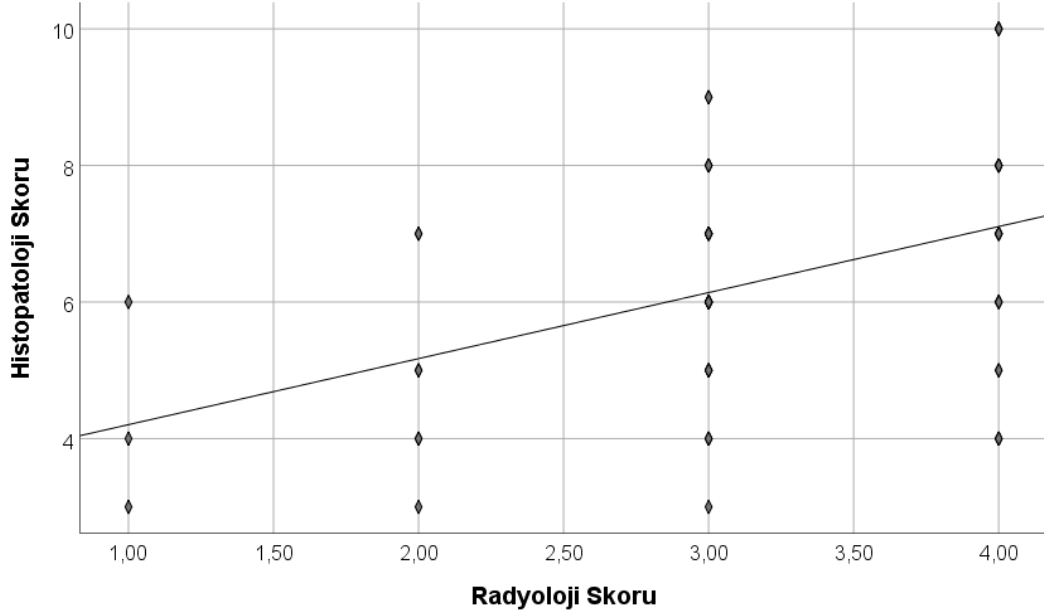
Tüm gruplar 6. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 4. ve 5. deney gruplarının en yüksek değerde, 3. deney grubunun ise en düşük değerde olduğu görülmüştür. Fakat anlamlı fark saptanamamıştır. (p=0,837)



Şekil 77. Lane-Sandhu değerlendirmesi sonrası gruplardaki 12. hafta deney grupları ortalamalarının karşılaştırması

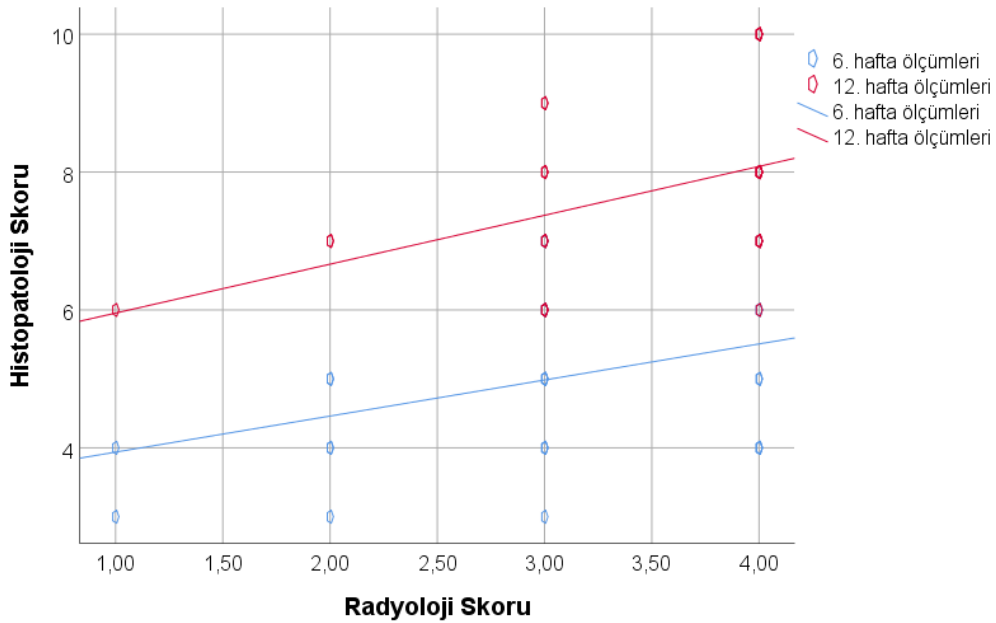
Tüm gruplar 12. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 2. ve 5. deney grubunun en yüksek değerde, 1.deney grubunun ise en düşük değerde olduğu görülmüştür. Fakat anlamlı fark saptanamamıştır. ($p=0.479$)

4.4.3. Histopatoloji – Radyoloji Korelasyonu



Şekil 78. Tüm deneklerin histopatoloji ve radyoloji skorları korelasyonunun değerlendirilmesi

Tüm gruplarda histopatoloji ve radyoloji skorları karşılaştırıldığında birbirleri arasında korelasyon olduğu görülmüştür. ($p<0.001$ ve $r= 0.438$)



Şekil 79. 6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının histopatoloji ve radyoloji skorları korelasyonu değerlendirilmesi

6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının histopatoloji ve radyoloji skorları karşılaştırıldığında birbirleri arasında korelasyon olduğu görülmüştür.(6. Hafta için $p=0,047$ ve $r=0,365$, 12.hafta için $p=0,019$ ve $r=0,426$)



5. TARTIŞMA

Kemik doku ile kas doku birlikte vücudun yapısal desteğini ve hareket gücünü sağlayan dinamik bir dokudur. Vücuttaki endokrin, metabolik ve travmatik faktörlere göre yapısal değişiklik gösterebilen dinamik bir doku bütünüdür. Bu özelliklerine ek olarak kemik doku bazı iyonlar için depo görevi görmekte, asit baz dengesini sağlamakta ve hematopoez gibi önemli görevleri de üstlenmektedir [1].

Kemik yapının anatomik bütünlüğünün tamamen ya da kısmi olarak bozulması ve çevre yumuşak dokuların da beraberinde etkilenmesi durumu kırık olarak adlandırılmaktadır. Birçok etyolojik nedene bağlı olarak oluşabilen kırıklar vücudun tüm kemiklerinde oluşabilmekte ve olduğu yere göre mortalite ve morbiditeye sebep olmaktadır. Günümüzde artan iş kazaları ve trafik kazalarının yanı sıra yaşlı nüfusun artması nedeniyle kırıkların sık görülmesi, kırık iyileşmesini önemli bir sağlık problemi haline getirmiştir. Kırıklar ve kırık iyileşmesi konusu, beklenen yaşam süresinin artmaya devam ettiği günümüz dünyasında hala ilk günkü önemini korumaktadır. Kırıkların büyük çoğunluğu konservatif veya cerrahi tedavi yöntemleriyle sorunsuz olarak iyileşmektedir. Geç kaynama veya kaynamama gibi sorunların görüldüğü ek tedavi gerektiren yaklaşık %5-10'luk bir kısım bulunmaktadır. Bu problemlilerde normal iyileşmenin sağlanması ve iyileşme sürecinin hızlandırılması; tekrarlayan tedavi gereksinimlerini, işgücü kaybını, morbidite artışını ve tedavi maliyetlerinin artmasını engelleyecektir ve hastanın en kısa sürede normal yaşantısına dönmesine olanak sağlayacaktır. Bu nedenle de birçok yöntem araştırılmakta ve denenmektedir [80].

Kırık iyileşmesi birçok etkenin rol aldığı karmaşık bir süreç döngüsüdür. Güncel yayınlarda farklı süreçlerin değişkenliğinin koordinasyonunu içeren karmaşık bir döngü olarak ele alınmaktadır [2]. Kırık iyileşmesi birçok fizyolojik, biyolojik ve mekanik faktörden etkilenmektedir. Günümüzde kırık iyileşmesi üzerine etkili birçok biyolojik faktör ve mekanizma aydınlatılmıştır. Tüm tedavi yöntemlerine rağmen kırıkların bir kısmında kaynama ile ilgili problemler görülmektedir. Hastanın yaşı, beslenme ve hormonal durum, yetersiz redüksiyon, eşlik eden hastalıklar, enfeksiyonlar, ilaçlar ve travmanın özelliği, kırık iyileşmesini etkileyen faktörler olarak bildirilmiştir [3].

Kırık tedavisindeki tespit ve cerrahi tekniğin seçiminde kemiğin kalitesi, kırığın tipi, anatomik lokalizasyonu ve cerrahın tercihi gibi faktörler temel alınır. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörlerden biri kırığın şekli ve yaralanmanın tipidir. Açık ya da kapalı kırık olması, segmental ya da tek transvers bir kırık olması tedavi yaklaşımını ve sonucunu etkiler. Kırık olduğu anda ortamda bulunan hücre çeşitliliği, faktörlerin düzeyi de iyileşmeyi etkiler [81]. Gecikmiş kaynama veya kaynamama gibi sorunlar; ek medikal tedavilere, ameliyatlara, iş gücü ve maddi kayıplara neden olmaktadır. Kırığın kaynaması için beklenen süre ne kadar kısalsın ve kırık ne kadar erken iyileşirse maliyetler o kadar düşük olacak, hastanede yatış süresi azalacak, yaşam kalitesi artacak, işe dönüş erken olacak ve toplam iş gücü kaybı azalacaktır. Kırık iyileşme sürecinin hızlanması; hastaların sosyal hayatlarına tekrar dönebilmesi ve ekonomik üretkenliklerine yeniden başlamaları açısından önemlidir. Medikal olarak kırık iyileşmesinin desteklenmesiyle hastaların morbiditesi azalmakta ve sağlık harcamaları maliyetleri de önemli oranda azalmaktadır.

Hidroksiapatitler (HA), biyomalzeme olarak implant kaplamalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Yapılan araştırmalara göre kemik yapısının %60 oranında HA ve %20 oranında da kollajen lifler içerdiği gösterilmiştir [5]. HA biyoseramikleri sıklıkla implant kaplama malzemesi olarak yumuşak doku ile implant arasında bir ara yüzey oluşturup implantın kaymasını engellemektedir. HA kemik dolgu materyali olarak toz halde ya da gözenekli blok şeklinde kullanılır [5]. HA'nın gözenekli yapısı antibiyotik, hormon, enzim, antikor parçaları ve steroidler gibi çeşitli farmakolojik maddelere yüksek bağlanma afinitesi gösterir. Bu nedenle, sentetik HA'nın kullanımı birçok klinik uygulamada, sürekli salım kapasitesiyle osteomyelit, osteoporoz ve kemik kanseri gibi hastalıklarda, kemikte bölgesel olarak oluşan hasarların doldurulması ihtiyacını önemli ölçüde karşılamaktadır [6].

Borik asit hayvanlar, bitkiler ve insanlar için önemli bir iz elementtir [7]. Beslenme yoluyla vücuda alınan bor, birçok metabolik enzimin aktivitesini etkilemesinin yanı sıra, steroid hormonların ve kalsiyum, magnezyum, vitamin D gibi pek çok mikro besinin metabolizmasını da etkilemektedir. BA, magnezyum, vitamin D ve kalsiyum gibi kemik sağlığı üzerinde önemli etkileri olan mikro besinlerin metabolizmasında görev almaktadır. Buna bağlı olarak osteoporozun

önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir. Yapılan bir çalışmada, tavuklarda beslenme ile yetersiz bor alımının yetersiz magnezyum alımına da neden olduğu belirtilmiştir [10]. Uygun miktarda bor alımı plazma kalsiyum ve magnezyum seviyelerini yükseltmiştir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında borun vitamin D üzerine de dolaylı bir etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır [11].

Magnezyum için ana depo kemikler olup kalsiyum ve fosfatla birlikte bulunmaktadır. Kas-sinir fonksiyonunun sürdürülmesi, kemik dokunun sağlamlığının devamı ve kalp ritminin korunmasında rol almaktadır. Ayrıca kasların güçlenmesi, protein sentezi ve enzim sistemi aktivitesinde büyük öneme sahiptir. 300'ün üzeri enzim reaksiyonunda kofaktör olarak bulunan, homeostazis için elzem olan eser elementlerden biri olup, hücre içindeki en baskın divalan katyondur. Magnezyum, çeşitli reaksiyonlarda direkt enzim aktivasyonuna veya enzim substratı oluşumuna katkı sağlamaktadır [13]. Hücre adezyonu veya membran geçişlerinde aktif rol alarak membran fonksiyonunu sağlar. Proteinlerin, nükleik asitlerin, ribozomların, mitokondrinin ve çok sayıda enzim molekülünün yapı taşıdır.

Literatür incelendiğinde intramedüller tespit, plakla tespit ve eksternal fiksator ile tespit kırık sonrası tespit yöntemleri arasında olduğu görülmektedir [82]. Çalışmamızda da uygulamanın pratik olması ve rat femurunun büyüklüğü düşünüldüğünde literatürde olduğu gibi [82] kırık fiksasyonu için K teli kullanılıp cerrahi sonrası deneklere ek bir tespit ve immobilizasyon uygulanmadı. Kemikğin çapıyla uyumlu olup olabildiğince sıkı tespit sağlayacak çapta tel kullanılmasına ve kırık hattında distraksiyon, rotasyon kusuru olmamasına, dikkat edildi. Uyguladığımız intramedüller tespitte günümüzde uzun kemik kırıklarında sıkça kullanılan intramedüller çivilerin sahip olduğu kilitleme avantajı bulunmadığından biz de bu dezavantajı mümkün olan en kalın teli kullanarak tespitin stabilitesini arttırarak aşmaya çalıştık.

Deneyssel kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda en çok kullanılan hayvanlar köpek, tavşan ve ratlardır. Wistar tipi ratların femurları Sprague-Dawley tipi sıçanların femurlarına göre insan femurlarına daha yakın morfolojiye sahip olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da insan femuru ile benzer özellik göstermesinden dolayı Wistar tipi ratlar kullanılmıştır [83].

Yapmış olduğumuz bu çalışmada; biyomedikal mühendisliği sayesinde üretilen, farklı bileşenlerin yer aldığı kaplama materyallerinin geliştirilmesini sağlayarak bunların kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda; sıçanların femur kemiği diyafer bölgesinde oluşturulan kırıklarda, Hidroksiapatit (HA), Borik Asit (BA), Magnezyum (Mg) kombinasyonlarından üretilen Kirschner teli (K teli) ile kırık fiksasyonun kırık iyileşmesi ve onarımında etkisi histolojik, radyolojik ve biyomekanik olarak araştırılmıştır.

Yapılan bir çalışmada osteoporotik ratların femur ve tibiasına Mg içeren biyomateryal implantasyonu yapılmış, histolojik olarak incelenen materyallerin etrafında, yeni kemik oluşumunun önemli derecede daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir [84]. Benzer şekilde yapılan çalışmalar Mg takviyesinin kemik mineral yoğunluğunu ve yeni kemik oluşumunu arttırdığını, kırık gelişimini önlediğini göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise erken ve geç dönem kırık iyileşmesinde Mg içeren implant kullanımı ile en iyi histolojik sonuçlar elde edilmiştir. Buradan yola çıkarak kırık tespit materyallerinde Mg kaplama yapılmasının kırık iyileşmesinde olumlu sonuçlar doğuracağını düşünmekteyiz.

Mg, hidroksiapatit kristal meydana gelmesinde önemli bir rol oynar [85], [86]. Düşük Mg diyetinin, sıçan femurlarında elastik modülü düşürdüğü ve femuru zayıflattığına dair çalışmalar vardır [87]. Kemik homeoastazisinde etkin rol oynayan Mg'un kırık iyileşmesinde de etkin olabileceği yaptığımız çalışmada araştırılmış olup, ulaştığımız veriler ile kırık iyileşmesinde HA + Mg kaplı biyomateryalin kırık iyileşmesini oldukça iyi oranda artırdığını söyleyebilmekteyiz.

Uzun kemik diafiz kırıklarında (özellikle femur ve tibia) kilitli intramedüller çivileme günümüzde en geçerli cerrahi tedavi yöntemi olarak kabul görmektedir. Literatüre bakıldığında intramedüller çiviler, kilitli ya da kilitsiz olarak yapılabilir. İlk dönemlerde özellikle kilitsiz olarak yapılan bu yöntem sonrasında gelişen, rotasyon, stabilite ve migrasyon sorunlarından sonra, daha fazla kilitli uygulanmaya başlanmıştır. Greitbauer ve ark. [88] yaptıkları çalışmaya göre, oymasız ve kilitli yapılan intramedüller çivilemelerde uygulanan bütün yükün kilitleme vidalarına bindiğini ve bu yüzden implant yetersizliği görülebileceğini bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda intramedüller çivi olarak uyguladığımız K tellerini çeşitli

biyomateriyaller ile kaplayarak kırık iyileşmesini artırmayı ve doğal olarak kırık kaynamama ve implant yetersizliği sorunlarını azaltmayı amaçladık. Elde ettiğimiz veriler ile de HA + Mg kaplamalı K telleri ile kırık iyileşmesinin anlamlı şekilde arttığını saptadık. Bu sonuçlarla; çivi gibi intramedüller uygulanacak olan biyomateriyallerin kaplanması ile kırık iyileşmesinde ve kaynamasında ciddi olumlu sonuçlar alınabilir.

HA materyal olarak osteokondüktif ve biyouyumlu olduğundan, in-vivo olarak uygulandıktan hemen sonra inflamatuvar yanıt oluşturmaz. Literatürde operasyon sonrası enfeksiyon yarattığı görülmüşse de, bunun HA ile doğrudan ilgili olduğu saptanmamıştır [89]. Bizim çalışmamızda hiçbir denekte postoperatif enfeksiyona rastlanmamıştır.

Kemiğin seramik içine doğru ilerlemesi sırasında, gözenekli yapının yarık yüzeylerinde strese bağlı olarak mikrokırıklar yarattığı bilinmektedir [90]. Yeni oluşan kırıklar seramiğin osteokondüktif yüzey miktarını arttırmakta, kemik oluşumunun daha fazla HA içine ilerlemesini sağlamak ve bu bölgelerde HA-kemik arasındaki bağlanmayı artırarak iyileşmeyi hızlandırmaktadır. Mikrokırıkların seramik içerisinde oluşması mekanik olarak kaygı yaratmasının aksine, HA ile olan bağ yapısını kuvvetlendirdiğinden kemik gelişimi için istenilen özellik olmaktadır. HA ve Mg birlikteliği ile kırık iyileşmesinin histolojik sonuçlarını incelediğimiz çalışmada sonuçlar anlamlı olarak bulunmuştur. 5. grup olan deneklerde kullanılan HA + Mg kaplı K tellerinin kırık iyileşmesinde histolojik olarak sonuçları anlamlı düzeyde artırdığı saptanmıştır.

Rothman ve ark. [91] yaptıkları çalışmada kemik ve implant arasındaki bağlantının HA kaplama ile daha sıkı hale gelmesinin sürtünme debrislerine bağlı osteolizisi de engellediği öne sürülmüştür. Çalışmamızda da çelik K teline kıyasla HA kaplı K teli ile kırık iyileşme skorları daha iyi saptanmış olup bu önerge desteklenmiştir.

BA, organik bileşiklerdeki hidroksil gruplarıyla kompleks oluşturabilme özelliğinden dolayı kortikosteroidleri oluşturabilir ve böylece romatoid artrit belirtilerini hafifletir. Ayrıca artritik kemiklerin sağlıklı kemiklerden daha az bor içerdiği tespit edilmiştir [65]. Yapılan başka araştırmada artritik kemiklerde bor

miktarı 3 ppm iken sağlıklı kemiklerde 56 ppm civarında bulunmuştur [66]. En yaygın olarak borun osteoartrit, osteoporoz ve romatoid artrit tedavilerinde kullanımı gündeme gelmektedir. Günlük 3 mg bor alımının menapoz sonrası kadınlarda östrojen etkisini arttırdığı ve bu etkinin osteoporoz tedavisinde önemli olduğu vurgulanmaktadır [67]. Wu ve ark. tarafından yapılan çalışmada da bor ve dekzametazon içeren doku iskelelerinde osteojenik aktivitenin ve hücre çoğalmasının arttığı görülmüştür [68]. Ying ve ark. borun kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasına etkisini, kültür ortamına farklı derişimlerde bor ekleyerek incelemiştir. 4. 7. ve 14. günlerde yapılan analizler sonucunda 1, 10 ve 100 ng/mL bor eklenen gruplarda hücre çoğalmasının kontrol gruplarıyla bir farklılık göstermediği ve 1000 ng/mL bor eklenen hücrelerin proliferasyonunun da inhibe olduğu görülmüştür. Ancak osteojenik farklılaşma göstergesi olan alkalen fosfataz aktivitesi 10 ve 100 ng/mL bor uygulanan gruplarda anlamlı derecede yükselmiştir [69]. Bu sonuçlar gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonları analizleri ile de desteklenmiştir. Literatür incelendiğinde beslenme yoluyla bor alımının kemik dokuya etkisi kısmen anlaşılmış olmasına rağmen, bor ve bileşiklerinin hücre kültür ortamındaki etkinlikleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Yapmış olduğumuz deneysel çalışmada, 3. grupta yer alan deneklere uygulanan BA kaplı K telleri ile kırık iyileşmesinin 1. ve 2. gruptaki deneklere uygulanan çelik K teli ve HA kaplı K teline göre anlamlı sonuçlar içermediği görülmüştür. Buradan yola çıkarak BA'in kırık iyileşmesine anlamlı etkisi olmadığı söylenebilmektedir.

6. SONUÇ

Yapmış olduğumuz deneysel çalışmada; biyomedikal mühendisliği sayesinde üretilen, farklı bileşenlerin yer aldığı kaplama materyallerinin geliştirilmesini sağlayarak bunların kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırdık. Bu amaç doğrultusunda; ratların femur kemiği diyafizer bölgesinde oluşturulan kırıklarda, Hidroksiapatit (HA), Borik Asit (BA), Magnezyum (Mg) kombinasyonlarından üretilen Kirschner teli (K teli) ile kırık fiksasyonun kırık iyileşmesi ve onarımında etkisi histolojik, radyolojik ve biyomekanik olarak araştırdık.

Elde ettiğimiz sonuçlar maddeler halinde açıklanacak olursa;

-Direk sitotoksosite testinde, hücre kültüründe K teli materyallerinin hücre proliferasyonuna etkisi yüzde olarak hesaplandı. Çalışma sonuçlarına göre kontrol grubu içeren kuyucukların canlılık oranı % 100 olarak değerlendirildi. Bu veriye göre direkt olarak K teli materyalleri ile kültürlenene osteoblast hücreleri canlılık oranı, grup 1 için % 75,92 oranında, grup 2 için % 95,24 oranında, grup 3 için % 89,54 oranında, grup 4 için % 102,28 oranında ve grup 5 için % 122,04 oranında belirlenmiştir. Sonuçlar, çalışmada kullanılan K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine toksik etki yaratmadığını göstermektedir.

-İndirek sitotoksosite testinde, çalışma sonuçlarına göre kontrol grubu içeren kuyucukların canlılık oranı % 100 olarak değerlendirilmiştir. Bu veriye göre K teli materyalleri ile inkübe edilmiş besiyeri ile kültürlenene osteoblast hücreleri canlılık oranı, grup 1 için % 98,31 oranında, grup 2 için % 101,63 oranında, grup 3 için % 90,08 oranında, grup 4 için % 90,26 oranında ve grup 5 için % 96,38 oranında belirlenmiştir. Bu veriler çalışmada kullanılan K teli materyallerinin hücre proliferasyonu üzerine toksik etki yaratmadığını göstermektedir.

-Tüm gruplarda kırık iyileşmesinin histolojik skorlarında aynı grup içerisindeki 6. hafta ve 12. hafta deney grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır. Aynı gruplardaki 12.hafta deney gruplarının, 6.hafta deney gruplarına göre kırık iyileşmesinde anlamlı artış görülmüştür.

-Tüm gruplar 6. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında HA + Mg kaplı K teli uygulanan 5. deney grubunun en yüksek değerde ve anlamlı olduğu görülmüştür. ($p<0.001$)

-Tüm gruplardaki 6. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırıldığında 5. grubun diğer gruplara nazaran kırık iyileşmesinde anlamlı fark oluşturduğu görülmüştür.

-Tüm gruplar 12. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında kırık iyileşmesinin histolojik skorlarında 5. deney grubunun en yüksek değerde ve anlamlı olduğu görülmüştür. ($p<0.001$)

-Tüm gruplardaki 12. hafta deney gruplarının birbirleriyle ikili grup karşılaştırıldığında 5. grubun diğer gruplara nazaran kırık iyileşmesinde anlamlı fark oluşturduğu görülmüştür.

-Kırık iyileşmesinin radyolojik olarak değerlendirilmesinde ise tüm gruplarda, aynı grup içerisindeki 6. hafta ve 12. hafta deney grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

-Kırık iyileşmesinin radyolojik olarak değerlendirilmesinde tüm gruplar 6. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 4. ve 5. deney gruplarının en yüksek değerde, 3. deney grubunun ise en düşük değerde olduğu görülmüştür. Fakat anlamlı fark saptanamamıştır. ($p=0.837$)

-Kırık iyileşmesinin radyolojik olarak değerlendirilmesinde tüm gruplar 12. hafta ortalamaları ile karşılaştırıldığında 2. ve 5. deney grubunun en yüksek değerde, 1. deney grubunun ise en düşük değerde olduğu görülmüştür. Fakat anlamlı fark saptanamamıştır. ($p=0.479$)

-Tüm gruplarda histopatoloji ve radyoloji skorları karşılaştırıldığında birbirleri arasında korelasyon olduğu görülmüştür. ($p<0.001$ ve $r= 0.438$)

-6. hafta ve 12. hafta deney gruplarının histopatoloji ve radyoloji skorları karşılaştırıldığında birbirleri arasında korelasyon olduğu görülmüştür. (6. Hafta için $p=0,047$ ve $r=0,365$, 12.hafta için $p=0,019$ ve $r=0,426$)

-Çalışmamızda, biyomekanik testlerle optimal değerlendirme şartlarının sağlanabilirliğinin test edilmesi için sağ femur patolojik numunelerin kullanımı öncesi ön değerlendirme çalışması yapılmıştır. Biyomekanik testlerde gruplarda yer alan ratların sol femurları deney sonrası kullanılmıştır. Elde edilen analiz verileri ışığında testler arası optimal şartlar sağlanamamış olup daha fazla materyal gereksiniminden dolayı deney gruplarında yer alan ratların sağ femurları biyomekanik testlere tabii tutulmamıştır.

Yapmış olduğumuz deneysel çalışmadan elde edilen veriler ışığında erken ve geç dönem kırık iyileşmesinde Mg içeren implant kullanımı ile iyi histolojik sonuçlar elde edilebilir ve bununla birlikte kırık tespit materyallerinde Mg kaplama yapılmasının kırık iyileşmesinde olumlu sonuçlar doğuracağını düşüncesi ortaya çıkmaktadır. Kırık tespitinde kullanılan biyomateryallerde özellikle HA + Mg kaplama ile istenilen sonuçlar elde edilebilir.

7. KAYNAKLAR

- [1] R. S. Taichman, "Blood and bone: Two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche," *Blood*, vol. 105, no. 7, pp. 2631–2639, 2005, doi: 10.1182/blood-2004-06-2480.
- [2] B. P. D. Schindeler A, McDonald MM, "Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture.," *Semin Cell Dev Biol*, vol. 19, no. 5, pp. 459-466., 2008.
- [3] T. L. Calori G, Albisetti W, Agus A, Iori S, "Risk factors contributing to fracture non-unions.," *Injury*, vol. 38, pp. 8-11., 2007.
- [4] U. Uysal, "Nano ve mikron boyutta hidroksiapatit üretimine proses parametrelerinin etkisinin incelenmesi, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul," 2012.
- [5] S. Murugan, R., Ramakrishna, "Development of nanocomposites for bone grafting.," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 65, pp. 2385–2406.
- [6] A. K. Nayak, "Hydroxyapatite synthesis methodologies: An overview.," *Int. J. Chem. Technol. Res.*, vol. 2, pp. 903-907.,
- [7] D. Yeşilbağ, "Hayvan beslemede bor elementinin kullanımı.," *Uludağ Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg.*, vol. 27, pp. 61-68.,
- [8] S. L. Devirian, T.A., Volpe, "The physiological effects of dietary boron.," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 43, pp. 219–231.
- [9] M. Bakirdere, S., Oerenay, S., Korkmaz, "Effect of boron on human health.," *Open Miner. Process. J.*, vol. 3, pp. 54–59.
- [10] T. R. Nielsen, F.H., Shuler, "Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium, in rats. Effects on growth, blood variables, and bone mineral composition.," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 35, pp. 225-237.,
- [11] F. H. Hunt, C.D., Nielsen, "Dietary boron affects bone calcification in magnesium and cholecalciferol deficient chicks.," *Trace Elem. In Man Anim.*, vol. 6, pp. 275-276.,
- [12] E. RJ., "Magnesium metabolism in health and disease.," *Disease-a-month.*, vol. 34, no. 4, pp. 166–218, 1988.
- [13] C. G. Musso, "Magnesium metabolism in health and disease.," *Int. Urol. Nephrol.*, vol. 41, no. 2, pp. 357–362, 2009.
- [14] W. S., "Effects of magnesium on skeletal metabolism.," *Magnes Trace Elem.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–14, 1990.
- [15] H. S. M. AL., MescherÇeviri Editörleri Seyhun Solakoğlu, Aslı Erdoğan, "Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas. Bölüm: Kemik," in *Güneş Tıp Kitabevleri*, 14. Baskı, Ankara, 2019, pp. 138–60.
- [16] R. J. Ballock , R.T., OKeefe, "Growth and development of the skeleton.," in *Orthopaedic basic science. Foundations of clinical practice*. 3rd Ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons., 2007, pp. 115-127.
- [17] Sunay Ö., "Adipoz Kökenli Kök Hücre Yardımlı Distraksiyon Osteogenez. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir," 2010.

- [18] Balcı V., “Alt Ekstremitte Kırıklarının Plak İle Biyolojik Tespiti. Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul,” 2005.
- [19] B. N., HİSTOLOJİ. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları,. 1995.
- [20] A. BK., “Pentoksifilin Kullanımının Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisinin Ratlarda İncelenmesi .Uzmanlık Tezi, Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul,” 2007.
- [21] Yalçın Y., “Ratlarda Omega-3 Poliansatüre Yağ Asitleri Ve D-Vitaminin Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, KAYSERİ,” 2017.
- [22] T. S. ve G. E., “Kırık iyileşmesi, , 16(6):455-75,2017,” TOTBiD Derg., vol. 16, no. 6, pp. 455–75, 2017.
- [23] A. MT., “Genel Histoloji,” in Ankara: Palme Yayıncılık, 2001, pp. 126–182.
- [24] Y. Q. Yang, Y. Y. Tan, R. Wong, A. Wenden, L. K. Zhang, and A. B. M. Rabie, “The role of vascular endothelial growth factor in ossification,” *Int. J. Oral Sci.*, vol. 4, no. 2, pp. 64–68, 2012, doi: 10.1038/ijos.2012.33.
- [25] S. W. White AA 3rd, Panjabi MM, “The four biomechanical stages of fracture repair,” *J Bone Jt. Surg Am*, vol. 59, no. 2, pp. 188–92, 1977.
- [26] C. O. Brinker R, Daniel P, “Basic Science,” in Mark D. Miller Review of Orthopaedics., 2008, pp. 19–21.
- [27] Kılıçoğlu SS, “Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi,” *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, vol. 55, no. 2, pp. 143–150, 2002.
- [28] G. P. Dimitriou R, Tsiridis E, “Current concepts of molecular aspects of bone healing,” *Injury*, vol. 36, no. 12, pp. 1392–1404, 2005.
- [29] Kaymakoğlu M., “Osteoblastlarda Anti-Apoptotik Ve Proliferatif Etkili Adrenomedüllin Hormonunun Segmental Kemik Defekti Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara,” 2020.
- [30] E. T. Marsell R, “The biology of fracture healing,” *Injury*, vol. 42, no. 6, pp. 551–5, 2011.
- [31] E. T. Cho TJ, Gerstenfeld LC, “Differential temporal expression of members of the transforming growth factor β superfamily during murine fracture healing,” *J. bone Miner. Res.*, vol. 17, no. 3, pp. 513–20, 2002.
- [32] Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D et al. “Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF- κ B ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 16, no. 6, pp. 1004–14, 2001.
- [33] F. O. Ribeiro, M. J. Gómez-Benito, J. Folgado, P. R. Fernandes, and J. M. García-Aznar, “In silico mechano-chemical model of bone healing for the regeneration of critical defects: The effect of BMP-2,” *PLoS One*, vol. 10, no. 6, pp. 1–25, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0127722.
- [34] O. R. Kanczler J, “Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone,” *Eur Cell Mater*, vol. 15, no. 2, pp. 100–14, 2008.
- [35] E. TA., “The cell and molecular biology of fracture healing,” *Clin. Orthop. Relat. Res.*, vol. 355, pp. 7–21, 1998.

- [36] S. M. Yu-Yahiro JA, Michael RH, Dubin NH, Fox KM, M. Hawkes WG, Hebel JR, Zimmerman SI, Shapiro J, and J., "Serum and urine markers of bone metabolism during the year after hip fracture," J Am Geriatr Soc, vol. 49, no. 7, pp. 877–83, 2001.
- [37] Kemal UA., "Kırıklar hakkında genel bilgiler.," in Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü Ders Notları, Ankara, 2005.
- [38] H. J. L. Gartner Leslie P, "Cartilage and bone.," in Color Textbook of Histology Saunders, Saint Louis., 1997, pp. 114–30.
- [39] Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, Cook SD, Cierny G, Muschler GF et al. "Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions: a prospective, randomized clinical trial comparing rhOP-1 with fresh bone autograft.," J. bone Jt. Surg. Am., vol. 83, no. 2, pp. 151–58, 2001.
- [40] Kawaguchi H, Oka H, Jingushi S, Izumi T, Fukunaga M, Sato K et al. "A local application of recombinant human fibroblast growth factor 2 for tibial shaft fractures: A randomized, placebo-controlled trial.," J. Bone Miner. Res., vol. 25, no. 12, pp. 2735–43, 2010.
- [41] K. R. Patil A, Sable R, "An update on transforming growth factor- β (TGF- β): Sources, types, functions and clinical applicability for cartilage/bone healing.," J. Cell. Physiol., vol. 226, no. 12, pp. 3094–103, 2011.
- [42] F. G. Hollinger JO, Hart CE, Hirsch SN, Lynch S, "Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications. , 90(Supplement_1):48-54. 2008.," JBJS, vol. 90, pp. 48–54, 2008.
- [43] G. P. Keramaris N, Calori G, Nikolaou V, Schemitsch E, "Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF.," Injury, vol. 39, pp. 45–57, 2008.
- [44] D. C. Meek RD, Garbuz DS, Masri BA, Greidanus NV, "Intraoperative fracture of the femur in revision total hip arthroplasty with a diaphyseal fitting stem.," JBJS, vol. 86, no. 3, pp. 480–5, 2004.
- [45] Kalenderer Ö TA., TOTEK Ortopedi ve Travmatoloji Temel Bilimler ve Araştırma Kitabı Genişletilmiş ve Güncellenmiş 2. Baskı. 2016.
- [46] S. E. Kuzyk PR, "The science of electrical stimulation therapy for fracture healing.," Indian J. Orthop., vol. 43, no. 2, p. 127, 2009.
- [47] Busse JW, Kaur J, Mollon B, Bhandari M, Tornetta P, Schünemann HJ et al. "Low intensity pulsed ultrasonography for fractures: systematic review of randomised controlled trials.," Bmj, pp. 338–351, 2009.
- [48] B. V. Zelle BA, Gollwitzer H, Zlowodzki M, "Extracorporeal shock wave therapy: current evidence.," J. Orthop. Trauma, vol. 24, pp. 66–70, 2010.
- [49] Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I et al. "Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment.," Cell., vol. 131, no. 2, pp. 324–36, 2007.
- [50] B. M. Loeffler BJ, Kellam JF, Sims SH, "Prospective observational study of donor-site morbidity following anterior iliac crest bone-grafting in orthopaedic trauma reconstruction patients.," JBJS, vol. 94, no. 18, pp. 1649–54, 2012.
- [51] Sheth U, Simunovic N, Klein G, Fu F, Einhorn TA, Schemitsch E et al. "Efficacy of

autologous platelet-rich plasma use for orthopaedic indications: a meta-analysis.," JBJS, vol. 94, no. 4, pp. 298–307, 2012.

- [52] Cornell CN., "Osteoconductive materials and their role as substitutes for autogenous bone grafts.," Orthop Clin North Am, vol. 30, no. 4, pp. 591–598, 1999.
- [53] S. Simon, V., Lazăr, D., Turcu, L.V.F., Mocuta, H., Magyari, K., Prinz, M., Neumann, M. and Simon, "Atomic environment in sol-gel derived nanocrystalline hydroxyapatite.," Mat. Sci. Eng., vol. B, no. 165, pp. 247–251, 2009.
- [54] R. Çiftçiöğlü, "The Preparation and Characterization of Hydroxyapatite Bioceramic Implant Material, Master Thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir.," 2000.
- [55] D. L. Wise, Biomaterials and Bioengineering Handbook, Cambridge Scientific, inc. Belmont, Massachusetts. 2000.
- [56] Hasret E., "Hidroksiapatit Sentezi, Karakterizasyonu ve Adsorban Özelliğinin İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.," 2010.
- [57] B. S. Demir, "Borun insan ve bitki için önemi ve bazı üzüm çeşitlerinde bor tayini. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.," 2005.
- [58] "Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü. <http://www.etimaden.gov.tr/bor-turkiye-tarihcesi->," 2013.
- [59] D. M. Bilgiç M., "Borun özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar.," Tekst. Teknol. Elektron. Derg., vol. 7, pp. 27–37, 2013.
- [60] L. Roskill Information Services, "Boron: Global Industry Markets and Outlook, 12th edition.," 2010.
- [61] Y. Ayşegül, "Her derde deva hazinemiz bor.," Bilim ve Tek. Dergisi. TÜBİTAK Yayınları, vol. Mayıs, 2002.
- [62] M. Eren, "Bor'un Biyolojik Önemi ve Metabolizma Üzerine Etkileri.," Erciyes Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg., vol. 1, pp. 55–59, 2004.
- [63] J. G. Penland, "Dietary boron, brain function, and cognitive performance.," Environ. Health Perspect., vol. 102, pp. 65–72, 1994.
- [64] F. Benderdour, M., Hess, K., Gadet, M.D., Dousset, B., Nabet, P., Belleville, "Effect of boric acid solution on cartilage metabolism.," Biochem. Biophys. Res. Commun., pp. 263–268, 1997.
- [65] H. CD., "Dietary boron enhances the beneficial effects of exercise training on bone calcium, phosphorus, and magnesium concentrations in the rat.," FASEB J, vol. 12, p. 205, 1998.
- [66] R. E. Newnham, "Essentiality of boron for healthy bones and joints.," Environ. Health Perspect., vol. 102, pp. 83–85, 1994.
- [67] J. Nielsen, F.H., Hunt, C.D., Mullen, L.M., Hunt, "Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women.," FASEB J., vol. 1, pp. 394–397, 1987.
- [68] Y. Wu, C., Miron, R., Sculean, A., Kaskel, S., Doert, T., Schulze, R., Zhang, "Proliferation, differentiation and gene expression of osteoblasts in boron-containing associated with dexamethasone deliver from mesoporous bioactive glass scaffolds.," Biomaterials, vol. 32, pp. 7068–7078, 2011.

- [69] C. Ying, X., Cheng, S., Wang, W., Lin, Z., Chen, Q., Zhang, W., Kou, D., Shen, Y., Cheng, X., Rompis, F.A., Peng, L., Zhu Lu, "Effect of boron on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells.," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 144, pp. 306–315, 2011.
- [70] Seelig MS., "Possible roles of magnesium in disorders of the aged. In: Regelson W, Sinex FM, eds. *Intervention in the Aging Process.*," Quant. Epidemiol. Clin. Res. New York AR Liss, pp. 279–305, 1983.
- [71] L. IJ., "Dietary intake levels of requirements of Mg and Ca for different segments of the U.S. population.," *Magnesium*, vol. 8, pp. 117–23, 1989.
- [72] M. P., "Calcium and magnesium in critical illness: a practical approach. The high risk patient: Management of the critically ill Baltimore.," *Williams and Wilkins.*, pp. 1183–95, 1995.
- [73] Barbagallo D. and Belvedere M. "Magnesium homeostasis and aging" *Magnes. Res.*, vol. 22, no. 4, pp. 235–246, 2009.
- [74] G. A. Quamme, "Renal magnesium handling: new insights in understanding old problems.," *Kidney Int.*, vol. 52, no. 5, pp. 1180–1195, 1997.
- [75] Johansson G., "Magnesium metabolism: Studies in health, primary hyperparathyroidism and renal stone disease.," *Scand J Urol Nephrol*, vol. 51, pp. 1–47, 1979.
- [76] Heaney RP., Marcus R, Feldman D, Kelsey J, "Nutrition and Risk for Osteoporosis.," *Osteoporosis. USA, Acad. Press.*, pp. 669–700, 2001.
- [77] F. G. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, "The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats.," *J. Orthop. Res.*, vol. 9, no. 3, pp. 383–90, 1991.
- [78] W. J. Ribeiro F, Tavares F, Souza C, Souza M, "Osteogenic systemic response at bone marrow stimulation.," *Acta Ortop Bras*[online], vol. 17, no. 2, pp. 29–34, 2009.
- [79] C. C. Bradbury N, Hutchinson J, Hahn D, "Clavicular nonunion. 31/32 healed after plate fixation and bone grafting.," *Acta Orthop. Scand.*, vol. 67, pp. 367–70, 1996.
- [80] M. T., "Advances in the enhancement of bone healing and bone graft substitutes.," in *Orthopaedic Knowledge Update, 3 – Trauma*, Rosemont, 2005, pp. 107–109.
- [81] L. D. C. S. Jackson RA, McDonald MM, Nurcombe V, "The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model.," *J Orthop Res*, pp. 636–644, 2006.
- [82] N. DM., "Experimental models of fracture repair.," *Clin Orthop Relat Res.*, vol. 355, pp. 56–65, 1998.
- [83] Miller S, Walker SW , Arthur JR et al, "Selenite protects human endothelial cells from oxidative damage and induces thioredoxin reductase.," *Clin. Sci.*, vol. 100, pp. 543–550, 2001.
- [84] J. R. Galli S, Stocchero M, Andersson M, Karlsson J, He W, Lilin T, Wennerberg A, "The effect of magnesium on early osseointegration in osteoporotic bone: a histological and gene expression investigation.," *Osteoporos Int.*, vol. 28, no. 7, pp. 2195–2205, 2017.
- [85] B. NC., "Calcification inhibition mechanisms.," *Clin Orthop Relat Res*, vol. 247, pp. 279–289, 1989.

- [86] T. K. Amizuka N, Li M, Kobayashi M, Hara K, Akahane S, "Vitamin K2, a gamma-carboxylating factor of Gla proteins, normalizes bone crystal nucleation impaired by Mg-deficiency.," *Histol Histopathol*, vol. 23, pp. 1353–1366, 2008.
- [87] A. Y. Kobayashi M, Hara K, "Effects of vitamin K2 (menatetrenone) and alendronate on bone mineral density and bone strength in rats fed a low magnesium diet.," *Bone*, vol. 35, pp. 1136–1143, 2004.
- [88] V. V. Greitbauer M, Heinz T, Gaebler C, Stoik W, "Unreamed nailing of tibial fractures with the solid tibial nail.," *Clin Orthop Relat Res*, vol. 350, pp. 105–14, 1998.
- [89] D. F. Heise U, Osborn JF, "Hydroxyapatite ceramic as a bone substitute.," *Int Orthop*, vol. 14, pp. 329–338, 1990.
- [90] B. P. Boyde A, Corsi A, Quarto R, Cancedda R, "Osteoconduction in large macroporous hydroxyapatite ceramic implants: evidence for a complementary integration and disintegration mechanism.," *Bone*, vol. 24, pp. 579–589, 1999.
- [91] M. L. Rothman RH, Hozack WJ, Ranawat A, "Hydroxyapatite coated femoral stems. A matched-pair analysis of coated and uncoated implants.," *J Bone Jt. Surg*, vol. 78, pp. 319–324, 1996.