

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve travmatoloji
Anabilim Dalı

KRONİK LENFÖDEMİN KIRIK İYİLEŞMESİNE ETKİSİ
(RATLARIN TİBİASINDA DENEYSEL ÇALIŞMA)

(uzmanlık tezi)

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Hüseyin ARSLAN

HAZIRLAYAN
Dr. Abuzer ULUDAĞ

DİYARBAKIR-2007

İÇİNDEKİLER

1-GİRİŞ VE AMAÇ-----	1
2-GENEL BİLGİLER -----	2
2.1.KEMİK DOKUSU VE HÜCRESEL ELEMANLARI -----	2
2.2.MİKROSKOBİ DÜZEYİNDE KIRIK İYİLEŞMESİ -----	7
2.3.KIRIK İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER -----	13
2.3.1.SİSTEMİK FAKTÖRLER -----	15
2.3.2. LOKAL FAKTÖRLER-----	19
3-MATERYAL METOD -----	25
4-BULGULAR-----	32
5-TARTIŞMA-----	37
6-ÖZET -----	42
7-SUMMARY-----	43
8-KAYNAKLAR -----	44

ÖNSÖZ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğinde uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen; bilgi, birikim ve deneyimlerini aktarmayı esirgemeyen yanlarında çalışma fırsatı bulmaktan gurur duyduğum değerli hocalarımdan başımız her sıkıştığında yanı başımızda nefesinin sıcaklığı ile bize aydınlık ufukları göstererek feraha ulaştıran şefkat timsali Prof.Dr. Serdar NECMİOĞLU'na, zulmetmeyen ve zulme uğramamak için her şeyini ortaya koyup mücadele ederek bize rehber olan Prof. Dr. Ahmet KAPUKAYA' ya, gece vicdanıyla baş başa kaldığımda rahat uyumak istiyorum diyerek etik kavramıyla özdeşleşip bize etik olmayı öğreten Doç. Dr. Hüseyin ARSLAN'a, paşam Bu ülkeye iyi insanlarda lazım çünkü bu ülkede iyiliği hak eden iyi insanlarda var diyerek bize iyi olmayı öğreten Doç. Dr. Mehmet SUBAŞI'na, biz Atatürk Üniversitesi mezunuyuz her şeyin en mükemmelini sunmak ve yaşatmak zorundayız diyen Doç. Dr. Cumhur KESEMENLİ'ye, minnet ve saygılarımı sunarım.

Hoşgörüyü, anlayışı ve huzuru bünyesinde bulundurarak canımdan çok sevdiğim kızım Sena ve bana sunan eşim Uzm.Dr.Öznur ULUDAĞ'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Histopatolojik değerlendirmeleri D.Ü. Veteriner Fakültesi Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarında yaparak tezime katkıda bulunan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından, Doç. Dr. M. Aydın KETANİ ve Patoloji Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Özkan Ünver'e, Ratların sintigrafik değerlendirmelerini yapan Nükleer Tıp Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Ayten GEZİCİ'ye teşekkür ederim.

Yoğun ve stresli çalışma ortamında yardım ve desteklerini esirgemeyen araştırma görevlisi arkadaşlarıma, klinik ameliyathane hemşire ve personellerine de teşekkür ederim.

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde artan trafik ve iş kazaları nedeniyle kırık iyileşmesi toplumun önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir. Araştırmacılar kırık iyileşmesini geliştirmek ve hızlandırmak için yöntemler aramışlardır. Deneyler daha çok D vitamini, K vitamini ve kalsiyumun ağırlıkta olduğu mineraller ile büyüme faktörleri ve elektrik uyarılarına yoğunlaşmıştır.

Bu araştırmalar sonucunda, kırık iyileşmesinde büyük gelişmeler kaydedilmesine rağmen yinede görülmektedir ki bazı kırıklar kaynamamayla sonuçlanmakta ve bu duruma sebep olan nedenler hâla bir sır olarak araştırmacıların dikkatini çekmektedir.

Kaynamayan kırıklar ele alındığında ilgili ekstremitenin fiziki muayenesinde dikkati çeken en önemli muayene bulgularından bir tanesi ekstremitede şişlik ile karakterize olan lenfödemdir. Oluşan lenfödem, literatür de kaynamamanın bir sonucu olarak ortaya çıkan klinik tablo olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmada ratların sol alt ekstremitesinde lenfödem oluşturduktan sonra kırık oluşturup internal tespit yaptıktan sonra kaynamamayı gösterip, sanılanın aksine lenf ödemin kırık iyileşmemesinde sonuç değil de sebep olduğunun gösterilmesi amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

2.1 KEMİK DOKUSU VE HÜCRESEL ELEMANLAR

Kemik, doku olarak tek başına ele alındığında çok fazla özelleşmiş sert bir bağ dokusudur. Fakat bir kemik olarak ele alındığında bunun mezodermden köken almış kıkırdak sinovyal dokular, bağ ve yağ dokuları, damarlar ve kemik iliği gibi bilinen bütün dokularla iç içe girmiş onlarla adeta bütünleşmiş bir yapıya sahip olduğu görülür(1).

KEMİĞİN HÜCRESEL ELEMANLARI

Aktif olarak büyüyen kemik iki farklı soydan gelen hücreler içerir.

1-Osteoprogenitör hücreler: Osteoblastlar ve osteositler içeren osteoblast soyu.

2- Monosit- Makrofaj-Osteoklast soyu.

OSTEOPROGENİTÖR HÜCRELER: Osteoprogenitör hücreler mezenşim kökenlidir ve kök hücrelerin özelliklerine sahiptir. Endosteumda ve periosteumda bulunurlar. İğ şeklinde uzun oval bir çekirdeğe sahip hücrelerdir.

Osteoprogenitör hücreler büyüme ve transkripsiyon faktörlerini içeren düzenleyici bir mekanizma ile osteoblastlara dönüşür.

Osteoprogenitör hücreler kemiği döşeyen hücreler olarak postnasal yaşam boyunca kalır; erişkinlerde kemik kırıklarının onarımı esnasında ve diğer hasarlanmalarda yeniden aktive olurlar.

OSTEOBLASTLAR: Osteoblastlar tek tabaka oluşturarak aktif kemik oluşumunun olduğu bütün bölgeleri kaplayan kübik ya da silindirik şekilleri ile epitele benzeyen hücrelerdir. Osteoblastlar oldukça polarize hücrelerdir. Osteoblast kemik ara yüzü boyunca kemiğin minaralize olmamış organik matriksi olan osteoidi biriktirir. Osteoblastlar takiben osteoid mineralleşmesini başlatır ve kontrol ederler.

Elektron mikroskobunda osteoblastlar protein sentezi, glikozilasyon ve sekresyonda aktif olarak yer alan hücrelerin tipik özelliklerini gösterirler. Özgün ürünleri tip 1 kollojen, osteokalsin, osteopontin ve kemik siyeloproteindir. Yine kemik uyarıcı aktiviteleri ile kemik morfojenik protein ailesinin üyeleri olan büyüme faktörlerini üretirler(2).

Matrix sentezini yapmaya başladıklarında şekilleri kübikden prizmatige kadar değişebilir. Alkalifosfataz aktivitesi artar ve sitoplazma bazofilik hale gelir. Sentez faaliyetleri azaldıkça yassılaşıır. Bazofilik özellikleride azalır.(3)

Osteoblastların komşu osteoblastlar ile temaslarını sağlayan sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matrix ile sarmaya başladığı zaman daha da belirgin hale gelmektedir. Osteoblastlar yeni sentez edilmiş matrix ile sarıldığınsa osteosit adını alırlar.

OSTEOSİTLER: Kemiğin ekstrasellüler matrixinin varlığını sürdüren osteoblast soyunun farklılaşmış son ve en olgun hücreleridir. Osteoblastlarla kıyaslandığında yassı elips şeklinde, endoplazmik retikulumları ve golgi kompleksleri dikkati çekecek kadar küçülmüş, çekirdek kromatinleri daha yoğun hücrelerdir(3).

Osteositler lakün denen lameller arasındaki küçük boşlukları işgal eden gövdeleri ile oldukça fazla dallanmış hücrelerdir. Kanalikül denen küçük kanallar lameller boyunca ilerler ve komşu lakünleri birbirine bağlar. Kanaliküller içinde bulunan komşu hücre uzantıları gap junksiyonlar ile bağlanır. Besin maddeleri havers kanalı içindeki bitişik kan damarlarından kanaliküller boyunca lakün içerisine yayılır.

Bir osteositin ömrü besin difüzyon süresine, kemik matrixinin ömrü de osteositlere bağlıdır. Osteositler vaskülarizasyonun devam etmesi sağlanırsa yıllarca canlı kalabilirler.

Kompakt kemik de 4–20 lamel havers kanalı etrafında konsantrik olarak dizilmişlerdir.

Osteositler kemik dokusunun korunmasında ve devamlılığında oldukça etkindirler. Dolayısıyla bir kemiğin canlılık ölçütü, osteosit hücrelerinin canlılığı ile tanımlanmaktadır.(4)

OSTEOKLASTLAR: (2.3.4)Osteoklastlar, osteoprogenitör hücre soyuna ait olmayan, kemik iliğindeki osteoklast progenitör yola ayrılan monosit-makrofaj progenitör hücre soyundan kaynaklanır.

Osteoklast öncül progenitör hücreleri monositlerdir. Monositler kemik iliğinin stromal hücreleri ve osteoblastlar tarafından düzenlenen bir işlemle 30 kadar çekirdekten meydana gelen çok çekirdekli osteoklastları oluşturmak için birleşirler ve kan dolaşımı vasıtasıyla kemiğe ulaşırlar.

Hedef kemik matrixine bağlandıktan sonra, osteoklastlar kemik emilimi için gerekli olan korunmuş bir asidik çevre meydana getirirler. Kemik emilimi önce H-ATP az aracılığı ile düzenlenen asidik bir ortamda inorganik kemik bileşenlerinin

ayrılmasını takiben de katepsin K denen bir lizozomal proteaz ile organik bileşenlerin enzimatik yıkımını içerir. Osteoklastlar, kemiğin yeniden şekillenmesinde ve yenilenmesinde önemli rol oynarlar.

Osteoklast subosteoklastik bölüm veya howship lakünü denen bir yüzeysel çukur içerisinde yerleşmiş büyük (100 µm çapından fazla) ve oldukça polarize bir hücredir.

Laküne bakan hücre kısmı hücre membranının oluşturduğu derin katlanmalar (ruffled border= kıvrımlı kenar bölge) içerir. Hücre aktif olmadığı zaman kıvrımlı bölge gözükmez ve osteoklastlar dinlenme fazına girer. Halkasal olarak kıvrımlı bölgenin çevresinde hücre membranının lakünü hemen kenarındaki kemiğe çok yakın olarak yerleştiği noktada aktin filamentleri birikir ve integrinlerle birlikte sealing zonu oluşturmak üzere yapıya katılır. Sealing zonu, lakünün kemik yıkım bölgesinden uzağını kapsar.

Osteoklastların sitoplazması subosteoklastik bölümün asidifikasyonu için gerekli olan H⁺ pompalarını harekete geçiren takibinde lizozomal ve lizozomal olmayan enzimlerin aktivasyonu için gerekli ATP'nin kaynağı olan mitokondriyonlardan çok zengindir.

Osteoklastlar metabolik bir ihtiyaca cevaben kalsiyumun kemikten kana hareketi için geçici olarak aktifleşirler. Osteoklast aktivitesi direkt olarak kalsitonin, D3 vitamini kemik iliğinin stromal hücreleri ve osteoklastlar tarafından üretilen düzenleyici moleküller tarafından sağlanır(2.3.4).

KEMİK MATRİKSİ:(2.3) Organik ve inorganik bileşenlerden meydana gelir. Osteoid başlıca kolojen liflerden ve temel maddelerden oluşur. Bununla birlik de kemik hacminin yaklaşık %50'sini ve ağırlığının da %25'ini teşkil eder. Burada yer alan liflerin %90-95'i tip 1 kollojendir. Tropokollojenlerin kemik içindeki düzeni laküna denilen ve yaklaşık %50 oranında hidroksiapatit kristalleri içeren boşlukları vardır.

Hidroksiapatit kristalleri ve kollojen lifleri proteinlerden, karbonhidratlardan bazı proteoglikanlardan ve lipidlerden oluşan asidik bir temel maddenin içinde gömülüdürler. Buradaki proteinler arasında glikoproteinler, fosfoproteinler ve syaloproteinler (osteopontinler) vardır. Bunlar gamma karboksi glutamik asid içerirler. Bazı temel madde bileşenleri hidroksiapatit kristallerinin çekirdekleşme kenarını içerirler. İnorganik kısımlar ise, kemik hacminin yaklaşık olarak %50'sini ve ağırlık olarak da %75'ini meydana getirir.

İnorganik kısmın içerisinde ağırlıklı olarak kalsiyum ve fosfatın yanı sıra bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve eser elementler bulunur. Kalsiyum ve fosfat elementleri, iç biçimindeki hidroksiapatit kristalleri şeklinde kristallerin yüzeyindeki hidrate iyonlar, hidrasyon kabuğu denilen ve vücut sıvılarıyla kristaller arasında iyon değişiminin sağlandığı bir oluşuma sebep olurlar. Kemik dokusu eklem yüzeyleri dışında periost (periosteum) denilen özelleşmiş sıkı bir bağ dokusuyla sarılıdır. Periosteumun dış tabakası fibroblastlardan ve kollajen liflerden meydana gelmiştir. Sharpey lifleri olarak bilinen periosteal kollajen lif demetleri kemik matriksini geçerek periostu kemiğe bağlar. Periostun iç kısmı osteoprogenitörler olarak bilinen ve fibroblastlara benzeyen hücrelerle döşelidir. Bu hücreler mitozla bölünerek osteoblastlara dönüşürler.

Endost(endosteum) periosta benzeyen fakat daha az gelişmiş olan ve kemiğin iç boşluğunu döşeyen diğer bir bağ dokusu tabakasıdır. Endosteum ince bir osteoprogenitör hücre tabakasıyla birlikte çok az bir miktarda bağ dokusu içerir. Bu zar periosta göre oldukça incedir. Kemiği içten ve dıştan saran bu zarların asıl işlevi kemiğin beslenmesi, gelişimi ve sürekliliği için yeni osteoblastların oluşumunu sağlamaktır.

Işık mikroskobu altında incelenen kemik dokusu kesitlerinde primer (olgunlaşmamış) ve sekonder (olgunlaşmış) kemik dokuları olmak üzere iki farklı kemik dokusu ayırt edilir.

Primer kemik dokusu, içerisindeki kollajen lifler, düzensiz seyirli ağ yapıları oluşturur ve hücre yönünden zengindir.

Sekonder kemik dokusu ise, lamelli bir yapı halindedir ve kollajen lifleri, kemik lamellerinin içinde özel bir biçimde yerleşmişlerdir. Bir lamelin içinde birbirine paralel olarak seyreden kollajen lifler, komşu lamelerdekilere çapraz yönde ve helezonik bir konumda yerleşik bir düzen almışlardır. Liflerin bu düzeni sekonder kemiklere büyük bir direnç ve sağlamlık kazandırır.

Osteositler, kemik hücrelerinin primer ve sekonder kemik dokularında bulunmasına karşın, bu hücreler sekonder kemikte sayıca daha azdır. Osteositlerin primer kemik dokusundaki gelişigüzel yerleşmesine rağmen sekonder kemik dokusunda komşu lamellerin arasında sıkışmış şekilde bulunur.

Erişkinlerde sadece sekonder kemik dokusunun oluşturduğu olgun kemikler vardır. Olgun kemikler makroskobik olarak kompakt ve spongiyöz olmak üzere ikiye ayrılır. Kısa ve uzun kemiklerin metafiz ve epifizlerinin iç kısımlarının yanı sıra yassı

kemiklerin iç yüzleri spongioz, bütün kemiklerin dış yüzleri ise kompakt kemiklerden oluşur.

Spongiyoz kemik ince, uzun ve düzensiz trabeküllerden veya çubuklardan meydana gelmiştir. Bu trabeküller dallanma gösterir ve bu dallar birbirleriyle birleşerek bir ağ oluşturur. Birbirleriyle temas eden bölgeler arasında kalan boşluklar kemik iligiyle doldurulmuştur. Spongiyoz kemik dokusunda kanal ve damar bulunmaz, buranın beslenmesini trabeküllerin arasında bulunan kemik iliği temin eder.

Kompakt kemik dokusunda, havers ve Volkmann kanalları olmak üzere iki çeşit mikroskobik kanal vardır. Havers kanalları, kompakt kemiğin uzun eksenine paralel uzanır, ve aralıklı bir yapıya sahiptir. Volkmanın kanalları ise komşu havers kanallarını birbirine bağlayan yan kollar olarak bilinir.

Kemik yüzeyinde bulunan ve nutrisyonel foramen denilen deliklerden giren kan damarları volkmann kanallarından geçerek havers kanallarına ulaşır ve orada dallanarak iki yönde seyreder. Bunlardan ayrılan diğer yan kollar, daha içte bulunan volkmann kanallarından geçip ilerler. Böylece kan damarları kompakt kemiğin bütün kısımlarına ulaşarak içteki kemik iliği boşluğuna geçer. Kompakt kemik dokusunun matriksi ve hücreleri bu damarlardan çıkan besin maddelerinin difüzyonu ile beslenir. Uzun kemiklerin diafizinde olduğu kompakt kemikteki lameller özel, dış dairesel, iç dairesel ve ara lamel olmak üzere dört çeşittir. İç dairesel lamel kemik iliği boşluğunun etrafında, dış dairesel lamel periostun altından itibaren ve ara lamelde bunların arasında yer alır. Özel lamel ise havers kanallarının etrafındadır ve iç içe geçmiş halkalar şeklinde bulunur. Buna havers(osteon) sistemi denir. Ara lamellerde, üçgen şeklinde veya düzensiz biçime sahip olan ve birbirine paralel seyreden bir yapıya sahiptir. İki dairesel sistemin arasında çok sayıda havers sistemi mevcuttur. Her iki haversiyan sistem diafizin uzun eksenine paralel silindirikler şeklindedir.

2.2.MİKROSKOBİ DÜZEYİNDE KIRIK İYİLEŞMESİ

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve yeniden yapılanmayla

iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik doku ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder(5).

Birincil kırık iyileşmesi, sert iç sabitlemeden (rijit internal fiksasyon) sonra görülen zor bir olaydır. Belirli bir dış kallus oluşmadan sadece iç kallusla devam eden temas (kontakt) iyileşmesidir.

İkincil kırık iyileşmesi, kırık kapalı yöntemle, ameliyatsız tedavi edilirse meydana gelir. İkincil kırık iyileşmesi uygun bir şekilde evrelere bölünebilir. Histolojik olarak iyileşme süresindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur. Histolojik görünüme göre yapılan sınıflamalarda ufak farklılıklar hariç, genel olarak aynı bulgular kabul edilip benzer sıralamalar yapılmıştır(6).

De Palma' ya göre kırık iyileşmesi dört fazda incelenir (7):

1-Birincil hücresel kallusun oluşum fazı

a-Hematom fazı

b-Birincil hücresel kallusun oluşumu

2-Birincil hücresel kallusun damarlanma fazı

3-Hücresel kallusun kemikleşme fazı

4-Kemiğin yeniden şekillenme fazı

Son klinik çalışmalara göre kırık iyileşmesindeki biyolojik dönemler şöyle tanımlanır (8):

1-Kırığın kendisi

2-Granülasyon dokusu dönemi

3-Kallus dönemi

4-Yeniden şekillenme dönemi

Cruess ve Dumont' a göre ikincil kırık iyileşmesinin 3 evresi vardır:(9)

1-Yangı (Enflamasyon) evresi,

2-Onarım (Reperasyon) evresi,

3-Yeniden şekillenme (Remodeling) evresi.

1-Yangı (Enflamasyon) Evresi (1–4 gün)

Bir kırık; matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periosteum ve endosteumda yırtıklara ve kırık kemik uçlarının yer değişimine neden olur. Tüm doku travmalarının da, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt enflamasyon yani "yangı"dır.

Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periost ve çevre yumuşak dokular yırtılarak, damarlar yaralanır. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının yaralanmasıyla bu uçlar arasındaki kemik iliğinde ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu sıvı birikerek periostu kaldırır. Kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için trombosit ve trombotik faktörlerin toplanmasıyla moleküler araçlar hedef yaralanma bölgesine salınır. Kanamanın pıhtılaşması ile kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematoma oluşur. Hematom sağlam yumuşak dokular tarafından sarılır.

Kırık hematomunun ikincil kırık iyileşmesinde önemli bir rolü vardır. Hematomun basıncı, kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder. Açık kırıklarda kırık hematomunun dışarıya boşalması ile kırık iyileşmesi gecikir veya hiç olmaz. Deneysel olarak hematoma organize olduktan sonra çıkarıldığında osteojenik uyarının büyük bir kısmının yok olduğu öne sürülmüştür. Olasılıkla, kırık hematomu onarım hücrelerinin gücünü kolaylaştıracak fibrinden bir yapı iskeleti sağlamaktadır. Ayrıca kırık hematomu ortamındaki trombositler ve hücrelerden büyüme faktörü ve diğer proteinler salınır. Bu proteinler, kırık onarımında yeri olan hücre göçünde, periosteal hücre çoğalmasında ve onarım dokusu matriksinin sentezinde aracılırlar(10).

Kırık olduktan sonra geçici bir arteriyoller daralmayı, arteriyol, kılcal damar ve venüllerin genişlemesi izler. Bunun nedeni dokudaki mast hücrelerinin kırık bölgesine histamin salgılamasıdır. Ayrıca kılcal damar zar geçirgenliği artar. Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur. Polimorf çekirdekli lökositler, monosit ve lenfositleri içeren akut yangı hücreleri, ödemli bölgeye doğru göç eder.

Komşu haversiyan sistemler arasında fazla anastomoz olmadığından, kırık hattının her iki tarafında belirli bir mesafeye kadar olan bölgede dolaşım durur. Buradaki osteositler piknotik hale gelir ve lizise giderek boş lakünalar bırakırlar. Sonuçta kırık uçlarında, kemik dokuda daha geniş olmak üzere nekroz bölgesi oluşur. Kırık ve çevre dokudan prostoglandinlerin salınımı yanısıra nekrotik materyalin varlığı akut yangının başlatılmasında önemli rol almıştır(6). Çünkü nekrotik kemik ve damar dokusu kaynaklı kallikrein gibi vazoaktif pirojenler bu olayda etkilidirler.

Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olup fibrinden zengin bir yapı oluşturur. Fibrinojen eklenen lizin, fenilalanin, gamaglobülin ve albüminle fibrine dönüşür. Polimorf çekirdekli lökositler ve makrofajların diyapedezi ile fibrin matriksi oluşur. Makrofaj, histiyosit ve fibroblastların yaptığı kollajen de fibrin matriksi

oluşumunda etkilidir. Fibrin ağından da kemik yapımı için hücre çoğalması başlar. Bu dönemde fibrin matriksi içindeki öncü hücreler, lokal biyolojik etkilerle değişik dokuları oluşturmak için farklılaşmaya hazırdır. Kırık bölgesi pH'sı asitken, daha sonra yavaş yavaş nötrale döner ve ılımlı bir alkali seviyede kalır.

Büyük kırıklarda makrofaj-monositler, bütün vücudu etkileyen bir sitokin olan IL-1 salgılar. IL-1 yaralanma bölgesinde lenfositlerin göçünü, kemik geri emilimini (rezorpsiyon) sağlar ve orta beyin aracılığıyla ateş meydana getirir. IL-1 ayrıca kaslardan PG-E2 oluşumunu arttırır(11).

2-Onarım (Reperasyon) Evresi (2-40 gün)

Onarım evresi kırık iyileşmesinde en önemli kısımdır. Birinci basamağı hematoma organize olmasıdır. Lokal aracılı mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya ve düzenlenmeye başlar. Kırık hattındaki hücrelerin aktivitenin başlaması için gerekli uyarım karmaşıktır. Kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur. Tamir için gerekli hücre çoğalmasının oluşumu, muhtemelen travma bölgesindeki elektriksel akımla başlamaktadır (aracı mekanizma). Bu akım, kırık alanında en yüksektir ve daha sonraki 2-3 hafta içinde yavaş yavaş azalır.

Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7-12 gün sürer. Onarım mekanizmasında rol oynayan hücreler mezanşimal kökenli çok yönlü gelişim gücüne sahip (pluripotent) hücrelerdir. Çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakası ve daha az olarak da endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler, kılcal damarlarla hematoma içine giren "fibroblastlar"dır. Üçüncü günde karşı kırık uçlarında, yoğun mezanşimal hücre mevcudiyeti vardır. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla, bu granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoidi salgırlar. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen kapsamıyla yakın ilişkilidir. Kallusun boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır. İleri yaşlarda bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri

azalır. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdan uzaklaştırılması kırık iyileşmesini yavaşlatır(12).

Kırık bölgesinde mezanşimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Oluşmaya başlayan kan damarları 2–3 günde ışık mikroskobisin de görünür hale gelirler ve 1. haftada belirginleşirler. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemdeyse besleyici (nutrisyen) damarlar, kılcal damar tomurcuklanmasına yardımcı olur. Fakat kılcal damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmadığından, beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler, osteoblastlara dönüşür. Kemiğe yakın olmayan, yakalığın orta kısmındaki hücreler dolaşım yönünden fakirdir. Bu bölgedeki kılcal damarların gelişim hızı, hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondroblast ve kondrosite farklılaşarak kıkırdak dokuyu oluşturur. Osteoblast haline gelen kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerdeki hücrelerse trabekülleri oluşturur. Böylece en dış tabakada kıkırdak dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücreler, orta tabakada kıkırdak doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Zamanla her iki kırık parçası da ucunda oluşan yakalık tarzındaki kitle ile birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu oluşturur. Dış kallusun devam eden gelişimi esas olarak kemik hücrelerinin çoğalmasına ve kıkırdak dokudaki (orta tabakada) interstisyel büyümeye bağlıdır. Aynı şekilde ilik boşluğunda da aynı olaylar birbirini takip eder. Endosteum ve iliğin osteojenik hücrelerinden gelişen trabeküllerle, iliğin köprülenmesi oluşur ve iç kallus meydana gelir. İlk 7- 12 günün sonrasında yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kıkırdaktan oluşmuştur ve kıkırdak sahasını çevreler(10,12).

Onarım evresinin ilk zamanlarında, kıkırdak oluşumu (kıkırdak kallus) belirginleşir. De Palma' ya göre kallusun damarlanmasından sonra kemik gelişimi başlar. Damar yenilenmesi, mevcut kan damarlarında tomurcuklanmayla olur ve kanla beslenme yeterli olursa, osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kıkırdak doku da proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlanmayla kıkırdak doku arasındaki bu itme kuvveti nedeniyle, damarlanma engellenmektedir. Kalsiyum bu negatif yükü pozitif çevirerek, yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla sert kallus (kemik kallus) dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi içinse osteoidin mineralizasyonu gereklidir.

Mineralizasyon (kalsifikasyon) olayında ortak teori; osteoiddeki matriks vezikülleri varlığına dayandığıdır. Hücresel düzeyde osteoblast ve kondrositlerden kaynaklanan matriks vezikülleriyle başlayıp devam eder. Bu veziküller, yüksek konsantrasyon da kalsiyum ve fosfat iyonları, cAMP, ATP, adenozintrifosfataz, alkalin fosfataz, pirofosfataz, kalsiyum bağlayan protein ve fosfoserin içerirler. Matriks vezikül membranı, kalsiyum iyonlarını veziküle taşıyan çok sayıda kalsiyum pompasına sahiptir. Vezikül içindeki iyon konsantrasyonu arttığında, kristalizasyon oluşur ve büyüyen kalsiyum hidroksiapatit kristal parçaları membranı delip matriks vezikülünü patlatarak içeriğini salar. Pirofosfataz enzimi, kalsifikasyonu önleyen pirofosfatları parçalar. Alkalin fosfataz ise fosfat esterlerinden fosfat iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun çökmesini sağlar. Matriks veziküllerinden salınan kalsiyum hidroksiapatit kristalleri kristalizasyon kaynağı olarak hareket eder. Kristalizasyonun çevresindeki iyonların yüksek konsantrasyonu, kalsifikasyon faktörlerinin varlığı ve kalsiyum bağlayan proteinler, matriks kalsifikasyonunu teşvik ederler(9,10).

Osteoidin mineralizasyonu, sert kallusun oluşumu ve yapısal stabilitesi için gereklidir. Bu olay, osteoblastlar tarafından tropokollojen oluşturulmasıyla başlar. Tropokollojen, hücrenin iç tarafından dış tarafına hareket eden kollajen tellere polimerize olur. Kollajen teller kendi iç düzenlemelerine sahiptir ve tellerin arasında boşluklar (hole zones) vardır. Değişebilen kalsiyum ve fosfat eriyikleriyle, boşluk içindeki aminoasit zincirlerinin birbirini etkilemesiyle kırık bölgesinde minerallerin görülmeye başlamasının sonucu olarak, kalsiyum hidroksiapatit kristalleri dizili tellerin içinde veya etrafında kümelenir. Kalsifikasyon kemiğin telcikleri üzerine kalsiyum fosfat biriktiği zaman başlar. Bu olayın proteoglikanlar ve kalsiyum bağlayan glikoprotein olan osteonektinle uyarıldığı bilinmektedir. Onarımın bu döneminde kırık uçları arasında kemik miktarı artarak fuziform bir kallus (kemik kallus) kitlesi ile kırık aralığı örtülür.

Kıkırdak dokuda, kondrositler hipertrofiye kondrositlere dönüştüğünde alkalin fosfataz salgılanır. Kondrositlerden kıkırdak matriks vezikülleri de atılmaya başlar. Kıkırdak matriks kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiğinden ölür ve bulundukları yerde lakünalar meydana gelir. Kondroplastik faaliyetle geri emilim artar ve lakunalar genişler. Bu süreç devam ederken, lakunar boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girmeye başlar. Zira kalsifikasyon

olmaksızın damarlanma ilerleyemez. Parçalanmış kalsifiye kırıkdağın yerini almak için damarlı doku ve osteoblastlar gerekli mekanik uyarılarla kemik yapımına başlarlar. En sonunda oluşan trabeküller kemik içindeki trabeküller arasında kalsifiye kırıkdağ artıkları görülebilir. Kırıkdağ dokusundan kemik gelişiminde, FGF' ün de rolü olduğu söylenmektedir(13).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve ortadan kaldırılması gerekmektedir. Kırık iyileşmesinde gerekli olan bu fonksiyonun nasıl başladığı kesin bilinmemektedir fakat kırık bölgesinde önemli miktarda tespit edilen PG'lerin yeni osteoklast oluşumuyla mevcut osteoklast aktivitesinde artışa neden olduğu düşünülür. Osteoklastlarla meydana gelen geri emilim boşluklarını osteoblastlar sararak canlı kemik gelişmesini sağlarlar. Neticede nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir.

Kırık kemik uçları, iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuktan ve kompakt kemikte trabeküller kemikten daha yavaş meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu 4-16 hafta arasında zaman gerektirir. Kallus oluşumuyla beraber kaynamanın olduğu söylenebilir. Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir, onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküller kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodeling) başlar.

3- Kemiğin Yeniden Şekillenme (Remodeling) Evresi (25–100)

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup, aylar yıllar sürebilir. Bu evre güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür. Onarım evresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4–16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir.

Yeniden şekillenme evresinde 4 olay gerçekleşir:

1-Kalsifiye kırıkdağ, osteoid dokuyla değişerek bir çeşit birincil trabeküller doku oluşur.

2-Lameller kemik bu dokunun yerini alır.

3-Kompakt kemik uçlarındaki kallus, lameller kemikten yapılmış ikincil osteonlara değişir. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.

4- İlik kanalı dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus, osteoklastlar tarafından geri emilir ve boşluklar yeniden düzenlenir.

1892'de Wolf, iskelet sistemi yapısının, bu sistemin mekanik ihtiyacına uygunluk gösterdiğini, daha sonra kendi adıyla anılan kanun ile tanımlanmıştır. Wolf, işlev yani stres arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Bu kanuna göre kemiğin işlevsel durumundaki değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu kanun günümüzde de kemiğin yeniden şekillenmesinde temel bir kural olarak kabul edilmektedir. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrik yükleniğinden, osteoklastik aktivitenin hakim olduğu konveks yüzde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hakim olduğu konkav yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Yani, kırığın konkav tarafında kemikleşme, konveks tarafında geri emilim olur(6.9.12).

2.3.Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler:(1.6.10.12.13.14)

Kırığın iyileşmesi üzerine etkili birçok faktörler vardır. Bunlar travmanın şiddeti, tipi, süresi, kemik dokunun özellikleri ve belki de en önemli faktör olarak hastanın özellikleri olarak sayılabilir. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler genel başlıklar halinde açıklanırsa

1-Sistemik Faktörler

A-Yaş

B-Beslenme durumu

C-Hormonal nedenler

a.Growth hormon

b.Kortikosteroidler

c.Diğerleri (tiroid, östrojen, androjen, kalsitonin, paratiroid hormon, prostaglandinler)

D-Sistemik hastalıklar: Diabetes mellitus, anemi, nöropatiler gibi

E-Vitamin eksiklikleri: A, C, D, K

F-İlaçlar: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), antikoagulan kullanımı (heparin veya dikumarol), faktör XIII, kalsiyum kanal blokerleri (verapamil) sitotoksinler, difosfonatlar, fenitoin, Dilantin, florid, tetrasiklin

G-Diğer maddeler: Nikotin, alkol

H-Sistemik büyüme faktörleri

J-Merkezi sinir sistemi travmaları

K- Radyoterapi

2-Lokal faktörler

A. Travma, sağaltım veya komplikasyonlarına bağlı nedenler

1. Anormal kemik yapısı

a.Radyasyon nekrozu

b.İnfeksiyon

c.Tümörler ve diğer patolojik nedenler

2. Nöronal hasarlanma

B. Travmaya bağlı nedenler

1. Lokal hasarın derecesi

a.Parçalı kırıklar

b.Travmanın büyüklüğü

c.Vit K1 seviyesi düşüklüğü

2. Kırık tipi ve yeri

C.Sağaltıma bağlı faktörler

1-Geniş cerrahi girişim ve lokal kan akımında değişiklik

2-Kırığın tespitinin stabilitesi, cerrahinin zamanlaması

3-Yük verme süresi ve travmanın şiddetine bağlı yumuşak doku ve kemikte şekil bozukluğu

4-Travma sonrası osteogenezi uyaran faktörler (kemik grefti, bone morfogenetik protein [BMP], elektriksel stimulasyon, cerrahi teknik gibi)

D.Komplikasyonlar

1-Enfeksiyon

2-Lenfödem

2.3.1.Sistemik Faktörler

A-Yaş: Hastanın yaşı ile kırık iyileşmesinin hızı birbiri ile direkt bağlantılıdır. Çocukluk çağı döneminde revaskülarizasyon ve mezenşimal hücre farklılaşması oldukça hızlı bir süreçtir. Bu nedenle çocuklarda kırık iyileşmesi erişkinlerden daha hızlıdır. Koskinen, erişkinlerle çocuklar arasındaki iyileşme hızındaki bu değişikliği büyük ölçüde growth hormona bağlamıştır.

B-Beslenme durumu: Kırık iyileşmesi çok hassas dengeler üzerine kurulu bir sistemdir. Çok basit açlık durumunun kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği deneysel modellerde gösterilmiştir.

C-Hormonlar:

Büyüme hormonu: Kırık iyileşmesi üzerine etkileri halen tartışmalıdır. Büyüme hormonu miktarındaki azalmanın kırık iyileşmesini yavaşlattığına ait çalışmaların varlığı yanında bu hormon miktarındaki fizyolojik sapmaların kırık iyileşmesinde çok az etkisi olduğuna ait çalışmalarda ortaya konmuştur. Büyüme hormonunun, kallus hacminde artışa sebep olduğu belirtilmektedir.

Paratiroid hormon: PTH'nun, osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyarak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Osteoblastların üzerine dolaylı etkisi olsa da, net sonuç kemik kaybı ve kırık iyileşmesinin yavaşlamasıdır.

Kalsitonin: PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır fakat iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır.

İnsülin: Kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Proteine bağlı kalsiyum artışını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur Hayvan modellerinde diyabet varlığının mezenkimal hücre proliferasyonunu inhibe ederek kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği ortaya konarken, insülinin kemikteki kollojen sentezini stimüle etkisi son derece önemli bir durum olarak belirtilmiştir.

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

Kortikosteroidler: Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Mezenşimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlatıp, kırık iyileşmesini geciktirir. Kortizon kallus oluşumunu azaltır. FDGF, EGF, ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler.

D-Sistemik hastalıklar: Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi hastalıklarındaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur.

E-Vitaminler: A vitamini normal dozda mezanşimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir. A vitamini fazlalığındaysa hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırıkta kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir.

C vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler

D vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D vitamini eksikliğinde kalsiyum düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. Kalsiyumun kemikten kana geçişi yanında, kemik hücrelerinde sitrat üretimini artırır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Sonuç olarak; D vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki eder.

B5 vitamini eksikliği ve K vitamini antagonistleri kırık iyileşmesine olumsuz etki ederler.

F-İlaçlar

Antikoagulanlar: Bu grup ilaç alan hastalarda oluşabilecek kırıklarda iyileşme sürecinde genellikle önemli bir farklılık saptanmamıştır. Bunun yanı sıra heparin ve kumadin sağaltımında iyileşmelerin sınırlı kalabileceği de vurgulanmıştır. Proflaktik dozda düşük molekül ağırlıklı heparinin herhangi bir kırık iyileşmesini inhibe edici etkisi saptanmazken antikoagulan dozda ya da yüksek dozda heparinin inhibe edici etkisinden bahsedilmiştir

Nonsteroid Anti-inflamatuarlar: Etki mekanizması tam olarak belirtilmemiş olsa da kırık iyileşmesi üzerine inhibe edici etkisi saptanmıştır. Deneysel çalışmalar NSAİİ'ların kemik matriksinin osteoindüktif içeriğini değiştirmediğini ancak inflamatuvar cevabın azaltılması ve prostoglandin sentezinin inhibe edilmesiyle etkili olduğunu göstermiştir. Başka çalışmalar ise NSAİİ'ların osteogenezisin erken dönemindeki kan

akımı artışının engellenmesiyle ya da azalmış mezenkimal hücre proliferasyonu ile etkili olabileceği gösterilmiştir.

G. Nikotin: Sigara içiminin kırık iyileşmesindeki inhibe edici etkisi deneysel modellerde gösterilmiştir. Bununla birlikte nikotinin kırık iyileşmesi ve füzyon üzerine olumsuz etkisinin osteoindüktif kemik büyüme faktörü ile azaltılabileceği de belirtilmiştir. Tütün ürünlerini kullanan bireylerde kaynamama (nonunion) oranının 2–4 kat daha fazla olduğu başka çalışmalarla da gösterilmiştir. Tavşanla yapılan bir deneysel posterolateral spinal füzyon modelinde spinal füzyon sırasında sitokin salınımı üzerine nikotinin etkileri araştırılmış ve nikotinin sitokinlerin salınımı inhibe ettiği bundan dolayı neovaskülarizasyon ve osteoblastik dönüşümü olumsuz etkilediği gösterilmiştir.

H. Büyüme faktörleri: Polipeptid yapıda olan büyüme faktörleri hücre fonksiyonunun lokal düzenleyicisidirler.

Kırık oluşumu sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf, sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici "coupling" faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir.

1-Prostoglandinler: Hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. Araşidonik asitten siklooksijenaz enzimi yardımıyla her biri doymamış bağlantıya sahip iki yan zincirle birlikte bir veya iki halka ile meydana gelen değişik prostoglandinler oluşur. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenir. İltihap hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Güçlü vazodilatatördürler. Hücre çoğalmasını hızlandırırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler (immüdüzenleyici özellik) .Hücre içine ve dışına Ca hareketini kolaylaştırır. PGE2 ve PGI2' nin kemik geri emilim (rezorpsiyon) gücü fazladır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır. PGF2 alfa, kondrogenesis ve kondroliziste etkilidir. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; EGF, TGF-alfa, PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE2 aracılığıyla göstermektedir. PGF'nin de kemik gelişimini hızlandırdığı hakkında görüşler vardır.

2-Kemik Uyarıcı Faktörler: (11.12.13.14.15)

Farklılaşmamış mezanşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar.

TGF-beta: Dönüştürücü büyüme faktörüdür. İltihap ve doku tamirinden sorumludur. Tüm hücreler moleküler formlarının birinde TGF-beta oluştururlar ve tüm hücreler bu faktörün reseptörüne sahiptir. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir. TGF-beta kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve encondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin reseptörlerini uyarmak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen , fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar. Sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumuna etki eder.

BMP: Yaralanan kemik kaynaklı morfojenetik proteindir. Mitojenik ve dönüştürücü bir faktördür. Mezanşimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür. BMP 1–10 olmak üzere 10 alt grubu vardır. Bunlardan BMP–1, TGF-beta ailesinin alt grubuna bağlı değildir. BMP–7 osteojenik protein 1, BMP–8 ise osteojenik protein 2 olarak bilinir.

EGF: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörüdür. Kırıkta ve fibroblastlar için mitojeniktir. Kırıkta oluşumu aşamasında kallusu genişletir. Yüksek dozda kemik gerilimini artırır.

PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezanşimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır.

İnterlökinler: Makrofaj ve monosit kökenlidir. IL–1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler.

Plazma Fibronektini: Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

Somatomedin C: İskelet sistemi üzerinde büyüme hormonunun arasındadır. Kondroblastların bölünme ve farklılaşmalarını, ayrıca kemik matriksi oluşumunu hızlandırır.

EGF: Epidermal büyüme faktörüdür. Kemik geri emilimini hızlandırır.

CDGF: Kondroblast kökenli büyüme faktörüdür.2 tipi vardır ve Tip II kollajen ve hiyaluronik asit için düzenleyicidir.

MDGF: Makrofaj kaynaklı büyüme faktörüdür. Sıçanlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir.

ECGF: Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörüdür. Kıkırdak ve kemik için mitojeniktir.

ECDGF: Endoteliyal hücre kaynaklı büyüme faktörleridir. Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

J. Merkezi sinir sistemi travmaları: Travmatik beyin hasarlı hastalarda uzun kemiklerde ve eklemlerde artmış bir osteogenesis saptanmıştır.

K. Radyoterapi: Radyoterapi uygulanmış kemiklerin kırılma eğilimi arttığı gibi kırık iyileşmesi de yavaştır. Radyoterapi sahasında revaskülarizasyon bozukluğu önemli bir sebeptir. Ancak kanlanmada kırık iyileşmesini etkileyecek kadar bozukluğun oluşabilmesi için standart radyoterapi dozlarının üzerine çıkılması gerekliliği de vurgulanmıştır.

2.3.2. Lokal faktörler

A.Travma, sağaltım veya komplikasyonlarına bağlı nedenler

Kemiklerde dejeneratif, metabolik, tümöral, infeksiyon, radyasyon gibi nedenlere bağlı olarak kırılmaya eğilim artabilir ve ufak bir travma ile kırıklar gelişebilir. Kırılan kemik bölgesinde lokal malign tümörler ya da enfeksiyon varlığında bölgedeki malignite ve infeksiyona ait hücreler nedeniyle kırık iyileşmesinde sorunlar yaşanabilir. Bu olgularda altta yatan sebebe yönelik sağaltım yapılmadan sağlıklı bir kırık iyileşmesi güç bir ihtimaldir. Mevcut patolojinin varlığına bağlı olarak iyileşme oranı ve süresi değişmekle birlikte osteoporoz gibi malign olmayan lezyonlarda kırık kaynamasına osteoporozun olumsuz etkisi olmadığı belirtilse de kaynama yüzey miktarındaki azlıktan dolayı kırık bölgesinin sağlamlaşmasındaki süre daha fazla olarak saptanır. Tüberküloz, Bruselloz gibi infeksiyöz olaylarda kırık sahasındaki hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözünmesi etkilenir, artan lökositlerin proteolitik enzimleri matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumu engellenir.

B.Travmaya bağlı nedenler

Çok parçalı, açık ve kirli yaralanmalarda kırık iyileşmesi gecikmektedir. Eğer kırık sahasının kanlanması iyi değilse ve kırık fragmanları canlı değilse kallus oluşumunda problemler olacaktır. Kırığın deplase olması travmanın şiddetinin büyük olması kan dolaşımını bozarak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler.(1)

C. Sağaltıma bağlı faktörler

Yeterli şekilde ve sürede tespit kırık kaynamasının temel prensibidir. Stabil bir fiksasyon kırık iyileşmesini arttırırken erken yük verilmesine olanak sağlayan tesbitler mikro hareketlerle kırık iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Stabilizasyon yapılırken kanlanmayı olumsuz yönde bozan yumuşak doku ve kemikteki tahribat kaynamayı olumsuz yönde etkiler

Ultrasonun kırık iyileşmesindeki etkilerini ortaya koymak için birçok çalışma yapılmıştır. Klinik çalışmalarda ekstrakorporal şok dalgalarının uzun kemiklerde kırık iyileşmesinde etkili olduğu ve gecikmiş kaynama ya da kaynamama durumlarında faydalı olabileceği bildirilmiştir.

Deneysel hayvan modellerinde aralıklı hiperbarik oksijen uygulamasının kırık iyileşmesini olumlu etkilediği bildirilmiştir.

D. Komplikasyonlar

1-İnfeksiyon:

İnfeksiyonun kırık iyileşmesindeki olumsuz etkileri ile nonuniona sebep olduğu bilinen bir gerçektir.

Enfeksiyöz materyal fibröz kallus oluşumunu engeller. Bu olgularda enfeksiyon kontrol altına alınabilirse sahada yoğun kollajen skarın olduğu bildirilmiştir. Enfeksiyon kırık bölgesine eksojen olarak açık yaralanmalarla, iatrojenik olarak cerrahi müdahalelerle çok ender olarak da sistemik enfeksiyonun kırık bölgesine gelmesi ile oluşabilir. Enfeksiyon kırık bölgesindeki granülasyon ve kemikleşme evrelerindeki dokuları olumsuz etkileyerek ve enfeksiyöz nedbe dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini olumsuz etkiler.

2- Lenfödem: (16.17.18)

Normal endotel protein geçişine izin vermemekle birlikte, vasküler ve interstisyel kompartmanlar arasındaki sıvı değişimi sırasında az miktarda albümin interstisyel aralığa sızabilir. Bu oluşan makromoleküller lenfatikler ile sistemik dolaşıma geri döner. Lenf, temelde plazmaya benzeyen bir ultrafiltrasyondur ve arteriel sistemdeki yüksek hidrostatik basınç sonucu oluşan transuda olarak ortaya çıkar. Lenfatik sistem kapiller düzeyde oldukça permeabldır ve interstisyel sıvıya

oranla hidrostatik basıncı düşüktür. Bu özellikleri ve valf içermesi nedeniyle, lenf akımı proksimale doğru ilerler ve interstisyel aralıkda birikmez.

Lenf, interstisyel sıvıdan oluşarak lenfatikler içinde akar. Bu nedenle içerik olarak kaynaklandığı dokudaki interstisyel sıvı ile aynı bileşimdedir. Normalde lenfin toplam miktarı günde 2–3 litredir.

Dünyada 250.000.000 kişide lenfödem vardır

Kapiller filtrasyon artmadan yetersiz lenfatik drenaja bağlı olarak ortaya çıkan ve lenf birikiminin artmasıyla oluşan yumuşak doku ödemine lenfödem denir.

ANATOMİ

Lenfatik sistem, geniş çapta farklılık gösteren lenf damarları ve lenf nodlarının oluşturduğu geniş bir ağdan meydana gelen yapıdır. Lenfatik nodlar lenfositlerin ve plazma hücrelerinin kaynağını teşkil eder.

Lenfatik kapillerler özellikle müköz membranlarda, seröz yüzeylerde ve derinin dermisinde çok sayıda yer alır. Beyinde, medulla spinaliste, göz küresinde, kemik iliğinde ve dalağın parankiminde bulunmaz.

Alt ekstremitelerde derin ve yüzeysel olmak üzere 2 lenfatik sistem vardır: Derin lenfatik sistem, bacak kompartmanlarını ve kemik yakınındaki bölgeleri drene eder. Yüzeysel lenfatiklerse, büyük ve küçük safen sistemlere paralel iki kanal şeklinde seyreder. Yüzeysel lenfatiklerin bulunduğu ve lenfödem oluştuğu subkutanöz bölge dermal pleksus ve toplayıcı kanallarla lenf nodlarına drene olur. Alt ekstremitelerde popliteal ve inguinal düzeyde lenf nodları bulunur. Inguinal bölgedeki lenfatik nodlar yüzeysel (fossa ovalis etrafında) ve derin (femoral kılıf etrafındaki yağ dokusunda) olmak üzere iki planda bulunurlar.

Koldaki yüzeysel lenfatikler de basilik ve sefalik venlerle seyrederak aksiler nodüllere drene olurlar.

Baş ve boynun sağ yarısı, sağ üst ekstremité ve toraksın sağ üst yarısının lenfini duktus lenfatikus dexter geriye kalan tüm vücut kısımlarının lenfini ise duktus thorasicus boşaltır. Duktus thorasicus sol vena jugularis interna ile sol vena subclavianın birleştiği köşeye, duktus lenfatikus dexter ise sağ vena jugularis interna ile sağ vena subclavianın birleştiği köşeye açılarak taşıdıkları lenfi sistemik dolaşıma boşaltırlar.

KLİNİK:

1- Erken dönem:

Proteinden zengin olan sıvı interstisyel alanda birikmeye başlayarak ödem tablosu gelişmeye başlar. Ödem ayaktan başlar ve giderek yukarı çıkar. Başlangıçta Yumuşak bir ödem vardır. Gode bırakır. Zamanla ödem artar ve hastalar ekstremitelerde ağırlık ve yorgunluktan yakınır. Staz nedeniyle lenfanjit atakları ortaya çıkar (%25). Elevasyon ve kompresyona yanıt verir

2- Geç dönem:

İnflamatuvar fibrotik değişikliklerin hakim olduğu ekstremitelerde deri altı dokusunda fibrozis gelişmesi sonucu deri kalınlaşarak, hiperkeratoz ve endurasyon gelişimine neden olur. Başlangıçta yumuşak gode bırakan ödem, fibrozis nedeniyle gode bırakmayan ödem şeklini almaya başlar.(Brawny–non-pitting ödem) Enfeksiyonsuz dönemlerde ağrı bulunmaz. Enfeksiyona yatkın olan ekstremitelerde tekrarlayan sellülit ve lenfanjit atakları ortaya çıkar. Lenfanjiosarkom ender rastlanılan bir komplikasyondur. Elevasyon ve kompresyona refrakterdir.

Lenfödem geliştiğinde birçok kompensatuvar mekanizma devreye girer. Bunlar kollateral lenfatik akım, spontan gelişen lenfo-venöz fistüller ve dokuda gelişen artmış makrofaj aktivasyonudur.

TANI:

Hastaların çoğunda öykü ve klinik bulgular ile tanı konur

Tanıya yardımcı yöntemler:

- 1- CT
- 2- MRI
- 3- Lenfosintigrafi
- 4- Lenfanjiografi

TEDAVİ:

Lenfödemde tedavi medikal ve cerrahi olmak üzere iki çeşittir.

Medikal tedavi:

1. Bacağın elevasyonu ve elastik çoraplarla kompresyonu
2. Zayıflama diyeti ve tuz alımının kısıtlandığı diet
3. Aralıklı diüretik uygulanması
4. Enfeksiyonlardan korunma

Cerrahi tedavi: Cerrahi tedavi hastaların küçük bir grubuna gerekmektedir. Medikal tedaviye rağmen ekstremitte çapının artması, tekrarlayan lenfanjitler, ekstremitte disfonksiyonu ve kozmetik problemler cerrahi tedavi endikasyonları arasındadır. Cerrahi tedavide şu ameliyatlar uygulanabilir.

A.Fizyolojik ameliyatlar

a.Direk lenfatik rekonstrüksiyon ameliyatları

1. Alloplastik ameliyatlar
2. Mikrolenfatik onarım
3. Lenf nodu venöz anastomozlar

b.Pedikül ameliyatları

1. Lokal deri flebi ameliyatları
2. Dermal flep ameliyatı

B.Eksizyonel ameliyatlar

Lenfatik sistemin başlıca fonksiyonu; makromoleküller, hücreler ve sıvıyı interstisyumdan uzaklaştırmaktır. Deride, makromoleküller, lipid, protein ve immunkompleksler normalde kan damarlarına geri dönememekte; bunlar ya makrofajlarca fagosite edilmekte ya da lenfatik sistem tarafından uzaklaştırılmaktadır. Lenfatik drenaj yetmezliğinde interstisyumdan su ve makromoleküller uzaklaştırılamamakta, doku içinde değişen onkotik ve hidrostatik basınç nedeniyle hücre hasarı oluşmaktadır. Lenfatikler, aşırı yüklendiğinde veya bloke olduğunda protein, lipid ve hücre artıkları birikmektedir. Bu durum yangısal yanıtı artırmakta, fibroblast proliferasyonu şiddetlenerek, basmakla çökmeyen, organize ödem sıvısı oluşmaktadır. Kronik inflamasyon ve fibrozis lenfatiklerdeki hasarı daha da arttırmaktadır.

Lenfatik sistem, ekstrasellüler ortamdan bakterilerin de uzaklaşmasını sağlamaktadır. Lenfatik drenajın bozulması sonucu bakteriler deride birikmekte ve sellulit gelişmektedir. Grup A, B veya G streptokoklar en sık neden olmaktadır. Lenfatik bloke alanların enfeksiyona zemin oluşturduğu, enfeksiyonunda lenfödemin seyrine eklenerek lenfatik obstrüksiyonun şiddetlenmesine yol açan kısır bir döngü oluşturması söz konusudur.

Kronik yara sıvılarını uzaklaştırılması ile bu sıvının içindeki inhibitör faktörler de uzaklaştırılır. Çalışmalar göstermiştir ki bu sıvının uzaklaştırılması vasküler

endotelial hücre proliferasyonlarını arttırmakta yeni kan damarları oluşumunu sağlayarak yara iyileşmesine olumlu bir süreç sağlamaktadır.

Lenfatik fonksiyon lenfatik sistem dışı faktörlere de bağlıdır. Adale aktivitesi, deri masajı sonucu lenfatik sistemi saran bağ dokusunda bası ve gerilme oluşması ya da arteriyel pulsasyonun lenf endotel hücrelerinde açılma oluşturması sistemin çalışmasında önemli faktörlerdir. Lenf damarlarının kontraksiyon yeteneği de lenf akımına katkıda bulunmakta, lenf damar valvülleri akımın tek yönlü olmasını sağlamaktadır.

Lenfödemin elimine edilmesi anlatılan bu mekanizmalarla yara iyileşmesini dramatik olarak arttırmaktadır.

Kırık iyileşmesi sistemik bir yara iyileşmesidir. Lenf ödem varlığında lenf ödemin şiddetine göre geciken veya bloke olan yara iyileşmesi gibi bizim hipotezimize göre lenfödem varlığında kırık iyileşmesi de bloke olabilir veya gecikebilir. Bu çalışmanın amacı, lenfödemin kırık iyileşmesine etkisini lenfödem modeli oluşturulan ratlarda deneysel olarak araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Bu araştırmada denek hayvanları Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezinde üretilen 30 adet 200–250 gram arasında değişen 6 aylık erkek Spraua-Dawley cinsi ratlar kullanılarak yapılmıştır. Araştırmanın kurallara uygunluğu Dicle Üniversitesi Deney hayvanları Etik Kurulu (DEHEK) tarafından onaylanmıştır.

Deney hayvanları, Dicle üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezinde standart rat barınağında, optimal ısı 18–26 derecede, nispi nem %40–60, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda barındırıldılar. Ratların yem ihtiyacı palet yem olarak, su ihtiyacı ise ad libitum olarak karşılandı.

Çalışmamızda toplam 30 adet rat kullanıldı. Kontrol gurubundan ve deney gurubundan üçer adet rat deney süresince telef oldu. Kontrol ve Lenfödem grubu olarak iki ana gruba ayrılan ratlar kendi aralarında da iki alt gruba ayrıldı.

GRUP 1(n=12): Lenfödem grubu; İki gruba ayrıldı.

GRUP 1A(n=6):Biyomekanik analiz için kullanılanlar.

GRUP 1B(n=6):Histopatolojik analiz için kullanılanlar.

GRUP 2(n=12):Kontrol grubu; İki gruba ayrıldı.

GRUP 2A(n=6): Biyomekanik analiz için kullanılanlar.

GRUP 2B(n=6): Histopatolojik analiz için kullanılanlar.

3.1.Kronik lenfödem oluşturulması:

Anestezi

Ratlara, solunum yolunun tıkanmasını önlemek amacıyla 0,18mg/kg Atropine sülfat (Atropin amp.Biosel,İstanbul) İM olarak verilerek pre-anestezik medikasyon yapıldı. Antibiyotik olarak 50mg/kg dozunda Ampicilin (Ampisina flk. Mustafa Nevzat, İstanbul) profilaktik olarak subkutanöz yoldan verildi. Analjezi sağlanması amacıyla 10mg/kg dozunda Morfin HCL (Morfin HCL amp.,Biosel,İstanbul)subkutan verildi.

Takiben operatif anestezi amacıyla 50mg/kg Ketamine hidroklorid (Ketalar flk. Parke Davis, İstanbul) 5mg/kg dozunda Xylazine (Rompun flk. Bayer, İstanbul) intraperitoneal yoldan verildi. Anestezinin derinliği 4–5 dakikada bir tekrarlanan kornea refleksi ile birlikte cilt kıstırmaya karşı verilen cevapla izlendi.

Lenfödem modeli oluşturulması

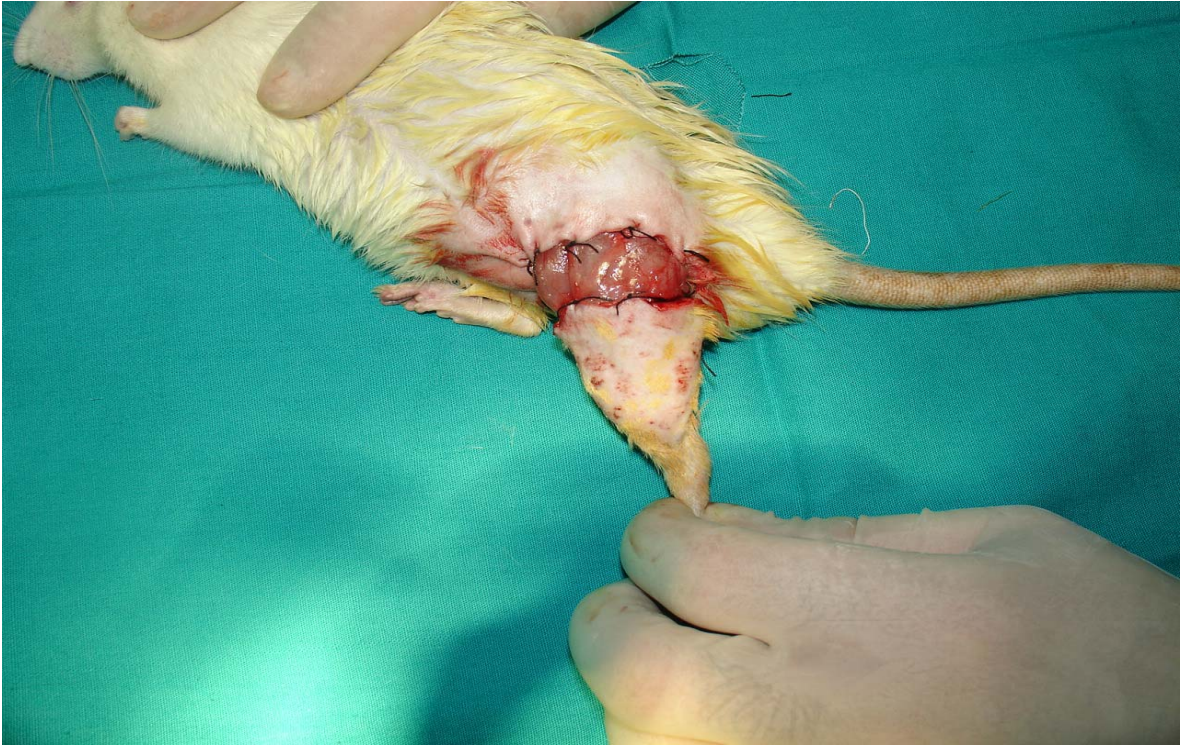
Lenfödem Kanter ve arkadaşlarının önerdiği kronik lenfödem modeli kullanılarak oluşturuldu(20). Periferik lenf nodlarını görünür hale getirmek için serum fizyolojik ile hazırlanmış nötral PH da 0,5 cc %0,5 lik patent blue (Alcian blue) solüsyonu sol arka ayak dorseline subkutan olarak verildi. Uyluk proksimalinden cilt, cilt altı doku ve yüzeysel faysa 10 mm genişliğinde sirküler olarak eksize edildi (Resim 1a-1b-1c). Alcian blue ile boyanan lenf nodları ve kanalları segmental olarak eksize edildikten sonra bağlandı. Femoral ven disseke edilip ligatüre edildi. Eksize edilen cilt dudakları aradaki 10 mm'lik aralık korunarak altındaki kas dokusuna 3/0 ipek ile sütürasyon uygulandı. Cilt defekti olan bölge antibiyotikli pomat ve tampon ile kapatıldı.



Resim 1 a: Lenfödem oluşturulan ratın bacak medial görüntüsü



Resim 1 b: Lenfödem oluşturulan ratın bacak lateral görüntüsü



Resim 1 c: Lenfödem oluşturulan ratın bacak lateral görüntüsü

Lenfödem oluşumunun değerlendirilmesi

1.Sintigrafi

2.Ekstremite çevre ölçümü

1.Sintigrafi: Deneklerin kronik lenfödem oluşturulan tarafa ve karşı taraf sağlam ekstremitelerinin ayak interdigital alanına intradermal olacak şekilde 0,3 cc'de 25µci Tc-99m nanocolloid (Amersham), insülin enjektörü ile uygulandı. Deneklerin enjeksiyon alanına elle masaj uygulandı. Bunu takip eden süre 0'ıncı dakika kabul edilerek bir dakika görüntü alındı. Deneklere yapılan Tc-99m nanocolloidin interdigital yumuşak alanda daha fazla distribute olması için 5 dakika kafeslerinde hareketlerine izin verildi. İnguinal bölgeyi içine alacak şekilde her iki bacdktan 15.30.60.90.120. dakikalarda anterior pozisyonda 128x128 matrikste ikişer dakikalık ekstremitelerden görüntüler alındı. Çalışmamızda 610-GCE-Digital (Toshiba) gama kamera ve ona bağılı düşük enerjili, çok amaçlı kollimatör kullanılarak elde edilen görüntüler gama kameraya bağılı bilgisayarlaraya kaydedilerek kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirildi. Her iki ekstremitte diz ve ingüinal bölge ilgi alanları çizildi ve elde edilen sayısal değerler bilgisayar hafızasına kaydedildi.

Gama kameranın bilgisayarına kaydedilen sintigrafik görüntüler görsel olarak değerlendirildi. Zemin aktivite seviyesinde Tc-99m nanokolloid tutulumu 1, zemin aktiviteden daha yoğun tutulum ise 2 olarak skorlandı.

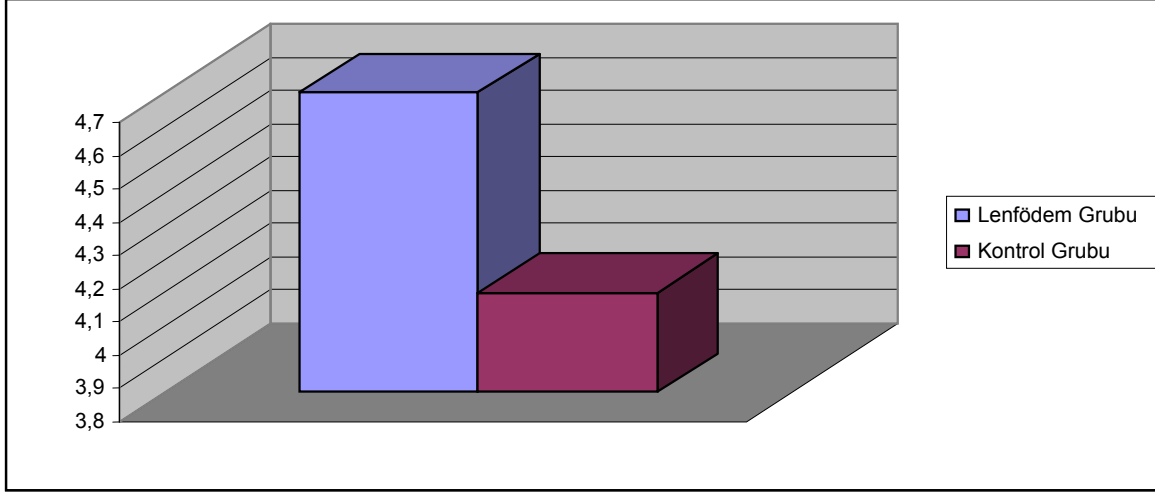
Vizüel analiz;15.dakikadan sonra non-obstrüktif bölgede yoğun radyonüklid tutulumu izlendi.

Kantitatif değerlendirmede;

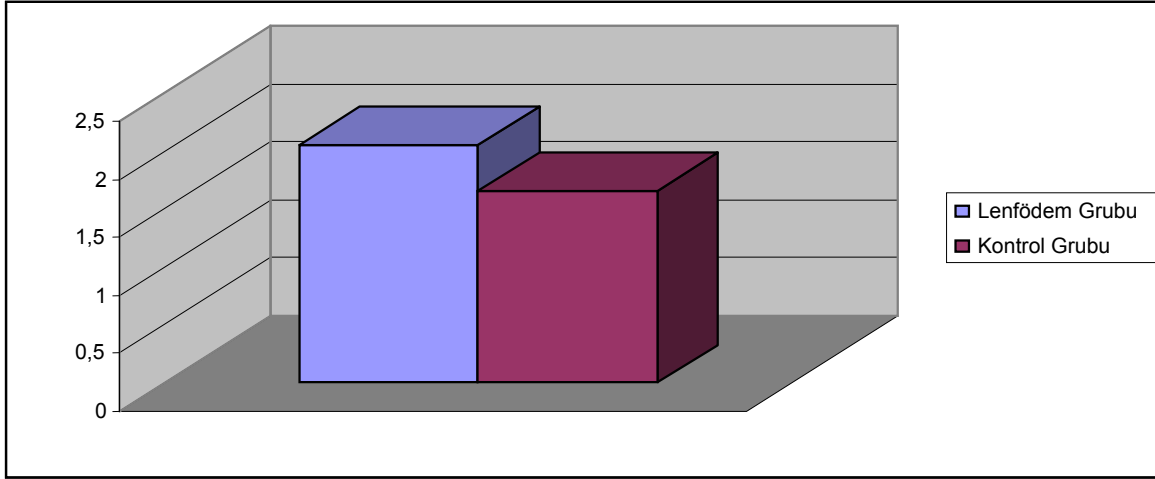
15. dakikada obstrüktif, non-obstrüktif bölge sayısal değerleri istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p=0.695$). 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dk da obstrüktif non obstrüktif bölge sayısal değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın anlamlı olduğu bulunarak ($p=0.003$), ($p=0.011$), ($p=0.02$), ($p=0.02$) lenfatik blokajın başarıyla yapıldığı sintigrafik olarak gösterildi.

2.Ekstremite çevre ölçümü: Çevre ölçüm değerlendirilmesinde kontrol gurubu olarak aynı hayvanın karşı ekstremitesi kullanıldı. Kronik lenfödem yapılan ve sağlam taraf diz ekleminden eşit uzaklıkta ekstremitte anterior-posterior, ve çevre ölçümleri yapıldı. Lenfödem oluşturulan bacadta ortalama çevre 4,73 cm olarak anterior posterior çap ise 1,96 cm olarak ölçüldü.(Grafik.1) Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($P =0.001$)

Sağlam ekstremitede bacakta ölçülen ortalama çevre 4,12 cm olarak, ortalama anterior posterior çap ise 1,51 cm ölçüldü. (Grafik.2) Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($P = 0.001$).



Grafik 1: Ortalama çevre ölçüm grafiği (cm)



Grafik 2: Ortalama ant. — post. ölçüm grafiği (cm)

3.2. Kırık modeli oluşturulması

Yukarıdaki yöntemle Anestezi işlemi uygulandıktan sonra ratlar steril yeşillerle örtüldü. Sol bacakta anterior insizyonla girilerek tibia ortası explore edildikten sonra middiafizde osteotomi yapıldı. Takiben proksimal ve distal kırık uçları görülerek 0,3 mm kalınlığındaki kirschner teli ile retrograd olarak intramedüller tespit yapıldı, katlar usulüne uygun olarak kapatıldı.

3.3. Sonuçların değerlendirilmesi

1-Biomekanik inceleme

2-Histopatolojik inceleme

1. Biomekanik inceleme:

Her iki guruptaki ratlar sakrifiye edildikten sonra tibialar disseke edilerek etraf yumuşak dokulardan tamamen arındırıldı. İntramedüller tespit materyali proksimalden çekilip çıkartıldı, takiben tibiada üç nokta bükme (three point bending test) testi 1 Ton kapasiteli uzama kontrollü olarak alışan SCHİMADZU AGS-J 10 cihazı kullanılarak 0,5 mm/dk uzama hızı ile osteotomi hattındaki kallus dokusunun bükülme direnci ölçülerek her iki grup karşılaştırıldı.(Resim 2)



Resim 2:Schimadzu AGS-J 10 Test Cihazı

2. Histopatolojik inceleme:

Alınan doku örnekleri % 10 ntrl formalin solusyonunda fikse edilip % 5'lik formik asitte bekletildi. Rutin histolojik takiplerin ardından parafin bloklara alınan materyaller parafin bloklarından Leica rotary mikrotom yardımıyla 5 m kalınlığında kesitlere ayrıldı. Histolojik kesitler, Hematoksilen–Eozin, Hematoksilen Van Giesson ile boyanıp değerlendirildi. Doku mikrografları, Nikon–eclipse–400,Coolpiks 5000 (Japan) dijital fotoğraf makinesi atamanlı binoküler araştırma mikroskobu kullanılarak çekim yapıldı.

İstatistiksel olarak lenfödem ve sağlam bacak çap ölçüm değerleri ile birlikte sintigrafik değerler Wilcoxon Signed Ranks testi kullanılarak, her iki grupta oluşan kallusun stifness değerleri ise non parametrik testlerden Mann-Whitney test kullanılarak değerlendirildi. $P<0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

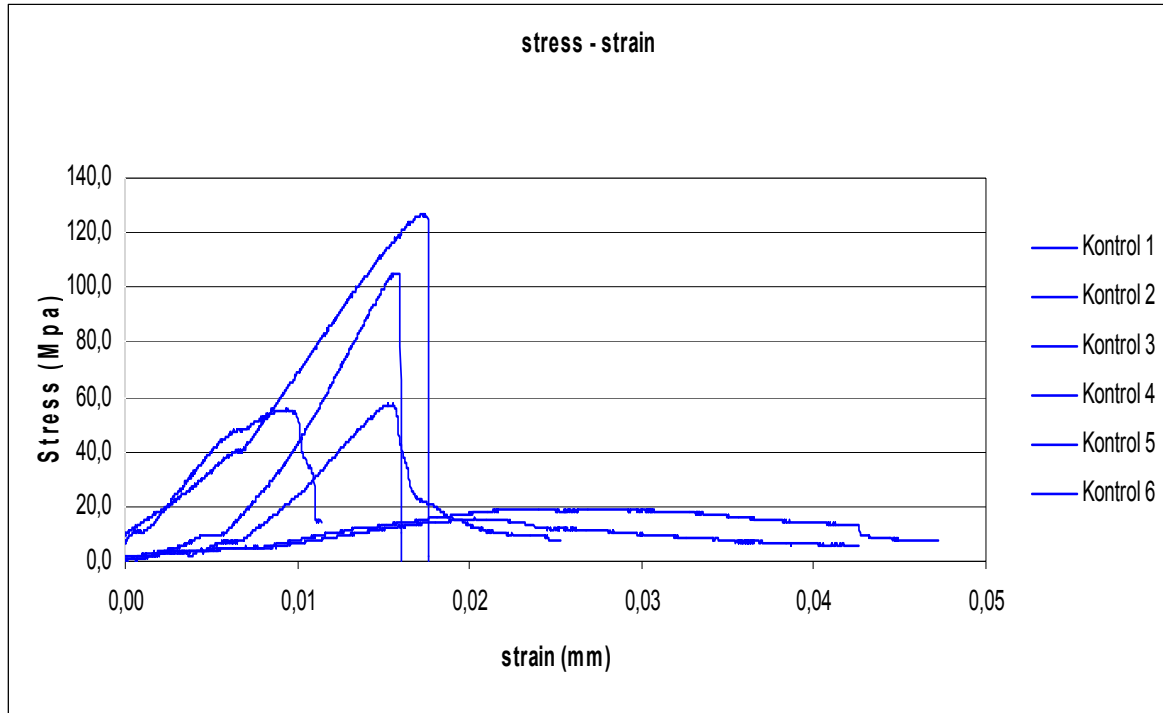
BULGULAR

1.Biomekanik Bulgular

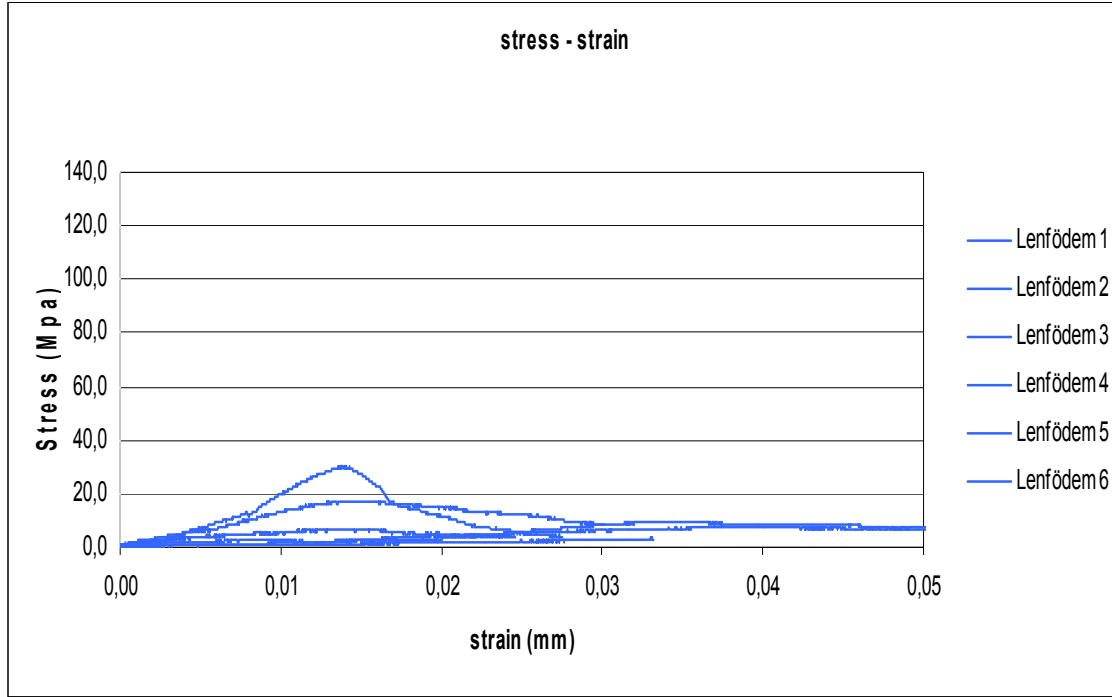
2.Histopatolojik Bulgular

4.1. BİOMEKANİK BULGULAR

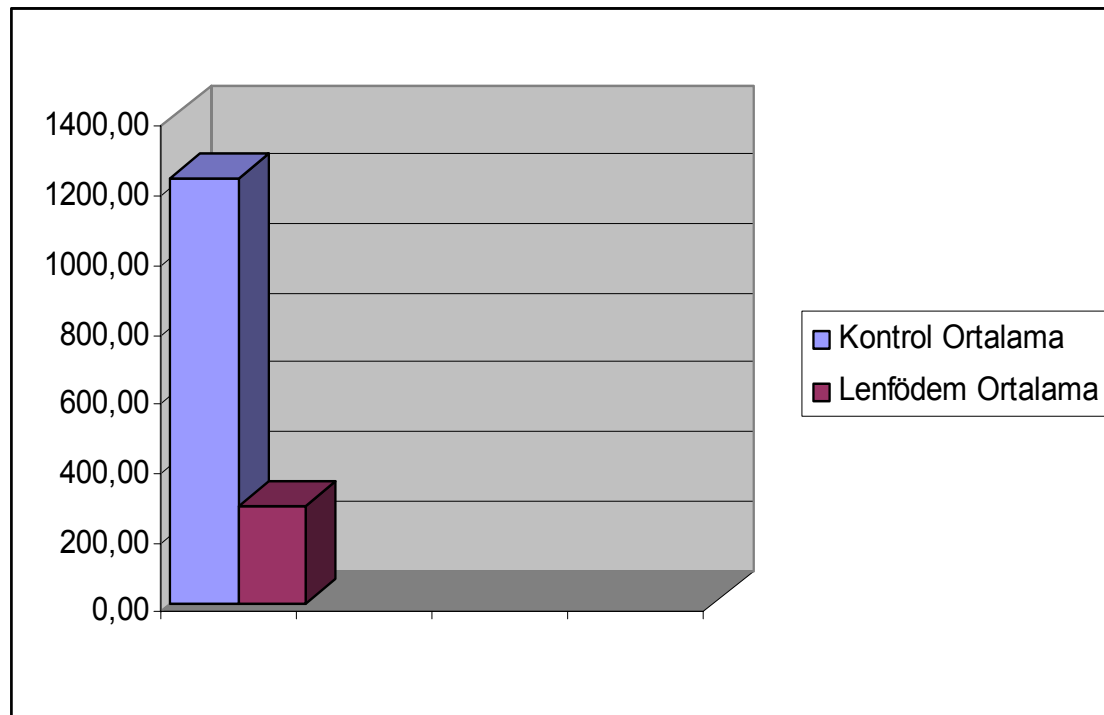
Kırık oluşumunu takiben 8 Hafta sonra sakrifiye edilen lenfödem ve kontrol grubunun tibialarına üç nokta bükme (three point bending test) testi yapıldı. Heriki grupta oluşan kallus dokusunun bükülme dirençleri ölçülerek şematize edildi.(Grafik–3,Grafik–4) lenfödem grubunda oluşan kallusun ortalama stiffness değeri 283 N/mm olarak kaydedilirken kontrol grubunda 1226 N/mm olduğu görüldü. (Grafik.5) Her iki gurubda oluşan kallusun stiffness değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında bulunan $p<0.025$ değeri anlamlı kabul edildi.



Grafik 3: Kontrol grubu Stress –Strain grafiği



Grafik 4: Lenfödem grubu Stress –Strain grafiği



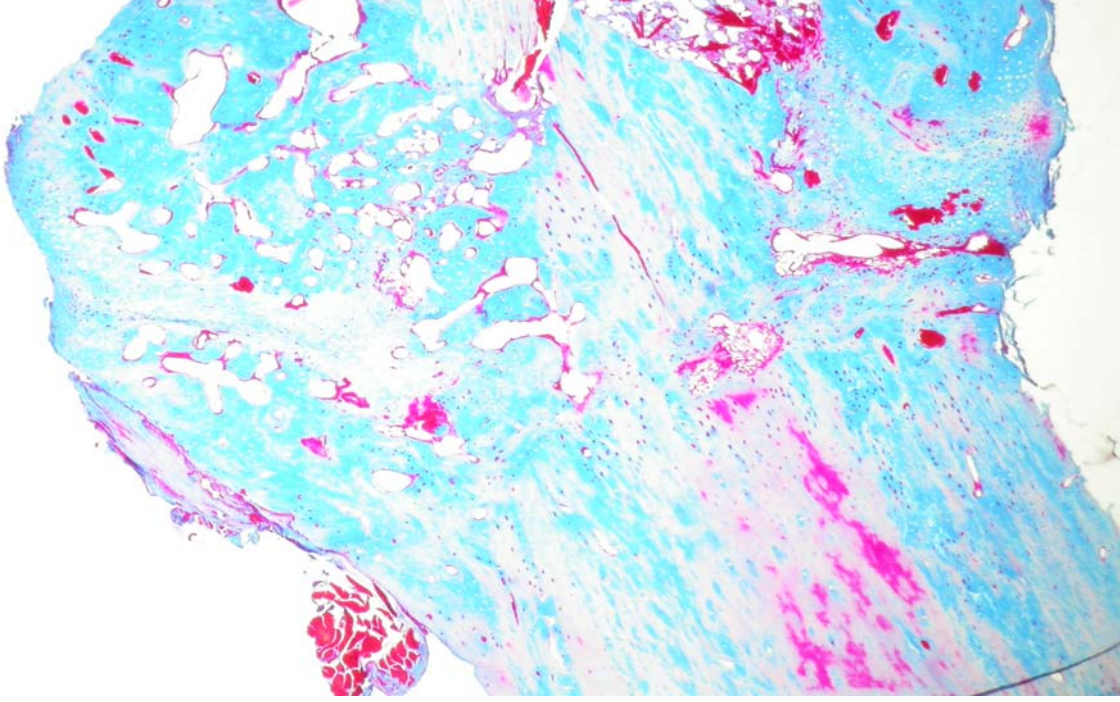
Grafik 5: Lenfödem ve kontrol grubu ortalama stiffness grafiği

4.2.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

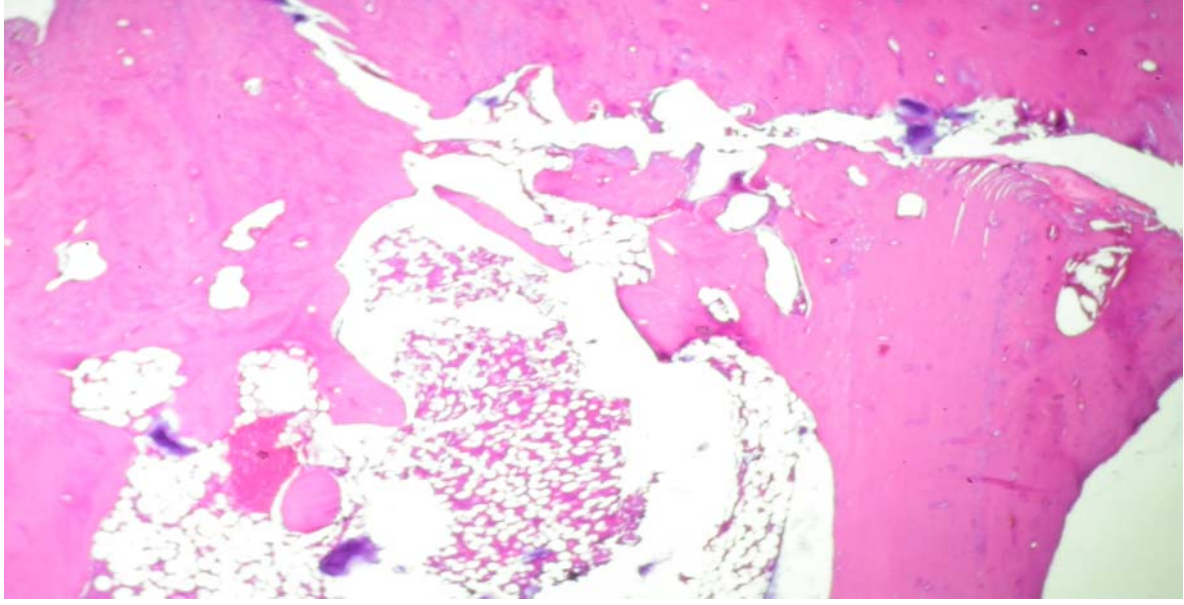
Kontrol grubu:

Kontrol grubuna ait tibia örneklerde kallus şekillenmesi normal olarak izlendi. Kollojen lif Boyası olan tripple ile kallus dokusu yeşil renkte izlendi. Kalsifikasyon alanları ince spikül tarzda yapılar olarak kendini göstermekteydi.(Resim 2).

Kontrol grubunda şekillenen kallusun kompakt görünümde olması dikkat çekiciydi. Şekillenen kemik trabekülleri düzenli bir formasyon göstermekle birlikte osteoblastik ve osteoklastik aktivite oldukça belirgin olarak gözlemlendi. Kemiğin rutin Hematoksilen Eozin boyası ile homojen olarak boyanması kalsifikasyonunda normal sınırlarda olduğuna işaret etmekteydi. Kemik trabeküller arasında belirgin kemik iliğinin varlığı da gözlemlendi (Resim 3)



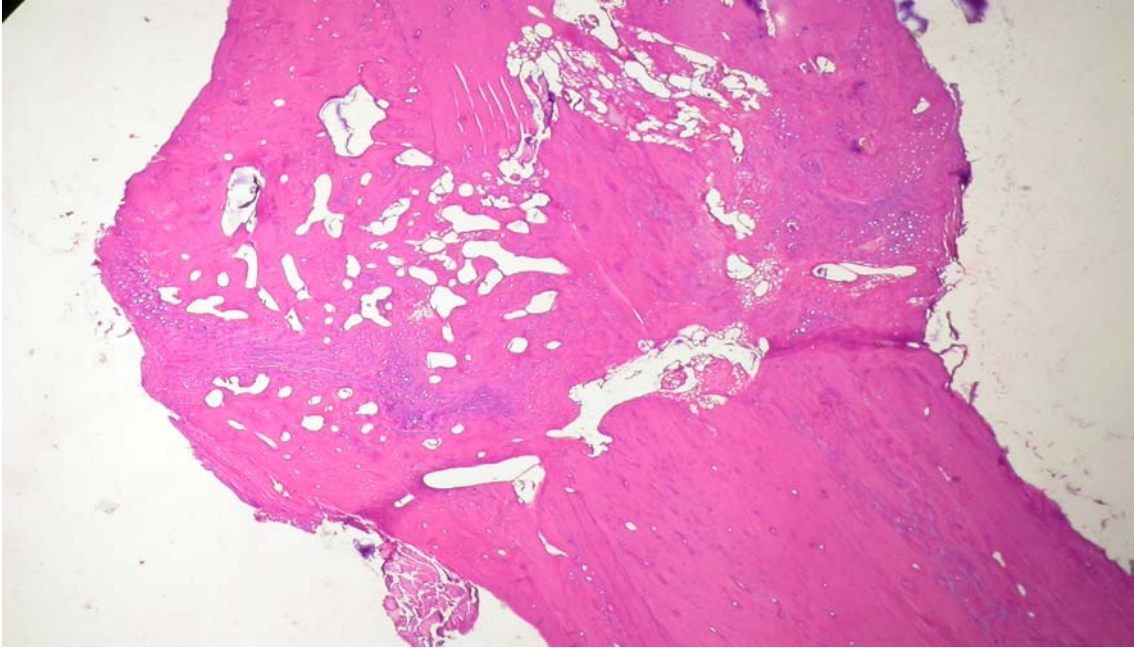
Resim 2: Kontrol grubuna ait tibianın longitudinal kesitinin histolojik görünümü.
(Boyama: Tripple X40)



Resim 3: Kontrol grubuna ait tibianın longitudinal kesitinin histolojik görünümü.
(Boyama: Hematoksilen Eozin (H-E) X100)

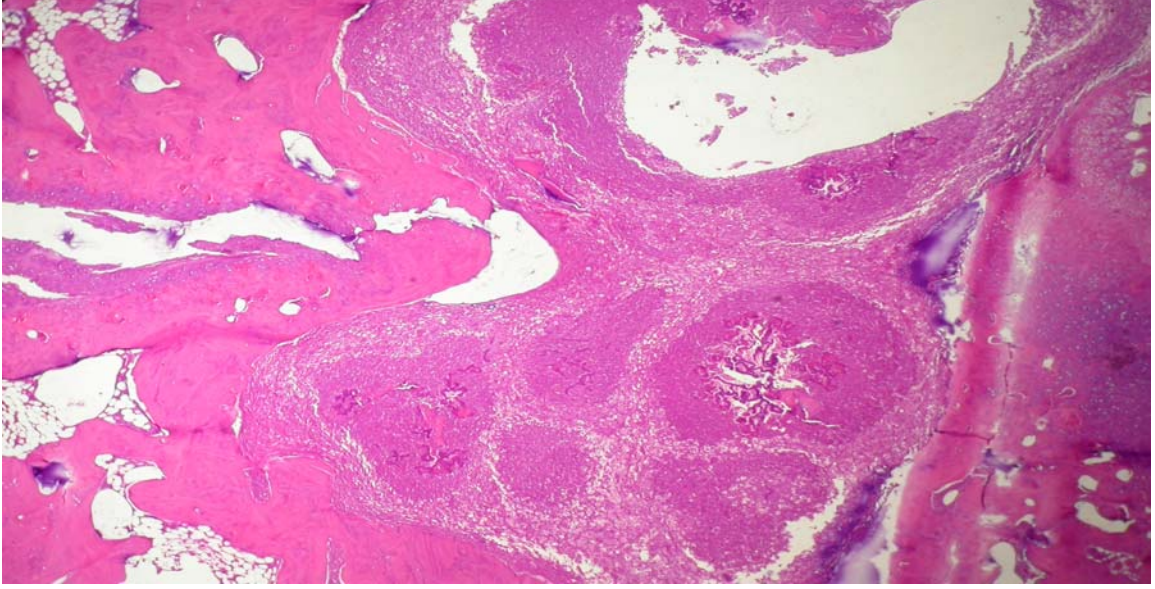
Lenfödem grubu

Bu gruba ait tibia bölgesinde kallusun normal şekillenmediği, nedbe dokusu yapısında bir dokunun olduğu izlendi. Kallus bölgesinde belirgin kemik trabekül yapısı ve düzenli bir kalsifikasyon izlenmedi (Resim 4).

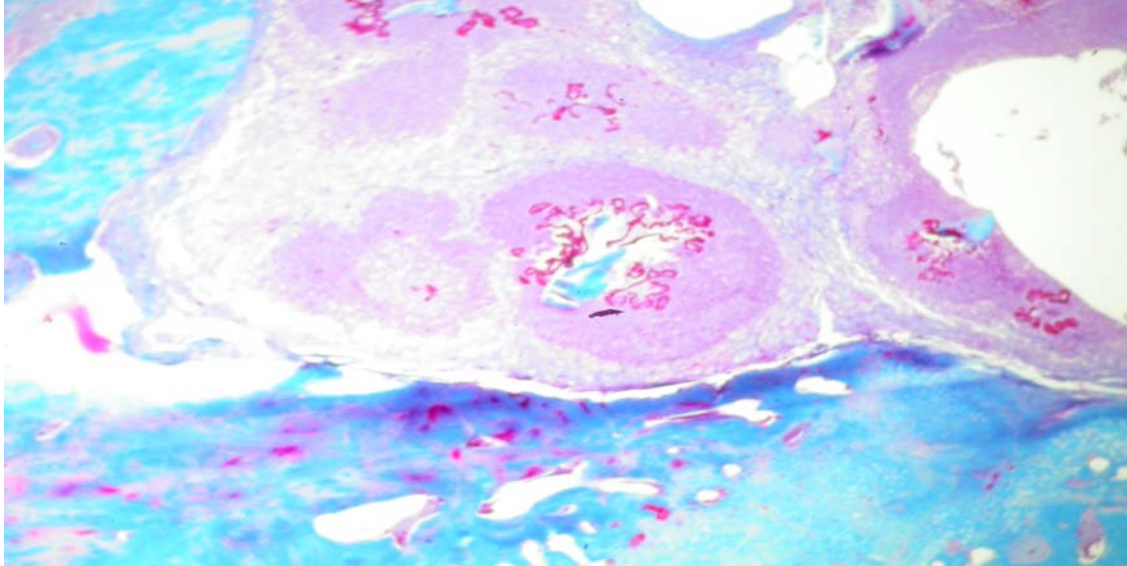


Resim 4: Lenf Ödem grubuna ait tibianın longitudinal kesitinin histolojik görünümü.
(Boyama: Hematoksilen Eozin (H-E) X40)

Kırık bölgesinde şekillenen nedbe dokusunda osteoblastik ve osteoklastik aktiviteye rastlanmadı. Ayrıca bu bölgede belli belirsiz tarzda kalsifikasyon odakları gözlemlendi (Resim 5, 6). Kontrol grubunda şekillenen kallus alanında, kemik trabekülleri arasında kemik iliğine rastlanırken bu grupta bu olguya rastlanmadı.



Resim 5: Lenf Ödem grubuna ait tibia'nın longitudinal kesitinin histolojik görünümü.(Boyama: Hematoksilen Eozin (H-E) X100)



Resim 6: Lenf Ödem grubuna ait tibia'nın longitudinal kesitinin histolojik görünümü. (Boyama: Trippl X100)

TARTIŞMA

Lenfödem lenfatik sistemin obstrüksiyonu ve disfonksiyonu sonucun da, interstisiyel boşluklarda aşırı miktarda sıvı birikimi ile karakterize bir hastalıktır. Etiyolojisi primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır (19).

Primer lenfödem lenfatik anomalilere ve obstrüksiyonlara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu grup üç ana başlık altında incelenir.

1- Konjenital: 2 yaş altında görülür ve tüm primer lenfödem içerisinde %6–12 oranında görülmektedir. Üç başlık altında incelenir:

- a) Familial otozomal dominant: Nonne Milroy hastalığı
- b) Familial nondominant
- c) Sporadik

2-Lenfödem Prekoks: 2–35 yaş arasında görülen tiptir. Tüm primer lenfödem içerisinde %77–94 oranında görülür. İki başlık altında incelenir.

- a) Familial otozomal resesif: Meige hastalığı
- b) Sporadik

3-Lenfödem Tarda: 35 yaş üzerinde görülen tiptir. Tüm primer lenfödem içerisinde %11 oranında görülür.

Sekonder lenfödem ise ikincil bir sebeple ortaya çıkar. İki ana başlık altında incelenir

1-Lenf nodu seviyesinde blokaj

a) Rejyonel lenf nodu disseksiyonu: Aksiler, pelvik, paraaortik ve boyun bölgesi cerrahileri sonrasında görülür.

b) Neoplastik hastalıklar: Lenfoma, Metastatik kanserler, melenoma, prostat, servikal ve meme kanserinde nodal infiltrasyonlar sonrası görülür.

2-Lenfatik kanal seviyesinde blokaj

- a) Travma
- b) Radyasyon fibrozisi
- c) Parazitik ve tekrarlayan enfeksiyonlar
- d) Romatoid artrit
- e) Cerrahi sonrası: İliofemoral by-pass
- f) Lenfatik kanalların tümöral infiltrasyonu

Travma, enfeksiyon ve lenfatik sistemin aplastik lezyonları lenfatik sistemde oklüzyon ve strüktürlere neden olur. Bu durum lenfatik staza neden olmaktadır. Lenfatik staz lenfatik hipertansiyon ile birlikte lenfanjiektaziye sonuçlanır. Gelişen lenfanjiektazi kapak yetmezliğine, kapak yetmezliği ise lenfatik sıvı reflüsü ile ortaya çıkan primer lenfanjiektaziye neden olur. Bu durum lenfatik kapiller bloğa sebep olmaktadır. Gelişen kapiller bloğa bağlı olarak interstisyel boşlukda protein birikimi olur, böylece dokularda adeziv maddelerin azalmasına bağlı olarak interstisyel kolloid osmotik basınç artar. Bu durum interstisyel ödeme böylelikle de lenfödeme neden olur(20).

Bu sirkülasyonda oluşan lenf stazı doku direncinin düşmesine neden olur. Staz tekrarlayan enfeksiyonlara tekrarlayan enfeksiyonlar da doku fibrozisi oluşturarak kısır döngü ile lenfatik sistemin oklüzyon ve strüktürüne neden olur(20).

İnterstisyel alanda protein birikimi fibröz doku hiperplazisine fibröz doku hiperplaziside dokuda fibrozis oluşturarak kısır bir döngü ile lenfatik obstrüksiyona neden olur(20).

Lenfödem lenf sıvısının içerdiği farklı maddeler nedeniyle diğer ödemden oldukça farklı bir klinik durumdur. Lenf, interstisyel aralıktan venöz sisteme doğru taşınan bir artık materyaldir. Esas olarak proteinler, yağlar ve hücreler içerir. Ayrıca bazı kimyasallar, organik ve inorganik hücre ürün ve parçacıkları, bakteri ve virus içerir. Lenfödemde bu sıvının venöz sisteme dönüşü bozulur ve interstisyel aralıkta birikir. Literatürde sınırlı sayıda çalışmada bu artık materyalin yara oluşumunu ve iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği görüşü hakimdir. Lenfödem iki mekanizmayla bu olumsuz etkiyi yaptığı düşünülmektedir. Bunlarda birincisi bu atık materyalin direk hücre proliferasyonuna olumsuz etkilemesi, diğeri de lenfatik hipertansiyona bağlı olarak perilenfatik mikrovasküler dolaşımın bozulmasıdır.

Travma lenfatik akımı arttırmaktadır. Lenfatik sistem çıkışındaki obstrüksiyon ile yara iyileşmesi sürecinde toplanan artık maddeler uzaklaştırılamamak da ve kırık iyileşmesinde bu artık maddeler inhibitör faktör gibi davranmaktadırlar. Bu artık maddeler akut ya da kronik yaraların çevre dokularında interstisyel ya da 3. boşlukda sıvı toplanması ile karakterizedir. Bu sıvı toplanması, mekanik olarak mikrovasküler ve lenfatik sistemi komprese eder. Böylece kapiller ve venöz afterload artar. Sonuçta oksijen ve nutrientler tükenir, toksinler ve inhibitör faktörler birikmeye başlar. Oksijen ve besin maddelerinin tükenmesi toksinlerin ortamdaki uzaklaştırılamaması, yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyerek iyileşme sürecini engellemektedir(16).

Kronik lenfödemnin histopatolojik bulguları arasında bassiment memrandaki lenfatik damarlar kalınlaşır ve fragmantasyona uğrar. Elastik liflerin dejenerasyonu, fibroblastların ve enflamatuar hücrelerin sayısının artması ile birlikte patolojik kollojen miktarının artmasını içerir. Bu da progressif subkutan fibrozise neden olur(21).

O. Eliska ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Lipodermosklerotik deride ki hasara uğramış lenfatiklerin ülser tabanında yetersiz lenfatik drenaja sebep olduğunu gözlemlemiştir. Ülser etrafında lenfatik yetmezliğe bağlı olarak toksik katabolik ürünlerin biriktiğini, bu toksik katabolik ürünlerin uzaklaştırılamamasına bağlı olarak da bu ürünlerin ödem sıvısını agreve ettiğini belirtmişlerdir(22).

Brian Bucalo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kronik yaraların etrafında bulunan sıvıların hücre proliferasyonuna etkileri araştırılmıştır. Kronik yara sıvısı deride fibroblastların, mikrovasküler endotel hücrelerin ve keratositlerin proliferasyonunu inhibe ettiği görülmüştür(23).

Dermal tabakayı etkileyen yaralarda ekstrasellüler matiks kollojen, elastin, glukozaminoglikan sentezleyen perivasküler fibroblastların proliferasyonu ile restore edilirler. Angiogenez veya yeni kan damarlarının oluşumu dermisteki iyileşmenin olmasa olmaz kuralıdır. Epidermis ve dermisteki tam kat yaraların kapanması için dokuda bir kontraksiyona ihtiyaç duyulur. Bu da myofibroblastların kontraksiyonu ile sağlanır. Kronik yara sıvılarının uzaklaştırılması fibroblastların, mikrovasküler endotel hücrelerin ve keratositlerin proliferasyonunu arttırarak yara iyileşmesini arttırmaktadır.

Lois Argenta ve Michael Morykwas isimli araştırmacıların yaptıkları bir çalışmada 300 adet akut, subakut ve kronik yaranın etrafında oluşan ödem sıvısının subatmosferik basınç yaratan bir mekanizma ile alınarak tedaviye verdikleri yanıtlar incelenmiş çok başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu tedavinin başarısını interstisyel sıvının uzaklaştırılmasına, vasküleritenin arttırılmasıyla azalan bakteriyel kontaminasyona ve yara çevresi dokuların mekanik güçlere vermiş olduğu yanıtla bağlamışlardır. Klasik olarak yanık yaraları çevresinde tanımlanan ve staz zonu olarak bilinen interstisyel sıvı kolleksiyonları kronik yaraların(akut ve subakut yaralarda daha az olmakla birlikte) çevresinde mevcuttur. Bu sıvıların uzaklaştırılmasıyla doku turgoru ve kapiller afterloadun azalarak kapiller sirkülasyonun arttığı, hücrelerin üzerindeki inhibisyonun kalkarak proliferatif özellik kazandığı böylece yarada granülasyon dokusunun gelişmeye başladığını belirtmişlerdir(24).

Ronald A. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yetersiz lenfatik drenaj sonucu gelişen lenfomatöz dokunun düşük oksijen kapasitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu dokularda makrofaj aktivitesinde azalma olur. Bu da hastayı enfeksiyon ve sellülit oluşma riski açısından yüksek guruba soktuğunu söylemişlerdir(25).

Paula J.Stevart'ın yaptığı bir çalışmada lenfödemli cildin zamanla fibrotik bir hale geldiğini belirtmiştir. Oluşan fibrozis nedeniyle ciltte çatlaklar olur. Bu çatlaklar bakteri girişi için kapı görevinde bulunurlar. Daha ileri vakalarda lenforenin tabloya eklenmesiyle maserasyonla sonuçlanan sekonder enfeksiyonların ortaya çıktığını belirtilmiştir(26).

Andrzej Suzuba ve Stanley G.Rockson isimli araştırmacıların yaptıkları bir çalışmada dokuda birikmiş protein ve sıvılar bakteriyel üreme için mükemmel bir kültür ortamı sağladığını belirtmişlerdir. Yetersiz lenfatik drenaj lokal immün yanıtı engeller. Bu da bakteriyel ve fungal invazyonu artırır. Gelişen enfeksiyonlar kapiller yapıya zarar vererek yara iyileşmesinde olumsuz bir süreç oluştururlar(19).

Alt ekstremitelerde kronik nonvenoz yaraların olduğu hastaların %80'den fazlasında genel ya da lokal olarak yara çevresinde lenfödem bulunmaktadır (16). Bu da göstermektedir ki yara iyileşmesinde lenfödem dikkate alınması gereken majör bir klinik tablodur.

Kemik iyileşmesinin birbirini takip eden en az 6 evresi vardır. İlk hematoma ve inflamasyon evresini angiogenezis oluşum evresi takip eder. Kırığı takiben oluşan hematoma içinde salınan signaling molecules kırık iyileşmesi için gerekli bir dizi hücresel olayı başlatır. Örneğin, inflamatuvar hücrelerin saldırdığı interleukins-1 ve 6 (IL-1, IL-6) kırık iyileşme sürecinin başlangıcındaki hücresel olayları regüle eder. Yine plateletler içerisinde salınan transforming growth faktör-beta (TGF-B) ve platelet-derived growth faktör (PDGF) hücre proliferasyonu diferansiasyonunda önemli rol oynar. Yara iyileşmesinin ilk evresini de kırık iyileşmesinde olduğu gibi inflamasyon oluşturur ve başlangıçtaki hücresel olaylar kırık iyileşmesine benzer. Daha da önemlisi bu hücresel olayları da aynı sitokinler ve büyüme faktörleri başlatır ve sürdürür. Hücresel ve moleküler düzeyde birbirine bu kadar çok benzeyen bu iki süreci etkileyen diğer faktörlerinde benzer olması beklenir. Lenfödem bu faktörlerden birisidir. Şimdiye kadar dikkat çekilip araştırılmamış olsa da, bizim çalışmamızın sonuçları bu faktörün yara iyileşmesinde olduğu gibi kırık iyileşmesini de olumsuz etkilediğini göstermektedir.

Kırık iyileşmesi sonucu oluşan kallusun histopatolojik incelenmesinde histomorfometrik analiz önemli bir parametrik bulgudur. Bizim yaptığımız bu çalışmada da başlangıçta her iki grupta oluşan kallusun histomorfometrik analizi planlanmış olmasına rağmen histopatolojik kesitler incelendiğinde lenfödem grubunda kırık bölgesinde oluşan kallusun nedbe dokusu özelliğinde olduğu osteoblastik ve osteoklastik aktivitenin olmadığı, kaksifikasyonun ise düzensiz olduğu görüldü. Kırık bölgesinde oluşan dokuda, osteoblastik ve osteoklastik aktiviteye sahip hücre görülmediği için histomorfometrik inceleme yapılamadı.

Literatür bilgilerine dayanarak görülmektedir ki lenfödem ekstremitelerde istenmeyen birçok histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Bu histopatolojik değişiklikler yara iyileşmesini her basamak da engellemektedir. İnsanlarda oluşan kırıklara 1/3 oranında lenfödem eşlik etmektedir(27). Bu çalışma ile elde ettiğimiz bulguların değerlendirilmesiyle görüldü ki kronik lenfödem varlığında kırık kaynaması nonunion ile sonuçlanmaktadır. Bu seyrek olmayan birliktelik nedeniyle insanlarda benzer bir çalışma olmamakla birlikte ratlarda yaptığımız bu çalışmanın geçerliliğini insanlarda bir hipotez olarak kabul edersek tüm kırıklarda %10 oranında görülen nonunionların önlenmesinde lenfödemin tedavisi kırık iyileşmesinde altın standart olarak görülmektedir.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Kronik lenfödemin kırık iyileşmesi üzerine etkisi ratlarda deneysel olarak araştırıldı.

Materyal metod: Çalışmamızda ağırlıkları 200–250 gram olan 30 adet rat kullanıldı. Her grupta 15 rat olacak şekilde iki grup oluşturuldu. Her iki gruptan üçer adet rat deney süresince telef oldu.

GRUP 1(n=12): Lenfödem grubu; İki gruba ayrıldı.

GRUP 1A(n=6):Biyomekanik analiz için kullanılanlar.

GRUP 1B(n=6):Histopatolojik analiz için kullanılanlar.

GRUP 2(n=12):Kontrol grubu; İki gruba ayrıldı.

GRUP 2A(n=6): Biyomekanik analiz için kullanılanlar.

GRUP 2B(n=6): Histopatolojik analiz için kullanılanlar

Kanter ve arkadaşlarının An Experimental Model For Chronic Lymphedema isimli çalışma protokolü kullanılarak lenfödem oluşturuldu. İngüinal bölgeden lenf nodu disseksiyonu yapıldıktan sonra femoral ven ligatüre edildi. Cerrahi sonrası eksize edilen cilt dudakları arada 10 mm'lik aralık kalacak şekilde açık bırakılıp lenfödem oluşturuldu.

Lenfödem oluşturulduktan iki hafta sonra her iki grup tibia orta diafizinde kırık oluşturularak intramedüller tespit uygulandı. 8 hafta sonra her iki grupta yer alan ratlar kurban edilip tibialar biyomekanik ve histopatolojik incelemeye alındı.

Bulgular: Lenfödemli grup da oluşan kallusun biyomekanik özelliği incelendiğinde stiffness ve stress-strain değerleri kontrol grubuna göre düşüktü. ($p<0.025$). Histopatolojik değerlendirmede lenfödem grubunda oluşan kallusun nedbe benzeri bir doku şeklini aldığı, osteoblastik ve osteoklastik aktivitenin olmadığı kalsifikasyonun düzensiz olduğu görüldü. Kontrol grubunda ise trabeküler kemiğin olduğu osteoblastik ve osteoklastik aktivitenin mevcut, kalsifikasyonun ise düzenli olduğu görüldü.

Sonuç: Ratlarda yaptığımız deneysel çalışmaya göre kronik lenfödem kırık iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Ancak insanlarda da bu olumsuz etkinin olup olmadığı ve lenfödemin kırık iyileşmesini hangi mekanizmayla olumsuz etkilediği bilinmemektedir. Başka deneysel ve klinik çalışmalarla bizim bu bulgularımızın desteklenmesi ve geliştirilmesi gerekir.

SUMMARY

Object: In this study the effect of chronic lymph edema on fracture regeneration was experimentally researched in rats.

Method and material: In our study we used 30 rats that weigh 200-250 grams. Two subgroups of 15 rats were performed. Three rats have died in each group in the period of the experiment.

Group 1 (n=12): the lymph edema group .It was divided into two subgroups.

Group 1A (n=6): rats used for biomechanical analysis.

Group 1B (n=6): rats used for histo pathologic analysis.

Group 2(n=12): the control group. It was divided to two subgroups.

Group 2A (n=6): rats used for biomechanical analysis.

Group 2B (n=6): rats used for histo pathologic analysis

The protocol of Canter et al which is named as an experimental model for chronic lymph edema was used to perform chronic lymph edema. The femoral vein was ligatured after dissection of lymph nodes in inguinal region. After surgery the excised skin sides were leaved 10mm apart to perform chronic lymph edema

Two weeks after performing lymph edema, fractures were performed in the medial diaphysis of tibia in each group and intra-medullar fixation was used in these fractures. After 8 weeks all the rats of two groups were sacrificed and tibial histo pathologic and bio-mechanic research was performed.

Findings: The stiffness and stress-strain values of callus in chronic lymph edema group was less then the control group in biomechanical analysis ($p<0.025$). In the histo pathologic evaluation the callus has become a scar like tissue shape and osteoblastic and osteoclastic activity was not seen in the group. Also calcification was not proper in this group. In the control group trabecular bone was performed osteoclastic activity was present in the group. Also calcification was proper.

Result: In this experimental research we found that the chronic lymph edema effects the fracture regeneration negatively. However, the existence of this negative effect in people is not known and the mechanism of this effect is not known. Our findings must be supported by other experimental and clinical studies.

KAYNAKLAR

1. Spinal füzyon Prof.Dr. Palaoğlu S, s.11–30.

2. Histoloji ve hücre biyolojisi Abraham L, Kierszenbaum. 2006:96–145.
3. Basic Histology L.Carlos Jonqueira, Jose Carneiro, O.Kelley 1998:132–151.
4. Genel Tıbbi Histoloji Dr.Alparslan Gökçimen Isparta 2006:89–102.
5. Mikroskopik Düzeyde Kırık İyileşmesi Dr.Sibel Serinoğlu Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Cilt 55 sayı 2 2002:143–150.
6. Brond AR, Rubin TC. Fracture Healing.Surgery of the Muskuloskeletal System New York: Churchill Livingstone, 1990:1:93 -114.
7. De Palma. The Management of Fractures and Dislokations London: W.B. Saunders, 1970:1:10–12.
8. Frost HM. The Biology of Fracture Healing. An Overview Clinicians Part 1–2. Clin Orthop 1989:248:283–309.
9. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament:Fractures 2nd ed philadelphia: Lipincott Co,1984:1:147-167.
10. Gartner Leslie P,Hiatt James L.Color Textbook of Histology.1997:114–130.
11. Ozaki A. Role offracture hematoma and periyosteum during healing in rats.İnteraction of frakture hematoma and the periyosteum in the initial step of the healing process.J.Orthop.Sci 2000:5(1):64-70.
12. Miller Mark D.Review of orthopaedics.1996:1–22.
13. Khan SN.Bone growth factors:Orthop.Clin.North.Am.2000:31(3):375-388.
14. Yılmaz C.Erdemli E.Selek H.Kınık H.Arıkan M.The condribution of vitamin C to Healing of Experimental Fractures.Arch Rtauma surg.2001:121:426-428.
15. Douglas J.Pritchard MD. Instructional Course Lectures 1996:371–413.
16. John M.Macdonald,Nancy Sims RN Lymphedema,Lipedema and the open wound The role of compression therapy Surg Clin N Am 83 (2003) 639-658.
17. Tüm yönleri ile yara iyileşmesi Dr. Oktay Avcı Dermatoloji Kitabı: 57–61.
18. Türk Geriatri Dergisi Dr. Hüseyin Okutan, Dr. Ali Kutsal 2004: 7(2):111–116.
19. Andrej Szuba,Stanley G.Rockkson Lymphedema: classification, diagnosis and therapy Vascular medicine 1998;3;145-156.
20. Experimental Model of Chronik Limb Lymphedema and Determination of Lymhatic and Venous Pressures in Normal and Lymphedematous Limbs L.Han, T.Chang, W.Hwang Annals of Plastic Surgery vol.15 no.4 1985:303–312.
21. T. Ryan and D. de Berker, The interstitium, the connective tissue environment of the lymphatic, and angiogenesis in human skin. *Clin Dermatol* 13 (1995), pp. 451–458.

22. O. Eliska, M.Eliskova Morphology of lymphatic in human venous crural ulcers with lipodermatosclerosis Lymphology 34(2001), 111–123.
23. Brian Bucalo, MD; William H. Eaglstein, MD; Vincent Falanga, MD Inhibition of cell proliferation by chronic wound fluid Wound repair and regeneration 1 (3),181–186:1993.
24. Louis C Argenta, Michael J Morykwas Vacuum-Assisted Closure: A new method for wound control and treatment: Clinical experience Annals of Plastic Surgery 38(6):1997.
25. Sieggreen Mary Y. Ronald Kline Current Concepts in Lymphedema Management Adv Skin Wound Care 2004 May;17(4 pt 1):174–180.
26. Paula J. Stewart Lymphedema and wound management challenges National Lymphedema Network 2001 vol.13 no.4.
27. Casley Ssmith JR Treatment For lymphedema. The lymphedema Association of Australis 1997:81-84.
28. Anatomi atlası ve ders kitabı Prof. Dr. Fahri DERE 1999 Cilt–1 Sayfa 41–45.