

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEOFİLİN 'İN SIÇANLARDA
KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Kubilay Ersin TÜRKMEN

TRABZON-2013

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEOFİLİN 'İN SIÇANLARDA
KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Kubilay Ersin TÜRKMEN

Tez danışmanı: Prof. Dr. Hafız AYDIN

TRABZON-2013

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİL LİSTESİ	IV
TABLO LİSTESİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	VII
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KEMİK DOKUSU VE HİSTOLOJİSİ.....	3
2.1.1. Kemik Hücreleri	3
2.1.2. Kemik Matriksi.....	4
2.1.3. Periosteum ve Endosteum	5
2.2. KEMİK TİPLERİ.....	5
2.3. KEMİĞİN OLUŞUMU	6
2.3.1. İntramembranöz Kemikleşme.....	6
2.3.2. Enkondral Kemikleşme	6
2.4. KIRIK TANIMI	6
2.5. KIRIK İYİLEŞMESİ	7
2.5.1. Kırık İyileşmesinin Evreleri	7
2.5.2. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	13
2.5.3. Kırık İyileşmesinin Kontrolü.....	17
2.6. TEOFİLİN.....	19
3. MATERYAL VE METOD	22
3.1. ÇALIŞMA PLANI	22
3.2. CERRAHİ TEKNİK	23
3.3. RADYOLOJİK İNCELEME	26

3.4. HİSTOLOJİK İNCELEME	27
3.5. İSTATİSTİKSEL İNCELEME	28
4. BULGULAR	29
4.1. KLİNİK BULGULAR.....	29
4.2. RADYOLOJİK BULGULAR	29
4.3. HİSTOLOJİK BULGULAR	35
4.4. İSTATİKSEL BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR.....	49
7. ÖZET	51
8. SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kırık iyileşmesi evreleri.....	8
Şekil 2 : İnflamasyon evresi	9
Şekil 3: Yumuşak kallus oluşma evresi	11
Şekil 4 . Sert kallus oluşma evresi.....	11
Şekil 5: Yeniden yapılanma evresi	12
Şekil 6. Sıçanın uyluğunun ameliyat için hazırlanması.	23
Şekil 7: Femur lateralinden yapılan cilt insizyonu.....	23
Şekil 8 . Ekartasyon sonrasında femurun görüntüsü.	24
Şekil 9. Femur cisminde transvers kırık oluşturulması.	24
Şekil 10 . Kirschner telinin intramedüller olarak diz bölgesinden dışarı çıkarılması.	25
Şekil 11 . Kırık hattının redükte edilerek telin ilerletilmesi.	25
Şekil 12. Uyluğun cilt kapatıldıktan sonraki görüntüsü.	26
Şekil 13: 1. ve 2. ortopedist tarafından yapılan radyolojik değerlendirme grafik olarak gösterilmiş.....	32
Şekil 14 . T 1 grubunun Yedinci güne ait radyografilerinden örnekler.	32
Şekil 15 . T 2 grubunun yirmibirinci güne ait radyografilerinden örnekler.	33
Şekil 16. T 3 grubunun otuzbeşinci güne ait radyografilerinden örnekler.	33
Şekil 17. K 1 grubunun yedinci güne ait radyografilerinden örnekler.	34
Şekil 18. K 2 grubunun yirmibirinci güne ait radyografilerinden örnekler.....	34
Şekil 19. K 3 grubunun otuzbeşinci güne ait radyografilerinden örnekler.....	35
Şekil 20: Yapılan histolojik değerlendirme grafik olarak gösterilmiş.....	36
Şekil 21: Teofilin grubunun 7. gündeki görüntüsünde yaygın fibröz doku yıldız işaretiyle, yer yer kıkırdak doku ok işaretiyle gösterildi(H&E X20).....	36
Şekil 22: Teofilin grubunun 21. gündeki görüntüsünde kıkırdak doku ok işaretiyle, olgunlaşmamış kemik üçgen sembolüyle gösterildi (H&E X20).	37

Şekil 23: Teofilin grubunun 35. gündeki görüntüsünde yaygın olgunlaşmamış kemik dokusu üçgen sembolüyle, yer yer kıkırdak dokusu ok işaretiyle gösterildi (H&E X20).....	37
Şekil 24: Kontrol grubunun 7. gündeki boyama görüntüsünde yaygın fibröz doku yıldız sembolüyle, yer yer kıkırdak doku ok işaretiyle gösterildi(H&E X 20).....	38
Şekil 25: Kontrol grubunun 21. gündeki boyama görüntüsünde yaygın kıkırdak dokusu ok işaretiyle,yer yer olgunlaşmamış kemik dokusu üçgen sembolüyle gösterildi(H&E X 20).	39
Şekil 26: Kontrol grubunun 35. gündeki boyama görüntüsünde yaygın olgunlaşmamış	40

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Deney grupları ve sayıları.....	22
Tablo 2: Lane-Sandhu puanlama sistemi	27
Tablo 3: Huo histolojik puanlama sistemi	28
Tablo 4 : T 1 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları	29
Tablo 5: T 2 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. Ortopediste ait değerlendirme sonuçları	30
Tablo 6 : T 3 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları	30
Tablo 7: K 1 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. Ortopediste ait değerlendirme sonuçları	30
Tablo 8: K 2 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1.ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları	31
Tablo 9: K 3 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. Ortopediste ait değerlendirme sonuçları	31
Tablo 10: İki ayrı ortopedist tarafından değerlendirilen radyolojik bulguların toplam ve dağılımını göstermekte	31
Tablo 11: Sıçanların sağ femurlarının histolojik olarak puanlama sonuçlarıkemik dokusu üçgen, yer yer kıkırdak doku ok işaretiyle gösterildi (H&E X 20).	35
Tablo 12: Radyolojik olarak kemik oluşumu bakımından elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı	41
Tablo 13: Radyolojik olarak kaynama bakımından elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı.....	41
Tablo 14: Radyolojik olarak yeniden yapılanma bakımından elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı	41
Tablo 15 : Huo histolojik puanlama sistemine göre elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ALP	Alkalen fosfataz
BMP	Kemik morfojenik proteini
Ca+2	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
COX	Siklooksijenaz
ECDGF	Endoteliyal hücre kaynaklı büyüme faktörü
ECGF	Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
MDGF	Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü
Mg	Miligram
NSAI	Nonsteroid antiinflamatuvar
FDE	Fosfodiesteraz
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PG	Prostaglandin
PO4	Fosfat
PTH	Paratiroid hormonu
TGF- α	Dönüştürücü büyüme faktörü-alfa
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü-beta
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
vb	ve benzeri

1.GİRİŞ

Kırık; kemiğin anatomik bütünlüğünün tamamen veya kısmen bozulması ve çevre yumuşak dokuları da etkileyen bir durum olarak ifade edilebilir. İnsanlar var oldukça ve teknoloji ilerledikçe kazalar da aynı oranda artmakta yıkımlar katlanarak büyümektedir. Binaların sürekli yükselmesi, otomobillerin güvenlik önlemlerinin giderek artması neticesinde ölümcül olmayan ancak travması fazla olan yaralanmaların sayısını da artmaktadır. Aynı zamanda insan ömrünün uzaması da kırık insidansının artmasına yol açmaktadır. İşte bu etkenlerden dolayı hayatımızda “*kırık riski*” her zaman vardır. Dolayısıyla kırığın tedavisi gün geçtikçe “daha çabuk” ve “daha güçlü” olmalıdır. Kırığın kaynaması için beklenen süre ne kadar azalırsa maliyetler o kadar düşük olacak, hastanede yatış süresi azalacak , kullanılan pahalı implantların önü kesilecek, işe dönüş çabuk olacak ve toplam iş gücü kaybı azalacaktır. Bu nedenle kırık, ortopedik cerrahinin en fazla uğraşılan konularından biridir (1).

Kırık iyileşmesi kırığın olduğu anda başlar ve kırık uçları tamamen bütünleşinceye kadar devam eder. Oldukça düzenli bir şekilde ilerleyen bu süreç bir o kadar da iç içe geçmiş evreleri takiben gerçekleşir. Bu evreleri etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Kişinin genel durumu, yaşı, kullandığı ilaçlar, travmanın şiddeti ve karakteri gibi faktörler kırık iyileşmesini olumlu ya da olumsuz etkileyebilir. Kırık iyileşmesi, inflamasyonla başlayan üç aşamalı bir süreçtir. İnflamasyonu takiben onarım (reperasyon) ve yeniden yapılanma(remodeling) evreleri ile tamamlanır (2). Bu evrelerden herhangi birinde aksaklık olursa kırık iyileşmesi bu durumdan etkilenecektir.Uzun süre antienflamatuar ilaç kullanımı kırık iyileşmesinin inflamatuar evresini etkileyerek iyileşmeyi geciktirebilir veya kaynamayı bozabilir. Öte yandan astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi kronik inflamatuar hastalıklarda güçlü antienflamatuar etkiye sahip olan kortikosteroidlerin kemik metabolizmasını bozarak osteoporoza yol açtığı bilinmektedir (3).

Teofilin metilksantin türevi olup, bronkodilatör ve antienflamatuar etkilere sahip bir ilaçtır. Bu özelliklerinden dolayı başta bronşiyal astma olmak üzere bronkospazma yol açan anafilaksi, allerjen, toksik gaz, duman solunması sonucu oluşan solunum zorluğunun

tedavisinde kronik bronşit, kronik obstrüktif akciğer hastalığının(KOAH) akut ataklarında reversibl bronkospazmı çözmek için kullanılmaktadır (4).

Teofilinin bronkodilatör ve antienflamatuar etkilerinde fosfodiesteraz enzimlerini inhibisyonu rol oynar. Bununla birlikte teofilin adenozin reseptörlerini de antagonize eder. Adenozin kırığın iyileşmesine katkıda bulunan prostoglandinler, kemik uyarıcı faktörler (TGF-B, BMP, FGF, İnterlökinler) gibi bir takım inflamatuvar maddelerin salgılanması ve salıverilmesini sağlayan bir endojen mediatördür(4). Dolayısıyla teofilinin inflamatuvar hücre göçünü engelleyebileceği ve böylelikle kırık iyileşmesini etkileyebileceği düşünülmüştür.

Kemik iyileşmesinin biyolojisi üzerine teofilinin yukarıda bahsedilen farmakolojik özelliklerinden kaynaklanabilecek bir etkisi öngörülebilir. Ancak konuyla ilgili literatürde deneysel veya klinik herhangi bir kanıt bulunmamaktadır.

Yapılan çalışmalarda çay yapraklarında “teofilin” izole edilmiş ve çay tüketiminin fazla olduğu ülkemizde bu durumun kırık iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılmasının anlamlı olabileceği düşünülmüştür (5).

Bu çalışmada, sıçanlarda teofilinin kırık iyileşmesi üzerine etkisinin radyolojik ve histolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU VE HİSTOLOJİSİ

İnsan vücudunun en sert dokularından biri olan kemik dokusu; canlı, oldukça iyi kanlanma gösteren, yapım ve yıkımın eş zamanlı olduğu, mineralize bir bağ dokusudur (6). Vücudun denge ve hareket etmesini sağlamasının yanı sıra hayati organları korumak ta en önemli görevlerindendir. Kemik dokusu aynı zamanda içerisinde barındırdığı kemik iliği sayesinde kan hücrelerinin yapımını sağlar ve metabolik olarakta vücudun gereksinimi olan (Ca^{+2}) ve fosfat (PO_4) gibi minerallerin depolanıp gerektiğinde salınması kemik doku sayesinde olur (6,7).

Kemik, hücreler arası kalsifiye matriks ve bu matriks içinde dizilim gösteren hücrelerden oluşmuştur. Bunlar; osteositler, osteoblastlar, osteoklastlar ve osteoprogenitör hücrelerdir (6) . Osteositler kemik dokunun devamlılığından sorumludurlar. Olgun kemikteki hücrelerin %90'ını osteositler oluşturur. Osteoblastlar, matriksin organik kısımlarının sentezini yaparlar. Osteoklastlar ise çok çekirdekli dev hücreler olup lizozomal enzimler içerirler. Kemik dokusunun yıkımı ve yeniden şekillenmesini gerçekleştirirler (6).

Kemik dışta sıkı bağ dokusu ve içte osteoprogenitör hücreleri içeren periosteum ile kaplıyken, kemiğin santral kavitesi ise özel ince bir bağ dokusu olan endosteum ile örtülüdür. Endosteum, tek tabakalıdır. Osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlardan oluşur (6).

2.1.1. Kemik Hücreleri

Osteoprogenitör hücreler:

Osteoprogenitör hücreler, periosteumun iç tabakasında ve Havers kanallarını çevreleyen endosteumda bulunurlar (7) . Embriyonik mezankimal hücrelerden köken alan çoğalma ve farklılaşma özelliklerine sahip olan hücrelerdirler. Mitoza girme yeteneklerini devam ettirerek osteoblastlara farklılaşabilirler. Bu hücreler, yaşam boyunca canlı kalarak; erişkinde kemik kırıklarının onarımı sırasında ve diğer hasarlarda yeniden aktive olurlar (7,8).

Osteoblastlar:

Osteoprogenitör hücrelerden köken alan; kemik matriksinin organik kısımlarında Tip I kollajen ve nonkollajen proteinlerin sentezinden sorumludurlar(6,7). Diğer yandan kemiğe inorganik kısımların çökebilmesi için de osteoblastların varlığı gereklidir(8). Osteoblastlar, kemik yüzeylerinde tek katlı epiteli andıracak şekilde yan yana bulunurlar. Matriks sentezlemeye başladıklarında Alkalen fosfataz (ALP) aktivitesi artar ve sitoplazmaları bazofilik hale gelir. Sentez işlemleri azaldıkça ALP aktivitesi azalır, sitoplazmalarının bazofilik özellikleri kaybolur ve yassılaşırlar. Osteoblastlar matriks ile sarıldıklarında **osteosit** olarak adlandırılırlar (6,7).

Osteositler:

İnsan iskeletindeki hücrelerin %90'ından fazlasını osteositler oluşturmaktadır. Osteoblastlardan köken alırlan bu hücreler matriks içindeki lakuna isimli boşluklarda bulunurlar. Her bir lakunada bir adet osteosit ve uzantıları bulunur. Osteositler kemiğin canlılığı için gerekli maddeleri salgırlar (7). Bu hücreler aktif olarak kemik matriksinin bakımından sorumlu olup, ölümelerini takiben matriks rezorbsiyonu görülür (9).

Osteoklastlar:

Osteoklastlar; diğer kemik hücrelerinin aksine kemik iliğindeki monosit-makrofaj progenitör hücrelerden köken alan, çok çekirdekli, büyük ve hareket edebilen hücreler olup asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgılayarak kemiğin rezorbsiyonunu sağlarlar (6,7). Bu hücreler kemik rezorbsiyonun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış ve Howship lakunası adı verilen yuvalarda bulunurlar (6).

2.1.2. Kemik Matriksi

Kemik matriksi organik ve inorganik bileşiklerden oluşur. Kollajenden oluşan organik madde kemiğe şeklini verirken inorganik madde ise kompresyon güçlerine karşı direnci sağlar. Kemik matriksinin kuru ağırlığının % 60-70'i inorganik maddelerden oluşturur (8). Organik maddeler kemiğin kuru ağırlığının % 30-40'ını oluşturur. Tip I kollajen liflerinden zengin olması kemiğe güç ve dayanıklılık sağlar aynı zamanda değişik oranlarda kondroitin sülfat, keratan sülfat, hyaluronik asitten zengin proteoglikanları ve

kollajen olmayan proteinleri de içerir (6,8). Kollajen ile hidroksiapatit kristallerinin arasındaki ilişki kemiğin gücünü ve sertliğini belirler. Dekalsifiye kemik normal şeklini korur, fakat çok bükülebilir olur. Aksine organik bölüm kemikten uzaklaştırılırsa kemik yine asıl şeklini korur ancak kırılma eğilimi artar.

2.1.3. Periosteum ve Endosteum

Kemiğin iç ve dış yüzeyleri; kemik yapan hücreler ve bağ dokusundan oluşan zarlarla örtülüdür, bu zarlardan içte endosteum, dışta ise periosteum adı verilir . Periosteum, fibröz bir dış katman ve hücre ve damarlardan zengin olan iç katman olmak üzere iki katmana sahiptir. Periosteum kemik yüzeyini dıştan sararak kırık iyileşmesinde önemli katkıda bulunur. Özellikle çocuklarda periostun kanlanması kırık iyileşmesinde önem arzeder (6,8,12).

Endosteum; kemiğin içindeki boşlukları örter periosteuma göre daha incedir. Periosteum ve endosteumun temel görevleri; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan osteoblastları sağlamaktır. Bu nedenlerle periosteum ve endosteumun korunması kırık kaynaması açısından önem taşır (6,8).

2.2. KEMİK TİPLERİ

Kemikler, anatomik şekillerine göre;

- 1.Kısa kemikler (omurlar, karpal ve tarsal kemikler)
- 2.Uzun kemikler (femur, tibia, humerus)
- 3.Yassı kemikler (kafatası kemikleri, pelvis kemikleri, skapula) 3'e ayrılır.

Kemiğe makroskopik olarak bakıldığında kortikal ve kansellöz olmak üzere iki tip kemik görülür (6,7).

Kortikal ve kansellöz kemiğin matriks dizilişi ve yapısı aynıdır, ancak birim hacme düşen kemik matriks miktarı kortikal kemikte daha yoğundur. Bundan dolayı kortikal kemik daha az boşluklu bir yapı oluşurken kansellöz kemik çok sayıda birbirine açılan boşluklardan oluşur. Ayrıca dayanıklılık ve esneklik açısından kortikal kemik kansellöz

kemiğe göre on kat daha güçlüdür (9).

Kansellöz kemik, kemik iliği tarafından doldurulan boşluğu sınırlayan bir ağ örgüsünden meydana gelir (6). Birim hacme düşen yüzey alanı kortikal kemiğe göre yirmi kat daha fazladır. Kortikal kemikte hücreler kemik matriksi ile kuşatılmış durumda iken, kansellöz kemikteki hücreler lamellalar arasında veya trabeküllerin yüzeyinde yerleşmiş durumdadır (9).

2.3. KEMİĞİN OLUŞUMU

Kemik intramembranöz kemikleşme ve endokral kemikleşme olmak üzere iki yolla şekillenir. İntramebranöz kemikleşme osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan mineralizasyonu ile olurken, endokral kemikleşme daha önce var olan kıkırdak matriksi üzerine kemik matriksinin çökmesi ile meydana gelir.

2.3.1. İntramembranöz Kemikleşme

Yassı kemiklerin embriyolojik gelişiminde rol alır. İntramembranöz kemikleşme kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında rol oynar (9,10). Doğumdan sonra, kemik defektlerinin rejenerasyonu ve kırık onarımında yeniden aktive olur (10).

2.3.2. Endokral Kemikleşme

Direk bir mekanizma olmaksızın mineralize kıkırdağın, taslak olarak kullanılıp kemik dokuya çevrilmesiyle oluşan bir süreç söz konusudur (9). Temelde bir hyalin kıkırdak matriksi baz alınır. Öncelikle kıkırdak matriksi mineralize olurken, kondrositler genişler, damarlardan kıkırdağa doğru invazyon olur ve kan yoluyla gelen hücreler kıkırdağın merkezini rezorbe ederek medüller boşluğu oluştururlar (10).

2.4. KIRIK TANIMI

Sebebi ne olursa olsun içeriden veya dışarıdan etki eden kuvvetlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasıyla birlikte çevre yumuşak dokularında olumsuz yönde etkilenmesine kırık denir (11).

Kırıkla birlikte etraftaki diğer yapılar (deri, kaslar, tendonlar, ligamentler, damarlar, sinirler) ve hatta komşuluğundaki organları da hasara uğratabilir. Kırığa özgü belirti ve bulgular ise; hastanın duruşunda bozukluk, deformite, krepitasyon, etkilenen ekstremitenin kısalık ve anormal harekettir (11).

2.5. KIRIK İYİLEŞMESİ

2.5.1. Kırık İyileşmesinin Evreleri

Kemik dokusu skar doku oluşturmaksızın rejenerasyonla aslına en yakın şekilde iyileşir bu özeliği diğer bir çok dokuya göre kemik dokusunun farklılığıdır (11). Bu süreç oldukça karmaşık ve aynı zamanda oldukça düzenli basamaklardan meydana gelmektedir. Kırık iyileşmesi, kırığın olduğu andan itibaren başlar ve kırık uçları düzenli kemik dokusu ile birleşip kemik eski halini alana kadar devam eder (13,14).

İki tip kırık iyileşmesi vardır;

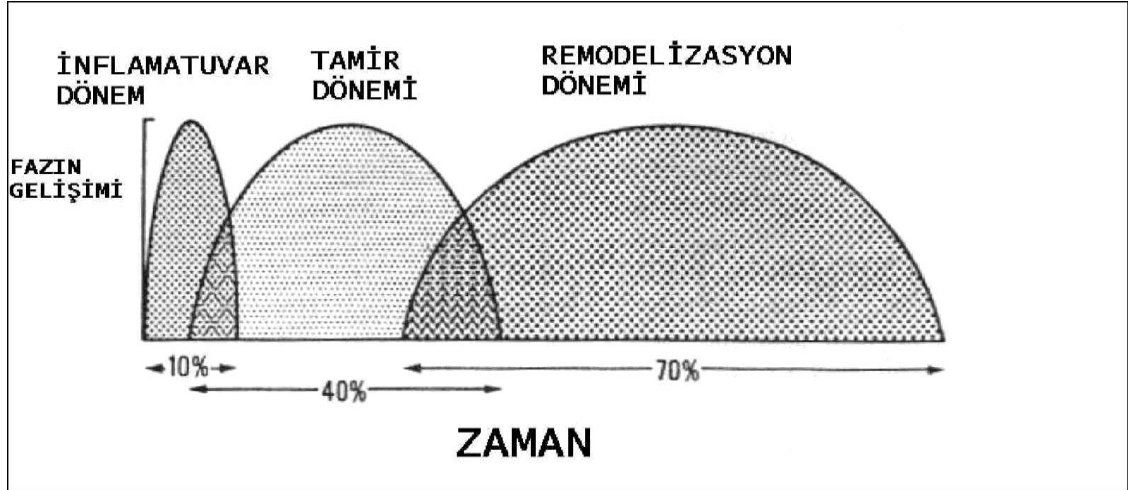
- I. Primer (direkt) kırık iyileşmesi
- II. Sekonder (indirekt) kırık iyileşmesi

Primer kırık iyileşmesi, genellikle ayrılmamış veya anatomik olarak redükte edilmiş ve sıkı tespit uygulanmış durumlarda görülürken belirli bir dış kallus oluşmaz sadece bir iç kallus ile iyileşme görülür. Grafilere kallus formasyonu yoktur. Bir nevi intramembranöz kemikleşmeye örnektir (15,16).

Sekonder kırık iyileşmesi, doğal kırık iyileşmesidir. Sıkı olmayan tespit sonrası kendiliğinden oluşmakta olup radyolojik olarak kallusun görüldüğü iyileşmedir. Hem endokondral hem de intramembranöz kemik iyileşmesini içerir (15,16).

Radyolojik ve histolojik olarak 3 evrede incelenebilir (17,18).

- I. İnflamasyon (yangı) dönemi
- II. Reperasyon (onarım) dönemi
- III. Remodeling (yeniden yapılanma) dönemi



Şekil 1. Kırık iyileşmesi evreleri (Travmatoloji, 1989)

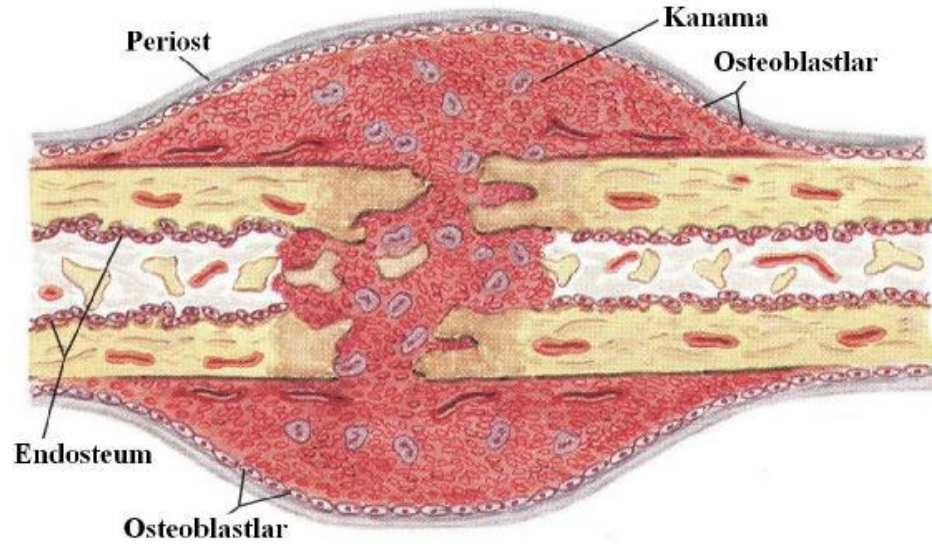
Bu üç evre birbirinden net sınırlarla ayrılamazlar hepsi bir bütün şeklinde incelenir.

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

Kemiğin kırılmasıyla kemikle birlikte kan damarları, kas ve periosteum gibi yumuşak dokular da zarar görür ve kırık bölgesinde bir kanama meydana gelir. Bu bölgede kan, lenf ve eksuda birikir. Bu birikintiyeye kırık hematomu denir. Kırık uçları arasında, periosteum altında ve eğer periosteum yırtılmışsa etrafında hematomu oluşturan kanama bir süre sonra durur. Oluşan hematoma basıncı kırık uçlarının bir arada tutulmasına kısmen yardımcı olur (19,20). Kırığın düzgün bir şekilde iyileşmesi için oldukça önemli olan bu hematoma içerisinde birçok faktör ihtiva edeceğinden dolayı açık kırıklarda kırık hematoma dışarı boşalmasıyla kırık iyileşmesi gecikir veya hiç olmaz.

İlk 24 saat içinde kırık bölgesinde mast hücrelerinden kaynaklanan histaminin neden olduğu vazodilasyon ve bunun sonunca doku permabilitesinin artışıyla ilerleyen kan akımında artış meydana gelir. Serbestleşen doku faktörleriyle birlikte pıhtılaşma mekanizmasında aktive olarak kanamayı durdurur. Kırık bölgesinde oluşan ödem ve iskemi beslenmeyi bozarak kırık bölgesinde bir miktar nekroza yol açar,böylece iyileşme için gereken kalsiyumda açığa çıkmış olur ayrıca kırık uçlarındaki nekroza karşı bunun çevresinde inflamatuvar tepki gelişir böylece kırık uçları rezorbe olurlar (21).

Fibrin pıhtısının oluşmasıyla onarım fazı için gereken hücrelerin tutunmasını kolaylaştıracak bir ağ teşekkül eder. Akut dönemdeki bu gelişmeler sayesinde bölgeye hızlıca kemik yapıcı hücre proliferasyonu başlar (22,23). Akut inflamatuvar hücrelerden özellikle polimorf lökositler kırık yerindeki ödemli bölgeye yayılırlar bu nedenle bu döneme inflamatuvar dönem denilmiştir. Bu hücreler ayrıca bir takım sitokinleri de serbest bırakarak anjiyogenezi uyarır. İnflamatuvar dönem temelde günlerce devam eden bir süreçtir, ve belkide kırık iyileşmesinin temelini oluşturur. Bu sürede hematoma organize olur fagositler ve lizozomal mekanizmalar ile nekrotik dokular debride edilir (24).



Şekil 2 : İnflamasyon evresi: Travma sonrası kemik ve çevresindeki kan damarlarının zedelenmesi sonucu hematoma oluşur. Kırık kenarlarındaki kemik ölür. Lökositler, makrofajlar, mast hücreleri sayesinde ölü kemik uzaklaştırılır. (The Netter Collection of Medical Illustrations, 1999)

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

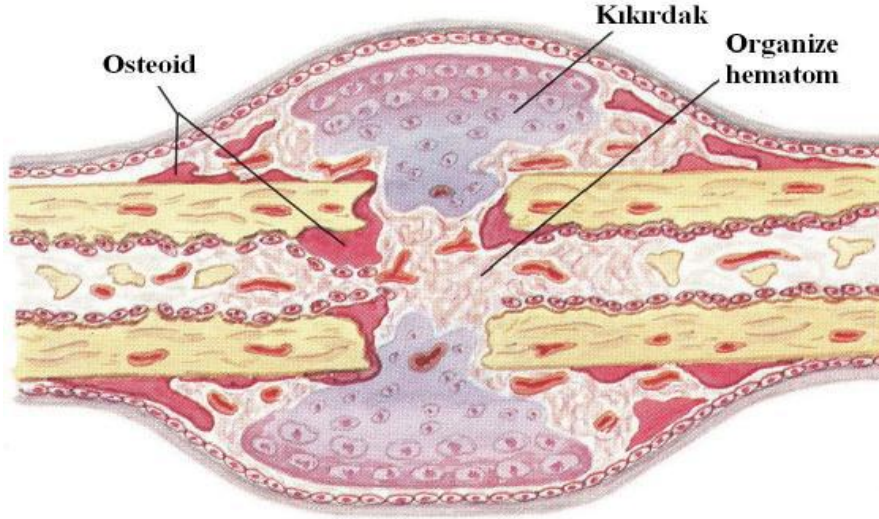
Kırık uçları arasında gelişen hematoma ilk saatlerden itibaren 48 saat içerisinde organize olmasıyla başlar. İnflamasyon döneminde oluşan fibrin yapı hücrelerin onarım fazını gerçekleştirebilmesi için oldukça önemlidir.

Bu evrede; mezenşimal pluripotent hücreler, periosteumun iç tabakasındaki osteoprogenitör hücreler ve endosteumdaki osteoblastlar önemli rol oynarlar. Mezenşimal hücreler çoğalıp farklılaşarak fibröz doku, kıkırdak ve birincil kemikten oluşan kemik (sert) veya fibrokartilaj (yumuşak) kallusu oluşturur. Onarım dokusu genellikle 7-12 gün içerisinde şekillenirken, hayvan deneylerinde bu sürenin 2-7 gün kadar olduğu gösterilmiştir. Onarım olayında yer alan hücreler çok yönlü ve değişim gücü olan hücrelerdir. Mezankimal hücreler çoğalıp farklılaşarak fibröz doku, kıkırdak ve birincil kemikten ibaret olan kırık kallusunu oluşturur ve bu da kırık uçlarını çevreleyip sabitler (20).

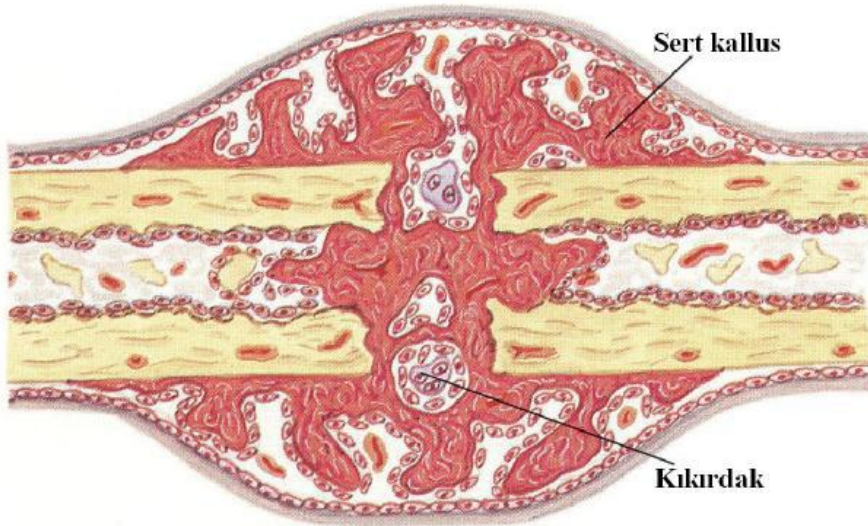
Yumuşak kallusun büyüklüğü fibroz kıkırdak ve kemik elementlerine yansıyan etkilerle ilgilidir. Kırık uçlarında ne kadar hareket olursa o kadar geniş kallus olur. Sert kallusun gelişimi için ise osteoid mineralizasyonu gerekir. Başlangıçta, kırık periferinde intramembranöz olarak şekillenen kallus sert kallustur. Yumuşak kallus ise oksijen basıncının düşük olduğu santral bölgelerde meydana gelir. Yumuşak kallus içindeki kıkırdak dokular da zamanla endokondral ossifikasyon yoluyla kemikleşir ve kırık uçlarının stabilitesi artar (20,25).

Kırık bölgesine ulaşan mediatörlerle birlikte damarlanmanın artması, inflamasyon bölgesine daha fazla hücre göçünü tetikler, böylece osteoblastların da etkinliği artmış olur.

Kallus birtakım hücresel aktiviteler sonucunda mineralize olur. Hücreler önce yüksek konsantrasyonda Tip I kollajen fibrilleri içeren matriksi sentezler ve sonrasında hidroksiapatit kristallerinin depolanması için uygun ortam hazırlarlar. Mineralizasyonla beraber, oluşan internal ve eksternal kallusun etkisiyle kırık fragmanlarının stabilitesi giderek artar ve kaynama gerçekleşir ancak kaynama henüz bitmiş değildir. Onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz kısımlarının rezorpsiyonu ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodelizasyon) başlar (20,25).



Şekil 3: Yumuşak kallus oluşma evresi: Pıhtı; kollajen lifleri ve damarsal elemanlarca organize edilir. Yeni damarlar oluşur. Osteoprogenitör hücreler preosteositler ve periost kaynaklı osteoblastlar ile endosteum gelişir. Mezenkimal orjinli osteoblastlar ve kondroblastlar da pıhtıda görülmeye başlar. Yumuşak kallusu osteoid, kıkırdak ve kollajen karışımı oluşturur. (The Netter Collection of Medical Illustrations, 1999)



Şekil 4 . Sert kallus oluşma evresi: Eksternal, periostal ve medüller yumuşak kallus, sert kallusa dönüşürken mineralize olur. (The Netter Collection of Medical Illustrations, 1999)

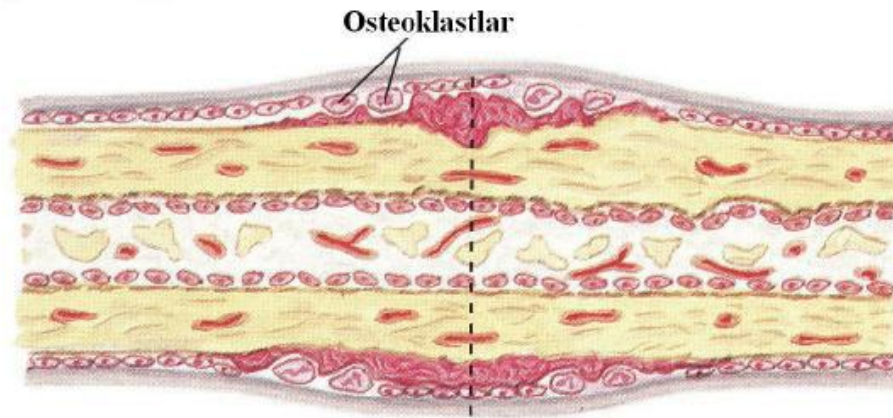
3- Yeniden yapılanma (Remodelizasyon) evresi (25-100 gün):

Kırık iyileşmesinin en uzun evresidir. Bu evre düzensiz ve sert kallusun normal veya normale yakın güçteki kemiğe dönüşümü olarak özetlenebilir. Kırık çevresinde oluşan fazlalıklar rezorbe olur, medüller kanal tekrar açılır. Bir taraftan osteoklastlar çalışırken diğer yandan da osteoblastlar yeni kemik yaparlar.

Kemiğin remodelizasyonunda kabul gören üç temel teori vardır.

İlk olarak 1892’ de Wolff kendi adıyla anılan bir kanunla remodelizasyonu tanımlamıştır. Buna göre; mekanik yüklenmenin artırılması kemik kütlesinde artışa neden olurken; yükün ortadan kaldırılması belirgin kemik yıkımına neden olur. Bu süreç boyunca onarım evresinde oluşan birincil kemik lameller kemikle yer değiştirir (17).

İkincisi; kemiğin elektrik yüklere göre yeniden şekillenmesi esasına dayanan Piezoelektrik Yükler Teorisi’dir. Bu teoriye göre, kemiğin kompresyon yüzü elektronegatif olup osteoblastları yani kemik yapımını uyarırken; gerilme yüzü elektropozitif olup osteoklastları yani kemik yıkımını uyarır. Üçüncü teori ise; yeniden şekillenmeyi sistemik hormonlar ve lokal sitokinler tarafından düzenlenen temel çok hücreli birimlere dayandıran Hueter-Volkmann Kanunu’dur (17) .



Şekil 5: Yeniden yapılanma evresi: Osteoklastik ve osteoblastik aktivite sert kallusu lamellar kemiğe dönüştürür. Normal kemik sınırları belirir, hatta angulasyonun kısmi veya tam olarak düzeldiği görülür. (The Netter Collection of Medical Illustrations, 1999)

2.5.2. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Lokal ve genel etkenler olarak ya da kırık iyileşmesini olumlu veya olumsuz etkileyen etkenler olarak incelenebilirler.

1) Lokal faktörler:

1. Kırık uçların birbirinden uzaklaşması

İnkomplet veya kompresyon yöntemleriyle rijid fıkse edilmiş kırıklarda fragmanlar arasında primer kemik iyileşmesi çok iyi olur. Fragmanlar birbirinden ne kadar ayrılırlarsa arada gelişecek büyük hematoma içine göç eden hücre farklılaşmaları o kadar az ve zayıf olur (10).

a) Kırık uçların ayrılması:

Fragmanların yana kaymalarına displasman, kas kontraksiyonu ve bağların çekmesi nedeniyle uçların birbiri üzerine kaymasına overriding, uçların ters yönde birinden uzaklaşmasına distraksiyon denilir. Bu üç durumda da fragmanlar birbirinden uzaklaşmış olur.

b) İnterpozisyon:

Kırık uçlar arasına kas, fasya, tendon benzeri yumuşak dokuların girmesi halidir. Böylelikle kırık hattında hematoma ve kallus gelişimi engellenir.

2. Travmanın şiddeti:

Kırığın tek, parçalı veya segmenter oluşu ve beraberindeki yumuşak dokunun yaralanması kırığın beslenmesini etkilemektedir (10,28).

3. Kırık yerinin dolaşımı:

Kan akımının bozulması kırık iyileşmesini etkileyen en önemli nedenlerdendir. Bölgeye hücre göçünün olabilmesi yeterli kanlanma olduğu sürece mümkündür (17). Bir kemik fragmanın kaybı sonucu kanlanma bozulabildiği gibi, besleyici damarların kırık ile birlikte zarar görmesi de kan akımının bozulmasına yol açabilir (21).

Kırılan kemiğin damarlanmasının bozulması sonucu kırık kaynamasının önemli derecede etkilendiği bazı bölgeler vardır. Özellikle femur boynu, tibia orta ve alt 1/3 birleşme yeri, humerus, radius ve ulna orta 1/3, scaphoid ve talus örnek olarak verilebilir.

Femur baş ve boynu daha çok arka kapsüldeki arterlerden beslendiğinden femur boyun kırıkları ve travmatik kalça çıkıklarında avasküler nekroz ve kaynamama sıklıkla görülmektedir. Talus boyun kırıklarında tibia önünden gelen arterler talus arkasına geçemez ve böylelikle kırık fragmanın nekrozu veya kaynama gecikmesi meydana gelir.

4. Kırık karakteri:

Kırık uçlarının birbirine yakınlığı kırık iyileşmesine olumlu yönde etki eder. Transvers kırıklar daha zor kaynarken ayrılmamış spiral oblik kırıklar daha çabuk kaynarlar. Bunun nedeni spiral oblik kırıklarda temas yüzeyi daha fazla olduğundan damarlanmada fazla olacaktır. Kelebek fragmanı içeren parçalı kırıklarda yalnız periosteal damarlar kalmış, besleyici damarlar hasarlandığından kanlanma kesintiye uğrar ve kaynama gecikir (10).

Kırılan kemiğin yapısı da kaynamanın seyrini etkilemektedir. Örneğin spongioz (kansellöz) yapıdaki kemik kırıkları çabuk kaynar, aradaki defekt hemen dolar , damarlanma hızla geliştiği için yeni kemik dokusu çabuk gelişir. Kortikal yapısı zengin olan kemiklerde kırık uçlar ancak yeterli kompresyon sayesinde sıkı temas varlığında kaynama imkanı bulur. Ancak tespitin yetersiz, temasın az olduğu durumlarda eksternal kallusla uzun sürede iyileşme sağlanır (13).

Cilt, mukoza ve yumuşak dokunun zedelendiği açık kırık durumlarında hem kırık hematomunun dışarıya çıkması hemde dışardan gelen yabancı cisim ve mikroorganizmalar sayesinde kırık iyileşmesi olumsuz yönde etkilenir (10,28).

5. Kusurlu tedavi:

Kırıklardaki genel tedavi ilkeleri, iyi bir redüksiyon ve sonrasında kırık yerinin güvenli tespiti yani hareketsizliği ile sağlanmaktadır. Tedavide esas amaç anatomik ve fonksiyonel onarımı gerçekleştirmektir. Bu tedavi yöntemini bozan her türlü kusurlu tedavi kırık iyileşmesini bozar (1,10,13,28).

a) *Yetersiz redüksiyon:*

Kırık uçları arasındaki boşluğun fazla olması büyük kırık hematomu ve kallus köprüsüne neden olur ki bu da kaynamanın uzamasına yol açar.

b) *Tekrarlayan manipulasyon ve redüksiyonlar:*

Değişik aralarla yapılan redüksiyon denemelerinin her tekrarlanışında yeni bir kanama ve aşırı bir kallus gelişimi ile birlikte kaynamanın bozulmasına yol açar.

c) *Kusurlu tespit:*

Kapalı yöntemlerle tedavi edilen kırıklarda kırık bölgenin distali ve proksimal eklemleri içine alacak tespit yapmak genel kuraldır. Bu kurala uyulmazsa kırık bölgesi hareket eder ve kırık hattında oluşan damarlar parçalanır veya tıkanır sonuç olarak kemik onarımı gerçekleşmez.

d) *Tespit süresi:*

Kısa sürede tespit yapılması durumunda kuvvetli internal kallus yerine zayıf eksternal kallus oluşur. Ortalama kaynama süresinden önce kırık kemiğe hareket verilmesi henüz sağlam olmayan onarım bölgesinde yeni kanamalar oluşmasına ve fibröz dokuda parçalanma ve kırık uçların arasında hareketli bir aralık (yalancı eklem) oluşmasına neden olmaktadır.

e) *Cerrahi redüksiyon:*

Redüksiyon sırasında yumuşak dokular ve periost kesileceğinden kemiğe ulaşan arterler sıyrılır ve kopar bunun kaçınılmaz sonucu tabi ki yetersiz kanlanma demektir. Fazlaca internal tespit materyali kullanımı da kaynamayı olumsuz yönde etkiler. Aynı zamanda cerrahi yapılarak kapalı olan kırık açık kırık halini almış ve enfeksiyona açık hale gelmiş olacağı unutulmamalıdır.

6. Enfeksiyon

Kırık yerinde enfeksiyon gelişmesi veya enfeksiyon olan yerde kırık oluşması kaynamayı zorlaştırır. Enfeksiyon bir yandan oluşan granülasyon ve kemik dokuyu bozarken diğer yandan fibröz doku ve nedbe dokusu geliştirerek kırık iyileşmesini bozar (28).

7. Lokal patolojik koşullar:

Dejeneratif, metabolik veya tümöral nedenler ile azalan kemik direncinin küçük bir travma ile kırılması halidir. Patolojik kırık denilen bu durumun tedavisinde öncelikle mevcut durum düzeltilmelidir. Radyoterapi yapılmış kemiklerde kırılabilirlik artar iyileşme görülmeyebilir. Kemikleşme için gerekli olan kapiller oluşamaz (6).

II) Genel faktörler:

1. Yaş: Artan yaşla orantılı olarak mezankimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmesi yavaşlar (10,28).

2. Genel durum: Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi kronik hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller (13).

3. Hormonlar: Parathormon (PTH), kalsiyum ve fosfat metabolizmasında önemli bir düzenleyicidir. PTH, kemik mineral dansitesini artırır, kırık riskini azaltır ve kırık iyileşmesini artırır (30). Kalsitonin ve insülin de kırık iyileşmesini artırır (6,20,21,28). Kalsitonin, PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hemde trabeküler kemik yapısını artırır. Büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Tiroid hormonu da PTH gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder (28). Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Kortizon, aynı zamanda kallus oluşumunu azaltır. FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (6).

4. Vitaminler: A vitamini normal dozda mezankimal hücre farklılaşmasını uyarak kırık iyileşmesine olumlu yönde etkiler. Eksikliğinde osteoblast ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir (21). A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırıkta aşınma meydana gelir. Osteoklastlara

dönüşüm fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir. C Vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler (21). D Vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D Vitamini eksikliğinde Ca^{+2} düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu azalır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Sonuç olarak; D Vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etkiler (29). B6 Vitamini eksikliği ve K Vitamini antagonistleri (warfarin) kırık iyileşmesine olumsuz yönde etki ederler (29).

5. İlaçlar: Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir. İndometazin yüksek dozlarda kırık iyileşmesini durdurduğu gösterilmiştir (28,29).

6. Hiperbarik oksijen: Günde iki saat kadar 2-3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulamasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (29).

7. Kırık bölgesi egzersiz ve stresleri: İyi redüksiyon yapıldıktan sonra sıkı bir tespit uygulanan kırıklara erken hareket ve kontrollü yük verilirse kemik gelişimi uyarılarak iyi sonuç alınmaktadır (6,10,21).

8. Elektriksel uyarı ve ultrason: Gecikmiş kaynama ve kaynamama tedavisinde elektromanyetik uyarı 1970'li yılların başından beri kullanılmakta ve %64 ile %85 arasında değişen başarı oranları bildirilmektedir, ancak hala taze kırıkların tedavisinde etkili olduğu ispatlanamamıştır (30).

2.5.3. Kırık İyileşmesinin Kontrolü

Kırık olduğu anda ortamdaki osteoblast ve osteoklast yoğunluğu iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. İyileşmenin olması için gerekli olan kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ile yerel aracılı mekanizmalar tarafından sağlanır. Kırık sahasında bölgesel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, kemik dengesini koruyabilen kenetleyici faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir (17,20,26).

Prostaglandinler (PG): Hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. İnflamatuar hücrelere kemotaktik etkiye sahiptirler ve akut inflamasyonun önemli araçlarındandır. Güçlü vazodilatatördürler ve hücre çoğalmasını uyarırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler. Hücre içine ve dışına Ca^{+2} hareketini kolaylaştırırlar. PGE_2 ve PGI_2 'nin kemik geri emilim gücü fazladır. PGE_1 ve PGE_2 yeni kemik yapımını artırır. $PGF_{2\alpha}$, kondrogenesis ve kondroliziste etkilidir. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; EGF, TGF_{α} , PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE_2 aracılığıyla göstermektedir (20).

Kemik uyarıcı faktörler: Farklılaşmamış mezankimal hücrelerin mitozunu desteklerler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar. Bu faktörlerin başlıcaları şunlardır (20,21) :

a. Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta ($TGF-\beta$): İnflamasyon ve doku tamirinden sorumludur. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir. $TGF-\beta$ kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve encondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır.

b. Kemik Morfojenik Proteini (BMP): Yaralanan kemik kaynaklı morfogenetik proteindir. Mitojenik ve dönüştürücü bir faktördür. Mezankimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür. BMP'nin 1-10 arası on altı grubu vardır. BMP-7 osteojenik protein 1, BMP-8 ise osteojenik protein 2 olarak bilinir.

c. Fibroblast Kaynaklı Büyüme Faktörü (FGF): Kırıkta ve fibroblastlar için mitojeniktir. Kırıkta oluşumu aşamasında kallusu genişletir (31).

d. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF): Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezankimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır.

e. İnterlökkinler (IL): Makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE-2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler.

f. Plazma Fibronektini: Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

g. Somatomedin C: İskelet sistemi üzerinde büyüme hormonuna benzer etkisi vardır. Kondroblastların bölünme ve farklılaşmalarını, ayrıca kemik matriksi oluşumunu hızlandırır.

h. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF): Kemik geri emilimini hızlandırır.

i. Kondroblast Kökenli Büyüme Faktörü (CDGF): İki tipi vardır ve Tip II kollajen ve hiyaluronik asit için düzenleyicidir.

j. Makrofaj Kaynaklı Büyüme Faktörü (MDGF): Sıçanlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir.

k. Epidermal Hücre Kaynaklı Büyüme Faktörü (ECGF): Kıkırdak ve kemik için mitojeniktir.

l. Endotelial Hücre Kaynaklı Büyüme Faktörleri (ECDGF): Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

2.6. TEOFİLİN

Kokusuz, acı beyaz toz şeklinde bir madde olan teofilin ilk olarak 1888 yılında Alman biyolog Albrecht Kossel tarafından *çay yapraklarından* izole edilmiştir (5). Klinikte ilk kullanımı 1907’ de diürez etkisinden dolayı kardiyak ve renal kaynaklı ödemin çözülmesi amacıyla olurken, 1970’ lerde bronkodilatör etkisi ile ilgili araştırmalar yapılmıştır (32).

Metilksantin türevi olan teofilin, etkili ve ucuz olmasının yanında diğer bronkodilatörlere göre uzun süre kullanma sonucu tolerans gelişmemesi nedeniyle astım ve KOAH tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır (4).

Teofilinin bronş düz kaslarında gevşemeye yol açmasının mekanizması tam olarak açık değildir. Tedavi edici dozlarda ise mast hücreleri, bazofil, lökositler, eozinofiller gibi diğer iltihap hücrelerinin sentez ve salıverilmesini önleyerek güçlü bir antiinflamatuvar madde görevi görür (33).

Teofilin temel olarak hücre içinde görevli olan *fosfodiesteraz(FDE)* enzimini hedef alarak bu enzimi inhibe eder. FDE enzimi birçok çeşidi bulunan bir süper enzim ailesidir. Teofilin bronş düz kaslarında baskın olan FDE3 ve FDE4 ve proinflamatuvar hücrelerde baskın olan FDE4 ve FDE6 yı inhibe eder. Böylelikle bronş düz kaslarında gevşeme ve inflamatuvar hücre konsantrasyonunda azalma olur (4).

Başka bir mekanizma ile teofilin bronş düz kaslarında ve proinflamatuvar hücrelerde *adenozin reseptörlerini* kompetitif şekilde antagonize eder. Adenozin dokularda oluşan lokal bir hormon ve pürinerjik sinir uçlarından salınan bir nöromediatördür. Akciğerde bronkokonstrüksiyon yaparken iltihap hücrelerinden mediatörlerin salınmasını sağlar. İltihap hücrelerinin membranlarında bulunan adenozin A2B reseptörlerini teofilin güçlü bir şekilde antagonize eder (4).

- -Teofilinin etkileri kısaca şu şekilde sıralanabilir (33):
- -Nonselektif fosfodiesteraz enzim inhibisyonu
- -Adenozin reseptör antagonizması(A1, A2A, A2B, P2Y15)
 - ✓ -İnterlökin-10 salınımında artış
 - ✓ -Katekolamin (epinefrin) salınımı stimülasyonu
 - ✓ -Mediatör inhibisyonu (prostoglandinler, tümör nekroz edici faktör a)
 - ✓ -Hücre içi kalsiyum salınımının azaltması
 - ✓ -Baskılanmış apoptozun indüklenmesi
 - ✓ -Histon deasetilaz aktivitesinin arttırılması (kortikosteroidlerinin etkisinin artması)

Teofilinin solunum sistemi hastalıkları dışında diğer kullanım alanlarına bakacak olursak; düz kaslarında gevşemeye neden olması ile oddi sfinkteri spazmına karşı kullanılabilir. Teofilin santral sinir sistemini stimüle eder; ancak bu etkisi kafeine göre zayıftır. Teofilin obstrüktif uyku apnesi tedavisinde kullanılır, apne sayısı azalır ancak uykuyu bozar. Teofilin kalpte pozitif inotrop ve pozitif kronotrop etkilidir, zayıf diüretik etkisi vardır. Kafein kadar olmasa da mide asit salgısını artırabilir.

Teofilin ağız yoluyla ve çözelti şeklinde alındığında biyoyararlanımı tama yakındır. Kronik astım ve akut astım atağında kullanılan bir ilaç olan teofilinin terapötik aralığının dar olması toksisite gelişmesine zemin hazırlamaktadır. En sık görülen yan etkisi bulantı ve kusmadır. Toksisite durumunda bunlara ek olarak konvülziyon, epilepsi benzeri nöbetler kardiyak aritmi ve sonunda ölüm görülebilir (33).

Teofilinin tüm bu özellikleri ile daha önce kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ne yönde olduğu ile ilgili kontrollü deneysel bir çalışma yapılmamış olması, bizi bu çalışmayı yapmaya sevk etmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. ÇALIŞMA PLANI

Bu deneysel çalışmada , ortalama ağırlıkları 232 gr (194-255 gr) olan, 20 haftalık Spraque Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Çalışma öncesinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındı. Çalışma, Mayıs 2013 ve Ağustos 2013 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı ile Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

Bu çalışmada toplam 42 adet sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılan sıçanlar rastgele 2 gruba ayrıldı, Teofilin verilen grup T, verilmeyen grup K olarak isimlendirildi. Daha sonra T grubuna TEOFİLİN 40mg/kg orogastrik yolla günde 1 kez verildi, diğer K grubuna ise verilmeyerek kontrol grubu olması sağlandı. Kırık iyileşmesinin zamansal sürecini incelemek için her grup kendi içinde 7. gün, 21. gün ve 35. gün olmak üzere 3 ayrı alt grup oluşturuldu (T1,T2,T3 ve K1,K2,K3) ve bu alt gruplarda 7 şer adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusu uygulanarak 20-24°C’de tek tek olacak şekilde kafeslere yerleştirildi. Sıçanlar, istedikleri kadar standart sıçan yemi ve su ile beslendi. Operasyon öncesi veya sonrasında antibiotik profilaksisi yapılmadı. T1 grubuna 7 gün, T2 grubuna 21 gün ve T3 grubuna 35 gün boyunca teofilin verildikten sonra sağ femurları kalçadan dezartiküle edildi. Kontrol grubundaki sıçanların da kırık uygulanan femurlarına aynı günlerde kalçadan dezartikülasyon yapıldı.

Tablo 1: Deney grupları ve sayıları

Deney ve kontrol bulgular	Grup başına hayvan adedi
T 1	7
T 2	7
T 3	7
K 1	7
K 2	7
K 3	7
Kullanılan toplam hayvan sayısı	42 rat

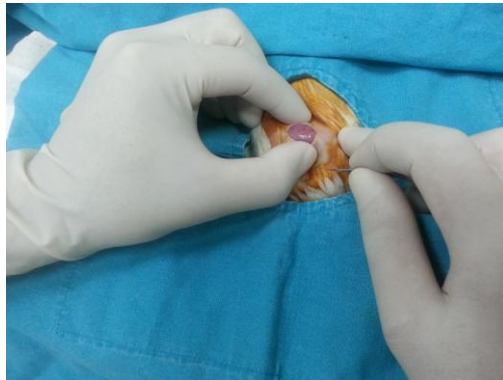
3.2. CERRAHİ TEKNİK

Cerrahi öncesinde sıçanlar 4 saat aç bırakıldı. Anestezi için; intraperitoneal olarak 5 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Gerekli durumlarda ameliyat esnasında ilave doz olarak 15 mg/kg ketamin hidroklorid yapıldı. Cerrahi alan traş edildi. Sağ uyluk cildi ameliyat öncesi %10'luk povidone iodine (Batticon; Adeka, Samsun, Türkiye) solüsyonu ile temizlendi ve uygun örtünme sağlanarak steril alan oluşturuldu (Şekil 6).



Şekil 6. Sıçanın uyluğunun ameliyat için hazırlanması.

Sağ uyluk cildi lateralinden longitudinal insizyonla yaklaşık 2 cm. kadar açıldı (şekil 7) . Fasia geçildi ve adeleye ulaşıldı. Adele femurun tam ortasına denk gelecek şekilde bir ekartör yardımı ile kemikten sıyrıldı (Şekil 8).



Şekil 7: Femur lateralinden yapılan cilt insizyonu.



Şekil 8 . Ektasyon sonrasında femurun görüntüsü.

Femura ulaşıldıktan sonra kemik bir kirschner ile zayıflatıldıktan sonra nazik bir manipülasyon ile femur transvers olarak kırıldı(34). (Şekil 9).



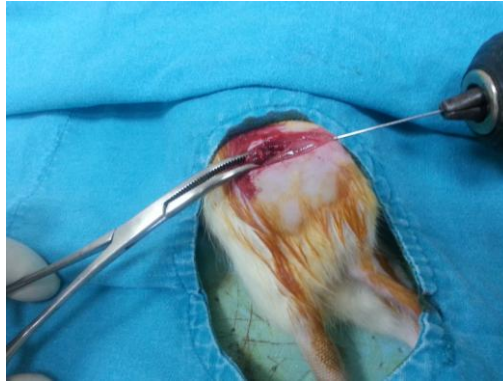
Şekil 9. Femur cisminde transvers kırık oluşturulması.

Kırık hattından distale doğru anterograd olarak 0,8 mm'lik Kirschner teli (Hipokrat®, İzmir, Türkiye) pilli matkap kullanılarak diz hiperfleksiyondayken ilerletildi ve patellar ligamentin medialinden çıkması sağlandı (Cilt esnek olduğu için dizin görülmesinde sorun yaşanmadı) (Şekil 10).



Şekil 10 . Kirschner telinin intramedüller olarak diz bölgesinden dışarı çıkarılması.

Tel distale doğru çekildi ve kırık hattı redükte edildikten sonra retrograd olarak proksimale doğru ilerletildi (Şekil 11).



Şekil 11 . Kırık hattının redükte edilerek telin ilerletilmesi.

Sertleştiği yerde yaklaşık 2-3 mm ilerletilip tekrar 2-3 mm geri çekildi ve tel makasıyla diz bölgesinden kesildi.

Cilt 3/0 ipek (Sterisilk[®], Türkiye) ile kapatıldı. Takiben yara yeri povidon iyodür ile silinerek sıçan ameliyat masasından alındı (Şekil 12).



Şekil 12. Uyluğun cilt kapatıldıktan sonraki görüntüsü.

Operasyon sonrası sıçanlar normal beslenme ve yaşam koşullarına bırakıldı. İki gruba da postoperatif analjezi uygulanmadı, Teofilin grubuna operasyon gününden itibaren orogastrik yolla teofilin 40 mg/kg günde bir kez aynı saatlerde olmak üzere uygulandı. T1 grubuna 7 gün, T2 grubuna 21 gün, T3 grubundakilere ise 35 gün süre ile verildi. Operasyon öncesi veya sonrasında antibiotik profilaksisi yapılmadı. Yara yeri kapanana kadar gün aşırı pansumanlarla izlenen sıçanların takiplerde yara yeri enfeksiyonu gözlenmedi.

7. günde T 1 ve K 1 grubundaki, 21. günde T 2 ve K 2 grubundaki, 35.günde ise T 3 ve K 3 grubundaki sıçanlar anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon ile öldürüldü. Sıçanların sağ femurlarına kalçadan ve dizden dezartikülasyon uygulandı. Röntgen grafileri çekildikten sonra, yumuşak dokuları kal dokusuna zarar vermeden dikkatli bir şekilde diseke edildikten sonra, örnekler histolojik değerlendirme için hazırlanmak üzere % 10'luk formaldehitin içine koyuldu.

3.3. RADYOLOJİK İNCELEME

Sıçanlar öldürüldükten sonra kalça ve diz eklemlerinden dezartiküle edilen sağ femurlar yumuşak dokularından sıyrıldıktan sonra röntgen kasetlerine yerleştirilerek 2 yönlü direkt radyografileri alındı. Radyografiler Lane–Sandhu radyolojik puanlama sistemine göre skorlandı (Tablo 2) (35). Skorelama, çalışmadan bağımsız iki ayrı ortopedist tarafından yapıldı.

Tablo 2: Lane-Sandhu puanlama sistemi (35)

	Puan
Kemik oluşumu	
Kemik oluşumunun olmaması	0
Kemik oluşumunun defektin %25'ni doldurması	1
Kemik oluşumunun defektin % 50'ni doldurması	2
Kemik oluşumunun defektin % 75'ni doldurması	3
Kemik oluşumunun defektin tamamını doldurması	4
Kaynama	
Bariz kırık görülmesi	0
Kısmi kırık görülmesi	2
Kırık hattının görülmemesi	4
Yeniden yapılanma	
Yeniden yapılanmanın görülmemesi	0
Medüller kanalın yeniden yapılanması	2
Korteksin tamamen yeniden yapılanması	4

3.4. HİSTOLOJİK İNCELEME

Alınan örnekler kırık hattına zarar verilmeyecek şekilde diseke edilerek, yumuşak dokular kemiklerden ayrıldı. Kalan kemik kısımları ayrı ayrı %10'luk nötral formaldehid solüsyonu içeren numaralandırılmış kaplara konuldu. Kanlanan solüsyon tekrar %10'luk nötral formaldehid solüsyonu ile değiştirildi. Dokular 48 saat süreyle bu solüsyon içinde fikse edildi (36).

Fiksasyonu tamamlanan dokuların dekalsifikasyonu için %10'luk formaldehit solüsyonu kullanıldı. Dekalsifikasyon işlemi süresince solüsyon iki günde bir değiştirildi (37). Kesilebilecek duruma gelen kemikler kırık hattı görünecek şekilde her iki uçtan kısaltıldı. Yirmi gün oda sıcaklığında bu şekilde dekalsifiye edilen dokular, akarsuda yıkandıktan sonra, dehidratasyon için dereceli alkol serilerinden geçirildi ve ksilen ile şeffaflaştırılmanın ardından parafine gömüldü (38).

Hazırlanan parafin bloklar tam otomatik mikrotom (Leica RM2255, Germany) ile 5 µm (mikrometre) kalınlığında kesildi. Numaralandırılmış lamalar üzerine alındı. Etüvde 50°C'de 30 dakika bekletilip parafini eritildikten sonra ksilen ve alkol serilerinden geçirildi ve Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı.

Preparatlar ışık mikroskop (Olympus BX51-Japan) altında grupları bilmeyen bu konuda deneyimli bir histolog tarafından değerlendirildi. Gruplara ait preparatlar ışık mikroskobu altında dijital kamera (Olympus DP71-Japan) ile fotoğraflandı. Preparatların histolojik değerlendirilmesinde Huo ve arkadaşlarının histolojik puanlama sistemi kullanıldı (Tablo 3) (39).

Tablo 3: Huo histolojik puanlama sistemi (39)

Kırık bölgesi bulguları	Puan
Fibröz doku	1
Ağırlıklı fibröz doku ve az miktarda kıkırdak doku	2
Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak doku	3
Ağırlıklı kıkırdak doku ve az miktarda fibröz doku	4
Kıkırdak doku	5
Ağırlıklı kıkırdak doku ve az miktarda olgunlaşmamış kemik doku	6
Eşit miktarda kıkırdak ve olgunlaşmamış kemik doku	7
Ağırlıklı olgunlaşmamış kemik ve az miktarda kıkırdak doku	8
Kırıgın olgunlaşmamış kemikle kaynaması	9
Kırık uçlarının olgun kemikle kaynaması	10

3.5. İSTATİSTİKSEL İNCELEME

Radyolojik olarak elde edilen tüm değerlerin (kemik oluşumu, kaynama, yeniden yapılanma ve toplam değerler) ve histolojik değerlendirme sonuçlarının, yedinci, yirmibirinci ve otuzbeşinci günlerdeki T grubu ile K grubunun karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı.

Veriler ortanca değerler (minimum-maksimum) olarak sunuldu. Sonuçlarda anlamlılık, $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK BULGULAR

Anestezi ve ilaç verilmesine ait herhangi bir komplikasyon gözlenmedi. Ameliyat sonrasında 4-5 gün süre ile sıçanlarda topallama gözlemlendi. Bu süreden sonra sıçanlar sağ alt ekstremitelerini normale yakın bir şekilde kullanmaya başladılar. Cerrahi bölgesinde herhangi bir enfeksiyon bulgusuna rastlanmazken sadece bir sıçanın yara yerinde açılma saptandı gün aşırı yara pansumanı ile yaranın kapandığı görüldü. Çalışma süresince hiçbir sıçan ölmedi.

4.2. RADYOLOJİK BULGULAR

İki farklı ortopedist gruplardan habersiz olarak, radyografileri Lane-Sandhu puanlama sistemine (35) göre aşağıdaki çizelgelerde belirtildiği gibi puanladılar.

Tablo 4 : T 1 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları (7. Gün deney grubu)

Hayvan	Kemik Oluşumu		Kaynama		Yeniden Yapılanma		Toplam	
	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort
1	1	1	0	2	0	0	1	3
2	1	1	2	2	0	0	3	3
3	2	2	2	2	0	0	4	4
4	0	2	0	0	0	0	0	2
5	1	2	0	0	0	0	1	2
6	0	1	0	0	0	0	0	1
7	2	2	2	2	0	0	4	4
Toplam/ortalama(1.Ortopedist)							12/ 1,71	
Toplam/ortalama(2.Ortopedist)							19/ 2,71	

Tablo 5: T 2 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları (21. Gün deney grubu)

Hayvan	Kemik Oluşumu		Kaynama		Yeniden Yapılanma		Toplam	
	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort
1	3	0	2	0	2	0	7	0
2	3	1	2	2	2	0	7	3
3	3	0	2	0	2	0	7	0
4	2	2	2	2	2	0	6	4
5	2	2	2	2	0	0	4	4
6	3	2	2	2	2	0	7	4
7	3	2	2	2	2	0	7	4
Toplam/ortalama(1.Ortopedist)							45/6,42	
Toplam/ortalama(2.Ortopedist)							19/2,71	

Tablo 6 : T 3 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları (35. Gün deney grubu)

Hayvan	Kemik Oluşumu		Kaynama		Yeniden Yapılanma		Toplam	
	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort
1	3	2	2	2	2	0	7	4
2	3	3	2	2	4	2	9	7
3	4	3	2	2	4	0	10	5
4	3	3	2	4	2	0	7	7
5	2	3	2	4	2	0	6	7
6	2	2	2	0	0	0	4	2
7	3	2	2	2	4	2	9	6
Toplam/ortalama(1.Ortopedist)							52/7,42	
Toplam/ortalama(2.Ortopedist)							38/5,42	

Tablo 7: K 1 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları (7. Gün kontrol grubu)

Hayvan	Kemik Oluşumu		Kaynama		Yeniden Yapılanma		Toplam	
	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort
1	1	2	2	2	0	0	3	4
2	1	1	2	0	0	0	3	1
3	0	2	0	0	0	0	0	2
4	0	2	0	0	0	0	0	2
5	0	2	0	0	0	0	0	2
6	0	3	0	4	0	0	0	7
7	1	2	2	2	0	0	3	4
Toplam/ortalama(1.Ortopedist)							9/ 1,28	
Toplam/ortalama(2.Ortopedist)							22/ 3,14	

Tablo 8: K 2 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1.ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları (21. Gün kontrol grubu)

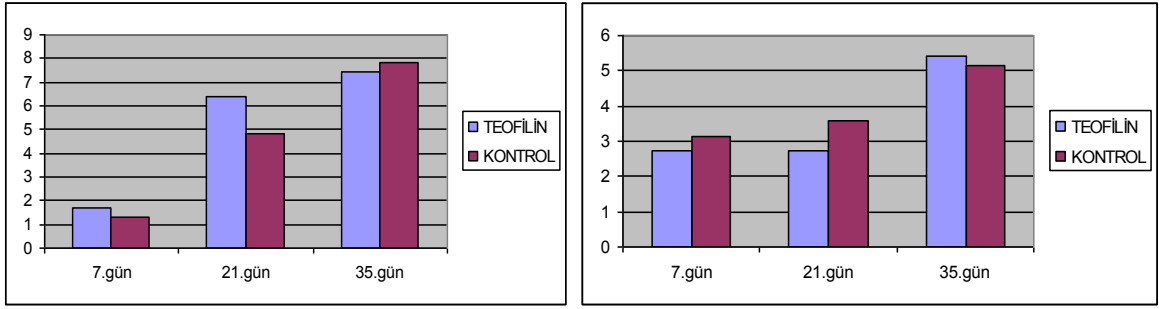
Hayvan	Kemik Oluşumu		Kaynama		Yeniden Yapılanma		Toplam	
	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort
1	3	2	2	4	2	0	7	6
2	2	0	2	2	0	0	4	2
3	2	1	2	2	2	0	6	3
4	1	1	0	0	0	0	1	1
5	2	2	2	2	0	0	4	4
6	2	1	2	4	2	0	6	5
7	2	2	2	2	2	0	6	4
Toplam/ortalama(1.Ortopedist)							34/ 4,85	
Toplam/ortalama(2.Ortopedist)							25/ 3,57	

Tablo 9: K 3 grubundaki sıçanlara ait femur radyografilerinin 1. ve 2. ortopediste ait değerlendirme sonuçları (35. Gün kontrol grubu)

Hayvan	Kemik Oluşumu		Kaynama		Yeniden Yapılanma		Toplam	
	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort	1.ort	2.ort
1	4	4	2	2	4	2	10	8
2	3	3	2	4	2	0	7	7
3	3	1	2	2	2	0	7	3
4	3	2	2	2	4	2	9	6
5	2	2	0	0	2	0	4	2
6	4	2	4	4	4	0	12	6
7	2	2	2	2	2	0	6	4
Toplam/ortalama(1.Ortopedist)							55/7,85	
Toplam/ortalama(2.Ortopedist)							36/5,14	

Tablo 10: İki ayrı ortopedist tarafından değerlendirilen radyolojik bulguların toplam ve dağılımını göstermekte

GRUPLAR	1. ortopedist	2.ortopedist
T1	12/ 1,71	19/ 2,71
T2	45/ 6,42	19/ 2,71
T3	52/ 7,42	38/ 5,42
K1	9/ 1,28	22/ 3,14
K2	34/ 4,85	25/ 3,57
K3	55/ 7,85	36/ 5,14



1. ORTOPEDİST

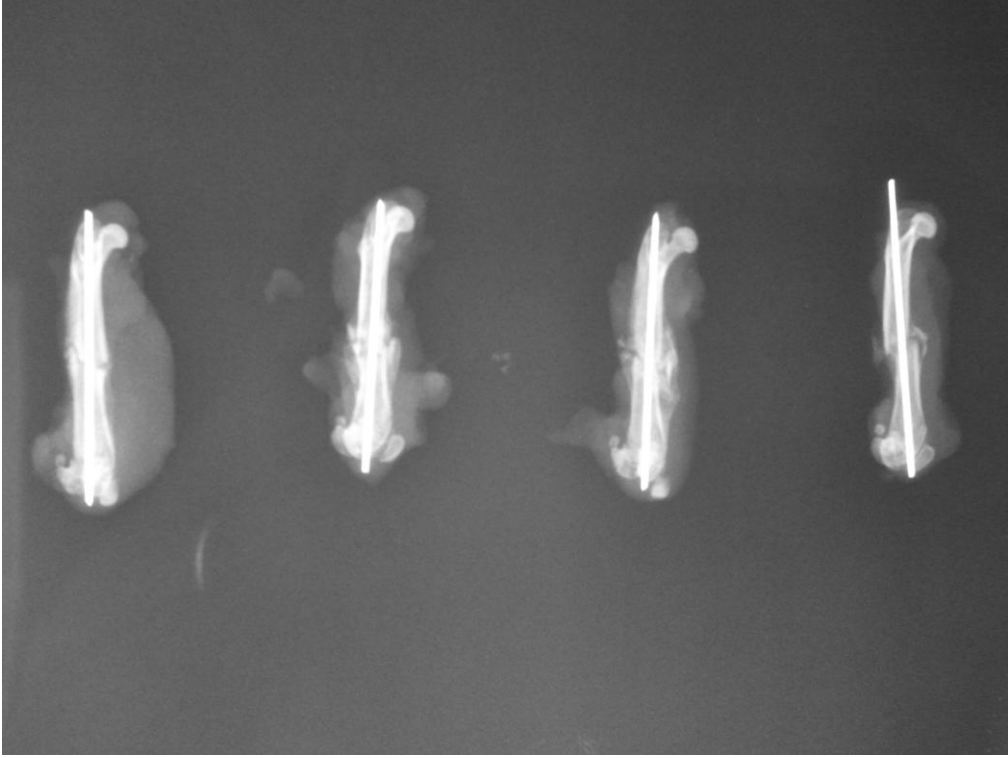
2. ORTOPEDİST

Şekil 13: 1. ve 2. ortopedist tarafından yapılan radyolojik değerlendirme grafik olarak gösterilmiş. İki ortopedist arasında sayısal olarak fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,005$).

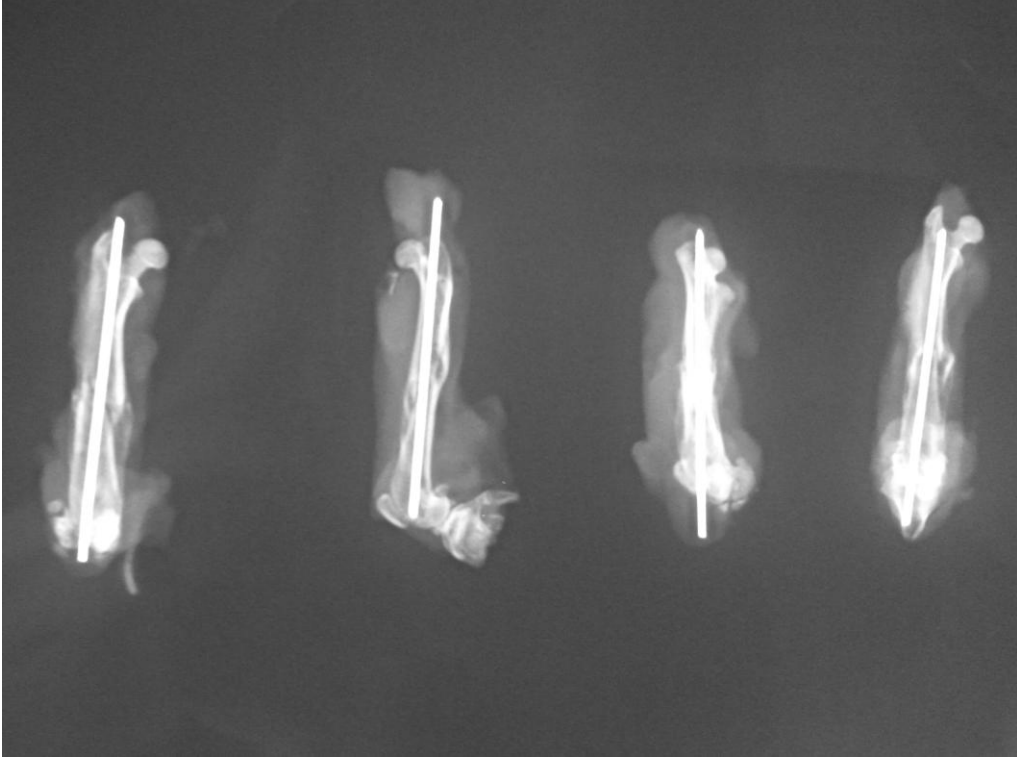
Teofilin ve kontrol grubunun 7, 21 ve 35. günlere ait radyografi örnekleri aşağıda gösterilmiştir.



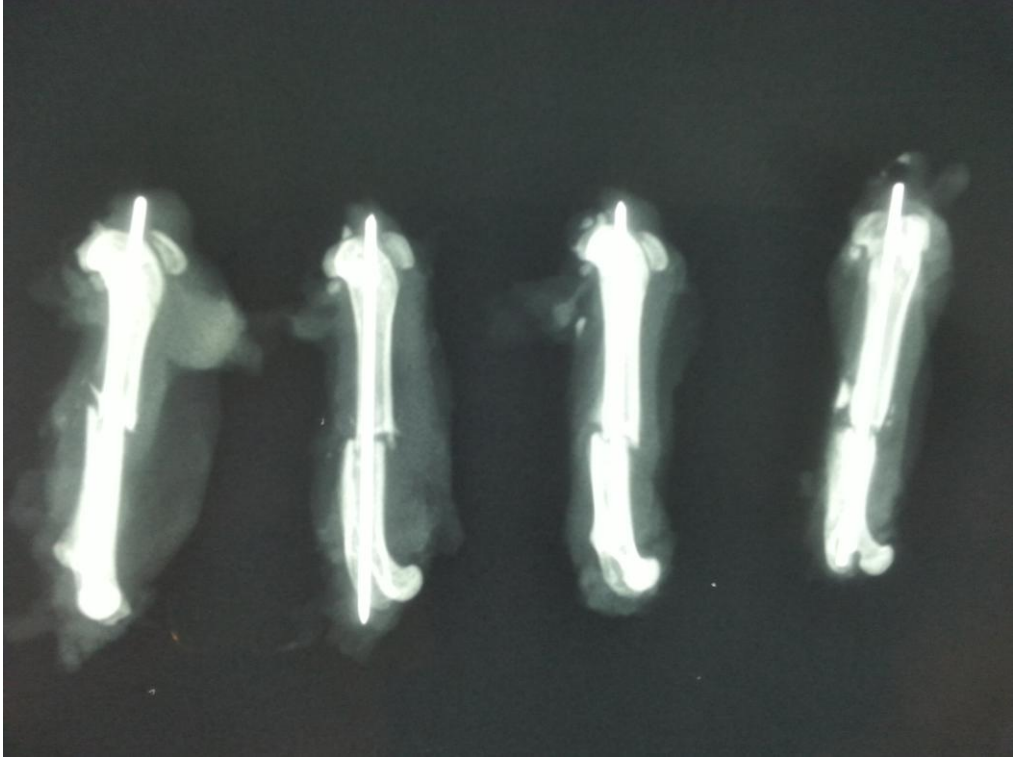
Şekil 14 . T 1 grubunun Yedinci güne ait radyografilerinden örnekler.



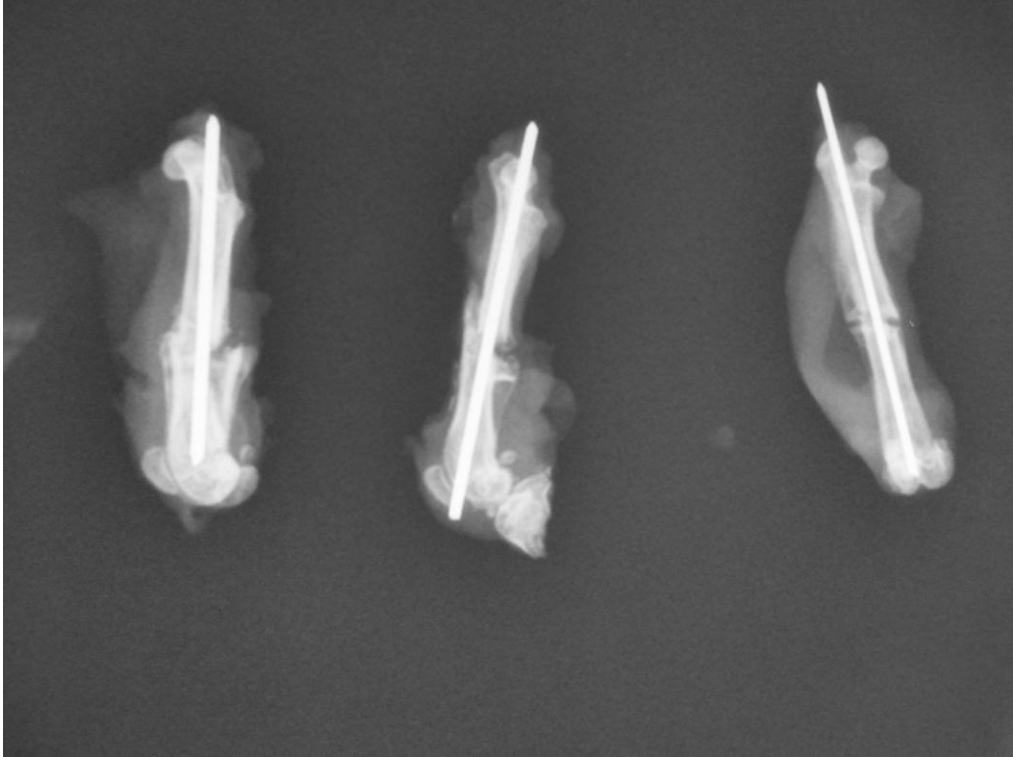
Şekil 15 . T 2 grubunun yirmibirinci güne ait radyograflerinden örnekler.



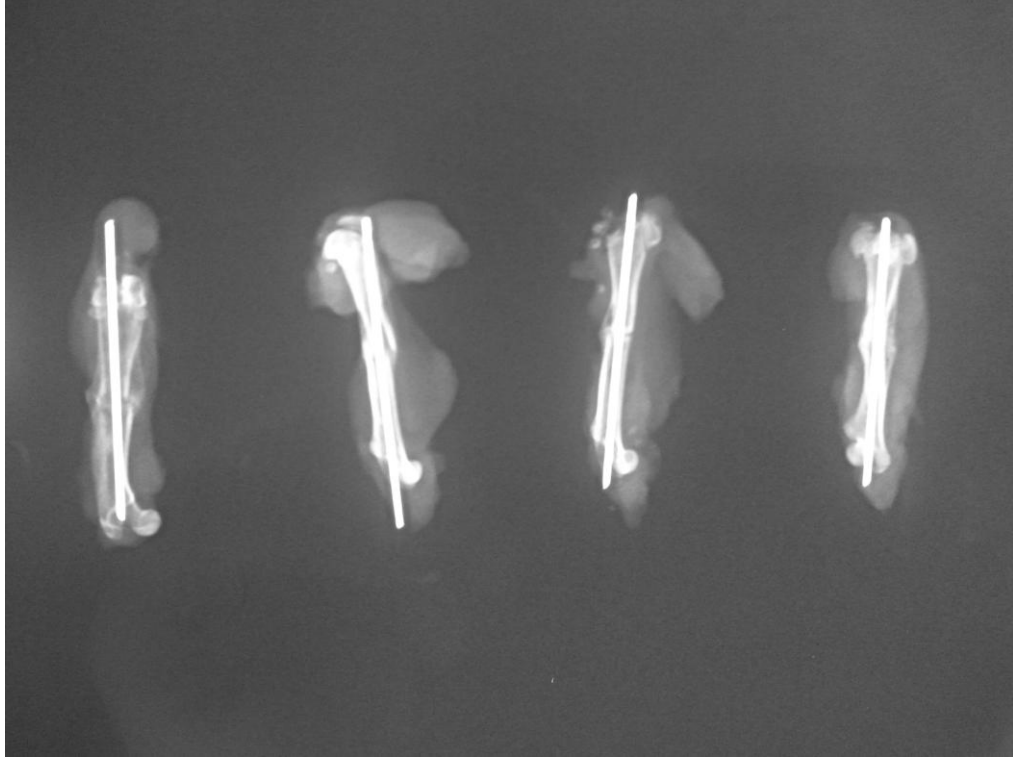
Şekil 16. T 3 grubunun otuzbeşinci güne ait radyograflerinden örnekler.



Şekil 17. K 1 grubunun yedinci güne ait radyografilerinden örnekler.



Şekil 18. K 2 grubunun yirmibirinci güne ait radyografilerinden örnekler.



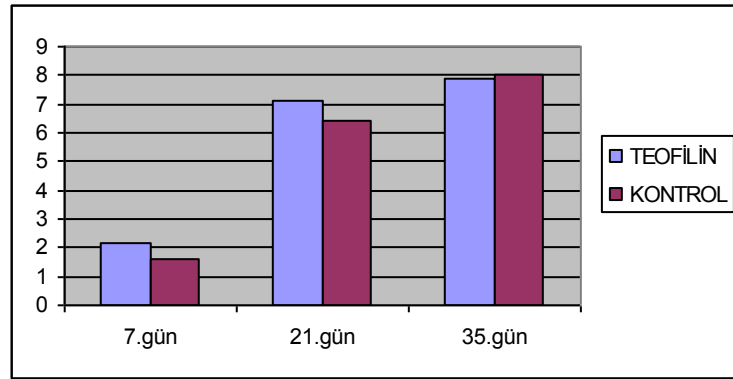
Şekil 19. K 3 grubunun otuzbeşinci güne ait radyografilerinden örnekler.

4.3. HİSTOLOJİK BULGULAR

Preparatlar gruplardan habersiz ve bu konuda deneyimli bir histolog tarafından değerlendirildi. Preparatların histolojik değerlendirilmesinde Huo ve arkadaşlarının histolojik puanlama sistemi kullanıldı (39) (Tablo 11).

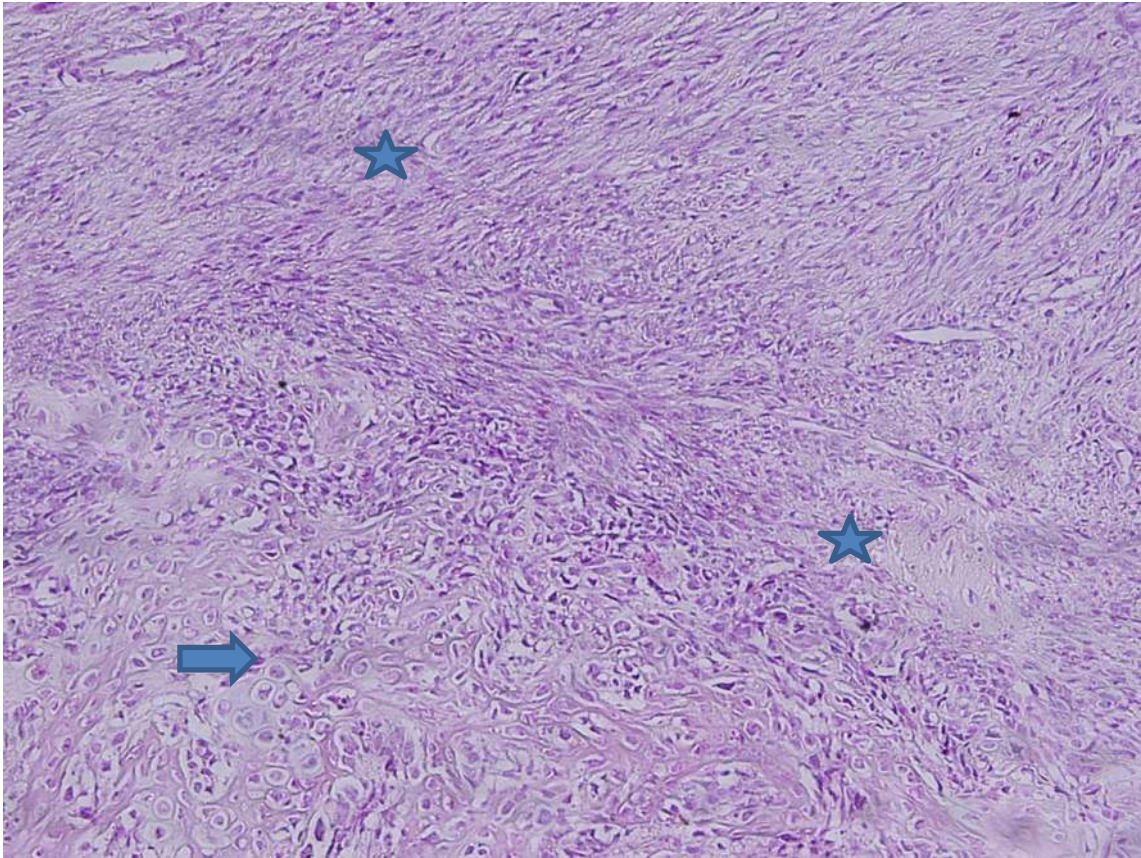
Tablo 11: Sıçanların sağ femurlarının histolojik olarak puanlama sonuçları

Hayvan	T1	T2	T3	K1	K2	K3
1	2	7	8	2	5	9
2	2	9	8	2	4	9
3	3	8	9	1	8	6
4	2	8	8	1	7	8
5	2	6	8	2	5	8
6	2	6	8	2	8	8
7	2	6	6	1	8	8
Toplam	15	50	55	11	45	56

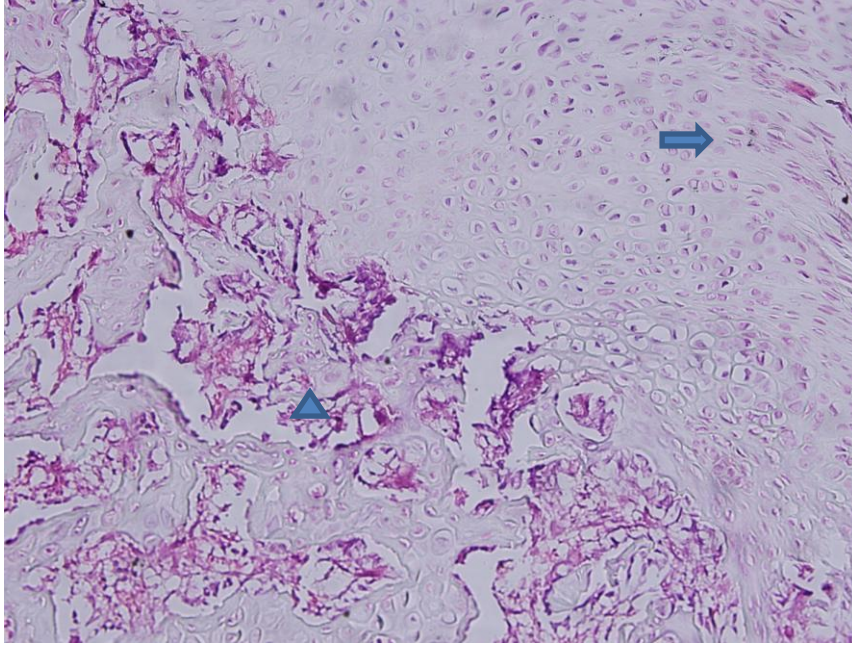


Şekil 20: Yapılan histolojik değerlendirme grafik olarak gösterilmiş.

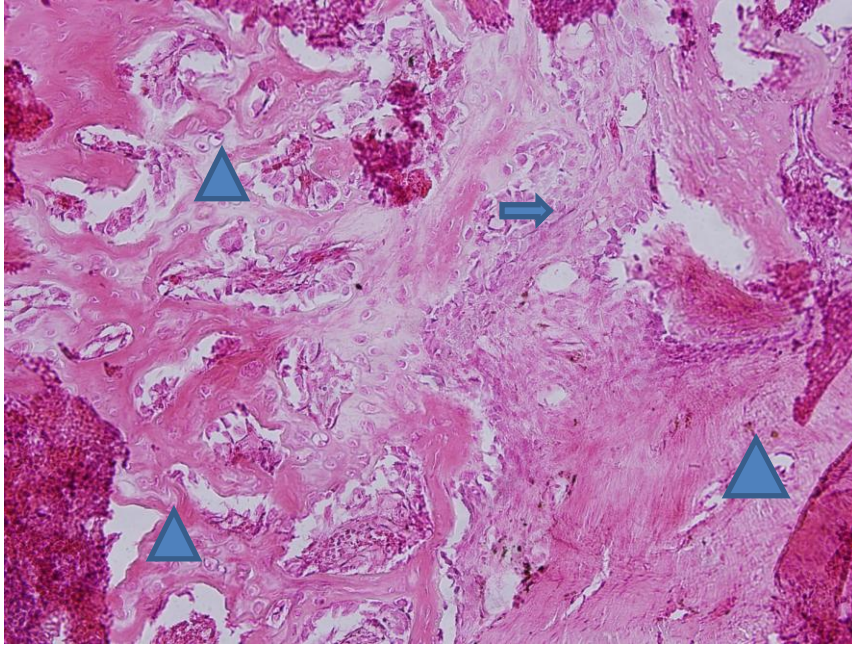
Histolojik değerlendirmede kullanılan preparatlardan örnekler aşağıda gösterilmiştir.



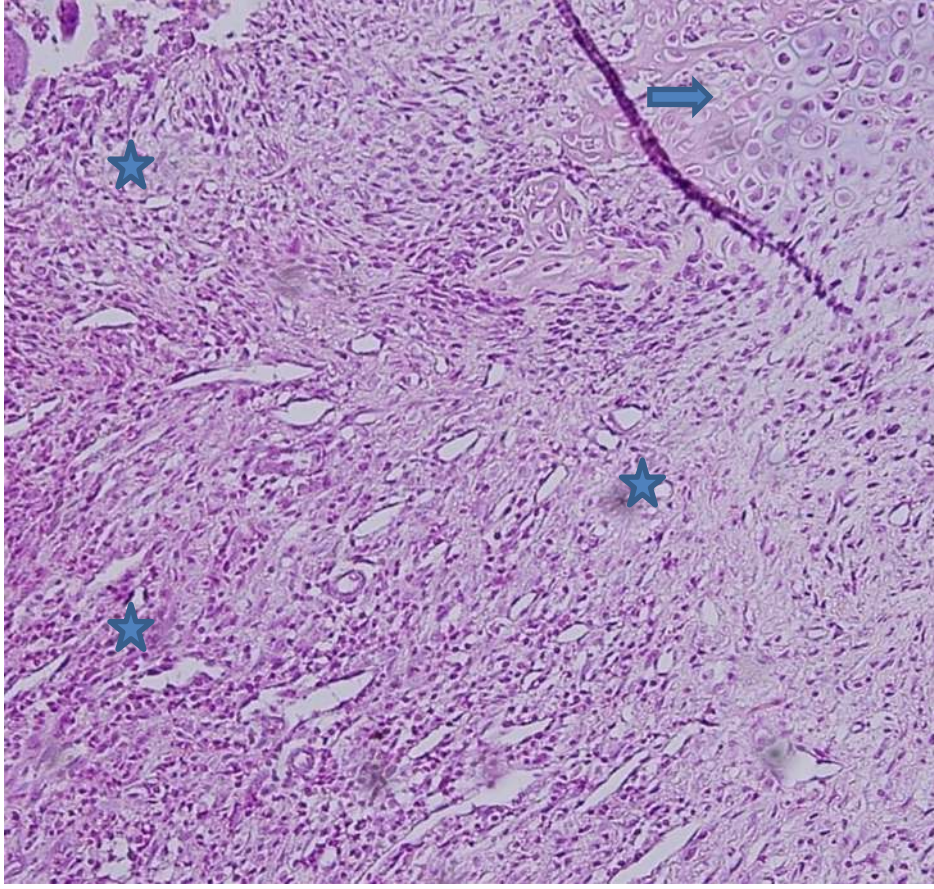
Şekil 21: Teofilin grubunun 7. gündeki görüntüsünde yaygın fibröz doku yıldız işaretiyle, yer yer kıkırdak doku ok işaretiyle gösterildi(H&E X20).



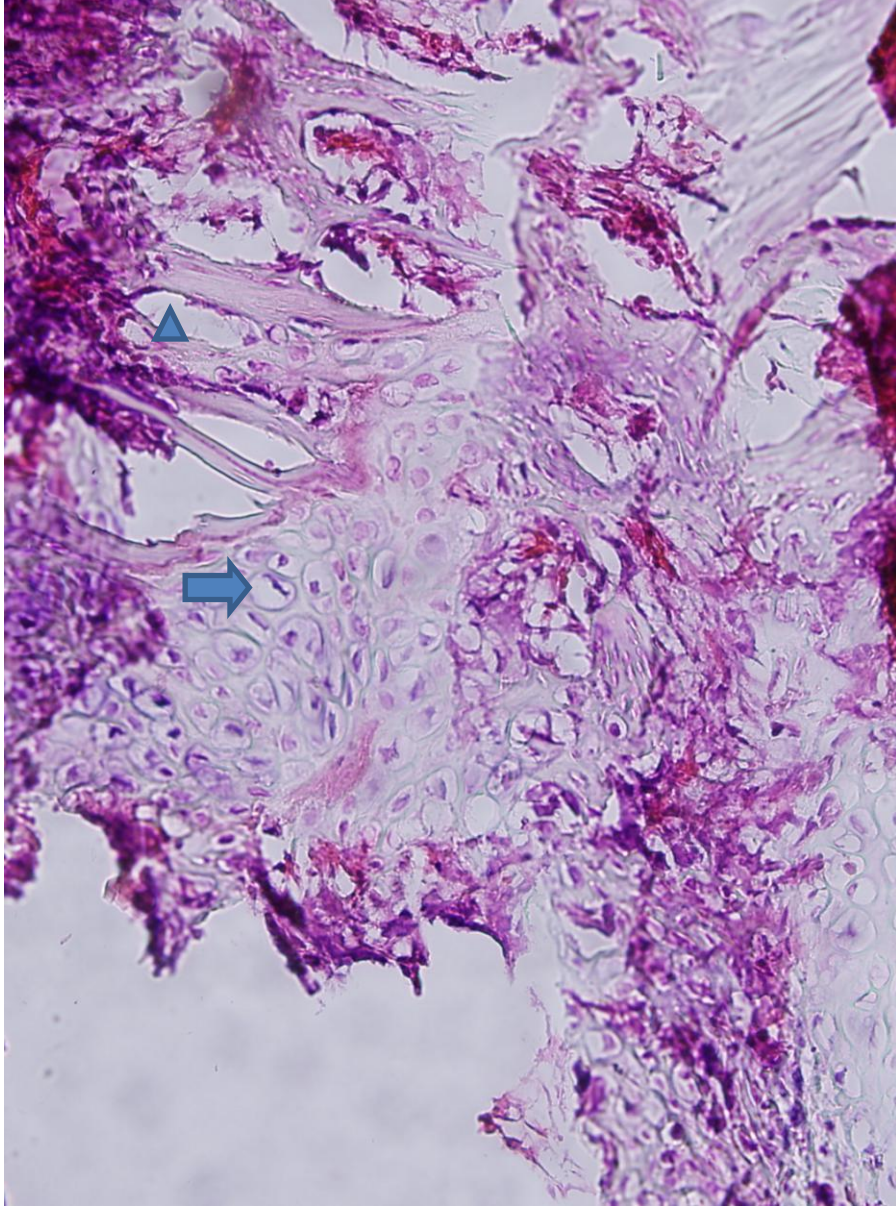
Şekil 22: Teofilin grubunun 21. gündeki görüntüsünde kıkırdak doku ok işaretiyle, olgunlaşmamış kemik üçgen sembolüyle gösterildi (H&E X20).



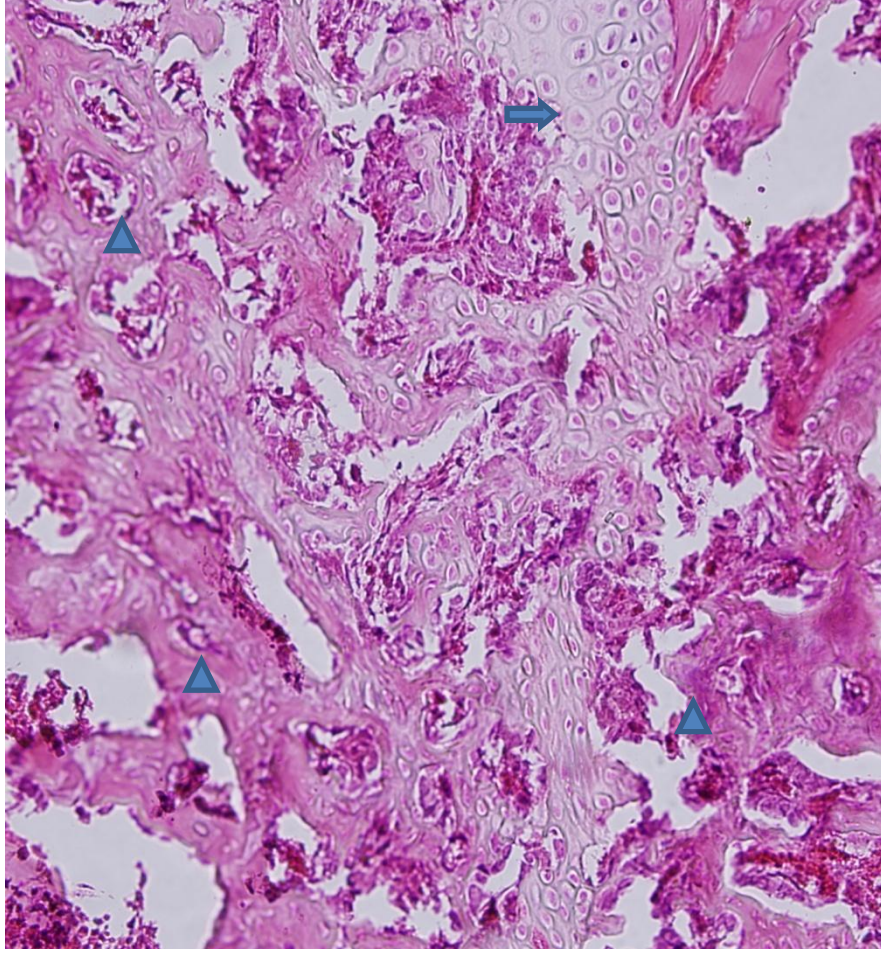
Şekil 23: Teofilin grubunun 35. gündeki görüntüsünde yaygın olgunlaşmamış kemik dokusu üçgen sembolüyle, yer yer kıkırdak dokusu ok işaretiyle gösterildi (H&E X20).



Şekil 24: Kontrol grubunun 7. gündeki boyama görüntüsünde yaygın fibröz doku yıldız sembolüyle, yer yer kıkırdak doku ok işaretiyle gösterildi(H&E X 20).



Şekil 25: Kontrol grubunun 21. gündeki boyama görüntüsünde yaygın kıkırdak dokusu ok işaretiyle, yer yer olgunlaşmamış kemik dokusu üçgen sembolüyle gösterildi(H&E X 20).



Şekil 26: Kontrol grubunun 35. gündeki boyama görüntüsünde yaygın olgunlaşmamış kemik dokusu üçgen, yer yer kıkırdak doku ok işaretiyle gösterildi(H&E X 20).

4.4. İSTATİKSEL BULGULAR

Yapılan istatistiksel değerlendirmede kontrol grubu ve Teofilin grubu hem kendi içlerinde ve hem de birbirleri ile karşılıklı olarak incelendi. Karşılaştırmada Mann-Whitney U testi. Lane-Sandhu sistemine göre yapılan değerlendirme sonucunda elde edilen veriler aşağıda gösterilmektedir (Tablo 12,13,14):

Tablo 12: Radyolojik olarak kemik oluşumu bakımından elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı

	7. gün	21. gün	35. gün	p
1. Ortopedist				
T	1(0-2)	3(2-3)	3(2-4)	0,002**
K	0(0-1)	2(1-3)	3(2-4)	0,001**
P	0,164	0,032*	0,728	
2. Ortopedist				
T	2(1-2)	2(0-2)	3(2-3)	0,011**
K	0(0-4)	2(0-4)	2(0-4)	0,080
P	0,174	0,890	0,363	

*: Teofilin ve Kontrol grupları arasında 21. Günde 1. Ortopedistin değerlerine göre kemik oluşumu bakımından Mann-Whitney U testi ile istatistiksel anlamlılık bulundu ($p=0,032$).

Tablo 13: Radyolojik olarak kaynama bakımından elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı

	7. gün	21. gün	35. gün	p
1. Ortopedist				
T	0(0-2)	2(2-2)	2(2-2)	0,009**
K	0(0-2)	2(0-2)	2(0-4)	0,117
P	1,000	0,317	1,000	
2. Ortopedist				
T	2(0-2)	2(0-2)	2(0-4)	0,214
K	0(0-4)	2(0-4)	2(0-4)	0,239
P	0,830	0,202	1,000	

Tablo 14: Radyolojik olarak yeniden yapılanma bakımından elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı

	7. gün	21. gün	35. gün	p
1. Ortopedist				
T	0(0-0)	2(0-2)	2(0-4)	0,002**
K	0(0-3)	2(0-2)	2(2-4)	0,069
P	0,060	0,254		
2. Ortopedist				
T	0(0-0)	0(0-0)	0(0-2)	0,122
K	0(0-0)	0(0-0)	0(0-2)	0,122
P	1,000	1,000	1,000	

**Grupların kendi içlerinde Kruskal Wallis Varyans Analizi sonucunda elde edilen radyolojik değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu($p<0,002$), hem 1. ortopedist hemde 2. ortopedistin radyolojik verileri ışığında kırığın radyolojik olarak iyileşme sürecinin aksamadan sürdüğünü göstermektedir.

Grupların karşılıklı kıyaslamalarında ise 1. Ortopedistin verileri ışığında 21. günde T grubu ile K grubu arasında T grubu lehine istatistiksel anlamlılık bulundu ($p<0,032$).

Histolojik bulgular incelendiğinde; Teofilin ve kontrol gruplarının kendi içinde Kruskall Wallis Varyans Analizi kullanılarak yapılan karşılaştırmalarında, yedinci, yirmibirinci ve otuzbeşinci günler arasında kırık kaynaması açısından anlamlı düzeyde bir artış saptandı($p<0,001$) . Bu da bize histolojik olarak kırık iyileşmesinin, hem kontrol hem de Teofilin grupları için, zaman içerisinde aksamaya uğramadan devam ettiğini göstermektedir.

Histolojik veriler ışığında T ve K gruplarının karşılıklı kıyaslanmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Buna göre T 1 ve K 1 gruplarının (yedinci gün) karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,044$). T 2 ve K 2 gruplarının (yirmibirinci gün) karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,430$). Yine T 3 ve K 3 gruplarının (otuzbeşinci gün) karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,404$).

Tablo 15 : Huo histolojik puanlama sistemine göre elde edilen istatistiksel verilerin dağılımı

	7. gün	21. gün	35. gün	p
T	2(2-3)	7(6-9)	9(6-9)	0,001*
K	2(1-2)	7(4-8)	8(6-9)	0,001*
P	0,044*	0,430	0,404	

Yukarıda bahsedilen bulgular ışığında radyolojik olarak Teofilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine istatistiksel olarak 21. günde anlamlı bir etkisi olduğu saptanmıştır. Histolojik bulgulara göre ise 21. ve 35.gün sonuçlarında Teofilin grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak 7. günde Teofilin kullanımının kırık iyileşmesini anlamlı derecede arttırdığı gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Kırık iyileşmesinde bilinen ve bilinmeyen birçok mediatör rol almaktadır. Birtakım ilaçlar olumlu yönde etkilerken, bazıları da olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Böylelikle kırık iyileşmesinin erken ve yeterli olabilmesi değiştirilebilir etkenleri akla getirmektedir.

Bu çalışmada elde edilecek muhtemel olumlu sonuçlar daha başka deneysel ve klinik çalışmalarla da destek bulursa, kırık iyileşmesini hızlandırması ile tedavi maliyetlerini düşürmesi, erken işe dönüşün sağlanması, dolayısıyla toplam iş gücü kaybının azaltılması açısından dikkate değer olabilecektir. Kırık kaynamasının olumsuz etkilenmesi halinde ise, teofilin ve türevi ilaçların en azından kırık olgularında kullanımının sınırlandırılması veya belli dozların altına çekilebilmesi açısından önem taşıyacaktır.

Kırık iyileşmesi hücrelerin, büyüme faktörlerinin birbirleriyle işbirliğini kapsayan, iskelet büyüme ve gelişmesini özetleyen bir süreçtir (15,40). Hücresel düzeyde, inflamatuvar hücreler, vasküler hücreler, osteokondral progenitör hücreler ve osteoklastlar onarım sürecinde önemli rol oynarlar. Moleküler düzeyde ise, proinflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, proosteojenik faktörler ve anjiogenik faktörler kırık onarımında önemli rol oynarlar (41).

Kırık iyileşmesi kırığın olduğu anda başlar ve kırık uçları tamamen bütünleşinceye kadar devam eder. Kırık iyileşmesi inflamasyonla başlayan üç aşamalı bir süreç olup inflamasyonu takiben onarım ve remodeling evreleri ile tamamlanır (2,42,43).

Osteoblastlar kırık hattının proksimal ve distal tarafındaki periostal kenarlardan intramembranöz ossifikasyonu başlatırken, aynı zamanda yumuşak kallusu oluşturacak kırıkta depolanmasını ise, kırık bölgesindeki kondroblastlar başlatır. Daha sonra yumuşak kallus kondrositlerin hipertrofiye olmaları ve apoptozise gitmeleriyle endokondral ossifikasyonu oluşturur (40).

Bugüne kadar kırık iyileşmesini etkileyen bir çok ilacın etkisi incelenmiş ve halen bu konu güncelliğini korumaktadır. Özellikle kırıkla birlikte ağrının kontrol edilmesinin

gerekliliği net olarak bilinmektedir. Bununla beraber travmanın sadece iskelet sistemini değil, diğer sistemleride etkilemesiyle beraber hastalarda kullanılan ilaçların kırık iyileşmesini etkilemesi kaçınılmaz sonuçlar doğurmaktadır.

Kronik inflamatuvar hastalığı olan kırık olgularında kullanılan antienflamatuvar ilaçların kırık iyileşmesine hangi düzeyde etki edeceği halen tartışma konusudur. Nonsteroid Anti inflamatuvar ilaçlar (NSAİ) ortopedi ve travmatoloji hastalarında analjezik ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır. Bu ilaçlar etkilerini prostoglandin sentezini inhibe ederek ve vücudun immun-inflamatuvar cevabını azaltarak gösterirler(44,45,46,47,48). Bu ilaçların olumlu etkilerinin yanında kemik metabolizması üzerine olan olumsuz etkilerini gösteren deneysel ve klinik çalışmalar mevcuttur (43,44,45,49,50).

Özellikle ibuprofen ve indometazin'in kaynama dokusu oluşumunda yavaşlamaya neden olduğu deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (44,46,48,49).

NSAİ ilaçlar osteojenik aktiviteyi ve kırık iyileşmesini olumsuz etkilerler. Buna nasıl sebep oldukları tam aydınlatılamamış olsa da osteoblastik aktiviteyi azalttıkları düşünülmektedir. Özellikle cerrahi sonrası ağrı kesici olarak 4 haftayı geçen kullanımlarında, kaynamama oranında artış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (45). Bir başka çalışmada NSAİ'lerin geç dönemde kullanılması sonrası (60 ve 90. günler) geç kaynama veya kaynamama ile ilgili bulgulara ulaşılmıştır (51).

İmmün sistem hastalıklarında sıklıkla uzun süre kullanılan steroidlerin kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği bilinmekle beraber yapılan deneysel bir çalışmada ise kısa süreli sistemik steroid kullanımının kırık iyileşmesi üzerine belirli bir etkisi saptanmamıştır (52).

Kırık iyileşmesi üzerine yapılan deneysel çalışmalarda oluşturulan kırık modeli oldukça önemlidir(42,53,54). Kırık modeli; temelde kapalı ve açık olmak üzere 2 yolla gerçekleştirilebilir. Birincisi; kapalı basit kırık, ikincisi; açık osteotomi şeklinde oluşturulan kırık, ayrıca kaynamama modeli ve segmental kırık modelleride kullanılabilir. Kapalı kırık modeli, literatürde birçok çalışmada kullanılmış olmasına rağmen; açık osteotomi ile oluşturulan kırık modelinde kaynamanın geç olması ve kaynamamaya

yatkınlık oluşturması nedeniyle, kullanılacak tedavi yönteminin etkinliğini göstermede daha başarılı olabileceği belirtilmiştir (54). Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmada cerrahi diseksiyon sonrası açık osteotomi ile kırık oluşturduk.

Ortopedik cerrahinin en önemli sorunlarından biri de enfeksiyonlardır. Özellikle açık kırıklar sonrası ortaya çıkan enfeksiyon, hem kırık iyileşmesini engellemekte hem de sistemik sorunlara yol açabilmektedir. Bu tür yaralanmalarda antibiyotik kullanmak gerekebilir. Kapalı kırıkların cerrahi tedavisi esnasında da enfeksiyonu önlemek için antibiyotik profilaksisi yapılmaktadır. Ancak bu antibiyotiklerin de kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri söz konusudur. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada kırık sonrası uygulanan Sefazolin ve Siprofloksasin'in kırık iyileşmesi üzerine olan etkileri radyolojik, histolojik ve biyomekanik olarak incelenmiştir. Hiç ilaç tedavisi almayan grupta kaynama en hızlı bulunmuştur. Sefazolin alan gruptaki kaynama miktarı kontrol grubuna yakın olarak tespit edilmiştir. En geç kaynama ise Siprofloksasin grubunda saptanmıştır (55). Kinolon grubunun diğer antibiyotikleri olan Levofloksasin ve Trovofloksasin ile benzer bir deneysel çalışma yapılmış ve yine kırık iyileşmesinin geciktiği gözlenmiştir (56). Aynı şekilde Gentamisin'in de kırık iyileşmesini engellediğine dair yayınlar mevcuttur (57). Çalışmamızda antibiotik kullanımının kırık iyileşmesini etkileyeceği ve çalışmanın sonuçlarına tesir edebileceğini düşünerek operasyon öncesi ve sonrası antibiyoterapi uygulamadık.

Teofilin'in daha önce yapılan çalışmalarda bir çok etkisi gösterilmiştir. Bu etkileri şöyle sıralanabilir;

Metilksantin türevi olan teofilin astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı(KOAH) tedavisinde uzun yıllardır kullanılmakta olan ucuz ve oldukça etkili bir ilaçtır. Ancak terapötik aralığının dar olması ve birtakım faktörlerle etkinliğinin değişmesi kullanımını sınırlandırmaktadır (4).

İlacın bronkodilatör etkisi için fosfodiesteraz enzim inhibisyonu ve adenozin reseptör antagonizmasına dayanan iki temel mekanizma ileri sürölmüştür. Antienflamatuar etkisi ise fosfodiesteraz enzim ihhibisyonu dahil henüz bilinmeyen birtakım yollarla etkili olduğu sanılmaktadır (41).

Teofilin fosfodiesteraz enzimini(FDE) non selektif olarak inhibe ederek hücre içi siklik AMP düzeyini yükselterek bronş düz kaslarını gevşetir (41,58). Ayrıca inflamasyon hücrelerindeki mediatörlerin sentez ve salıverilmesini inhibe eder. FDE enzimleri bir süper gen ailesi olup, bu gen ailesinde toplam 21 izoenzim saptanmıştır(59). Teofilin bronş düz kaslarında yoğun olarak bulunuan FDE3 başta olmak üzere FDE izoenzimlerini inhibe eder.

Sıçanlarda yapılan deneysel bir çalışmada teofilinin FDE'ı inhibe edip hücre içi cAMP düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (60)

2005 yılında Takami ve arkadaşları yayınladıkları bir makalede; fosfodiesteraz inhibitörlerinin hücre içi cAMP yıkımını engellediklerini ve böylelikle osteoklast üretimini arttırdıklarını bildirmişlerdir. Aynı makalede fosfodiesteraz inhibitörlerinin osteoklastların osteoblastlara dönüşümüne neden olan faktör üretimini arttırdıkları, osteoblastlardaki çeşitli reseptörleri uyarak osteoblast yapımını stimule ettikleri ve özellikle fosfodiesteraz 4(FDE4)'ün regülasyonda anahtar rol oynadığını belirtmişlerdir (61).

Buna karşın Horiuchi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Parathormon (PTH) ve tıpkı teofilin gibi bir metil ksantin türevi olan Pentoksifilin'in yeni kemik oluşumu üzerine etkilerini araştırmışlar ve Pentoksifilin'in, BMP-2'yi artırarak yeni kemik oluşumunu artırdığını göstermişlerdir (62,63). Mekanizma olarak da hücre içi fosfodiesterazların inhibisyonu sonrası hücre içi siklik AMPnin artmasını tarif etmişlerdir.

Aynı çalışma grubunun aynı yıl yayınladıkları diğer bir çalışmada ise osteoblastik hücre reseptörlerinin özellikle FDE2, FDE3 ve FDE4 inhibisyonu sayesinde BMP-4'ün artarak ALP aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (64). Çalışmanın sonuç kısmında FDE enzimlerinin özellikle erken safhadaki osteoblastik hücre yapımının denetlenmesinde görevli oldukları belirtilmektedir. Selektif olarak FDE2, FDE3 ve FDE4, osteojenik hücrelerin osteoblastik yönde diferansiye olmalarını sağlamaktadır. Bizde yaptığımız çalışmada histolojik olarak kırık iyileşmesinin erken safhasında, teofilin verilen grupta kontrol grubuna göre kırık iyileşmesinin daha iyi olduğunu gözlemledik.

Rawadi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, Pentoksifilin'in osteoblastik belirleyicileri arttırdığı, BMP bağımlı osteokalsini ise indüklediği belirtilmektedir (65).

Fosfodiesteraz inhibitörü olan Pentoksifilin ve Rolipramın farelerde kemik oluşumunu artırdığını gösteren bir hayvan çalışması Kinoshita ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (66).

Teofilin temel olarak kırık iyileşmesi öncü maddelerinden olan prostoglandini antagonize eder ve böylece fosfodiesteraz inhibitörü gibi etki eder (67). Aubier ve arkadaşları teofilinin hücre membranında bulunan kalsiyum kanallarını etkileyerek hücre içi kalsiyumu arttırdığını böylelikle çizgili kaslarda kasılmanın olduğunu göstermişlerdir (68).

Teofilinin bronş düz kaslarında gevşemeye neden olduğu bilinmektedir. Bu etkiyi adenozin reseptörlerinin blokajı sayesinde yaptığı ileri sürülmektedir. Adenozin ile oluşturulan bronkoprovakasyon teofilinle engellenebilmektedir. Solunum merkezi ve serebral kan akımı üzerine olan etkileri de tıpkı bronş düz kaslarında olduğu gibi adenozin reseptörleri üzerlerinden yapıldığı sanılmaktadır (68).

Kırık iyileşmesi modeli, literatürdeki birçok çalışmada kullanılmıştır. Çalışmamızda sıçanlar aynı cerrah tarafından opere edilmiştir. Radyolojik incelemeler çalışmadan bağımsız iki ortopedist tarafından yapılmıştır. Yapılan radyolojik değerlendirme sonucunda, hem kontrol hemde Teofilin grupları kendi içlerinde değerlendirilmiş; gerek 1. ortopedist, gerekse 2. ortopedistin verileri ışığında kırığın radyolojik olarak iyileşme sürecinin aksamadan sürdüğü görülmüştür. Sayısal verilere bakıldığında, 1. ortopedistin radyolojik değerlendirmesinde, teofilin verilen grupta 7. ve 21. günde kontrol grubuna göre daha iyi kaynama görüldüğü, 2. ortopedistin değerlendirmesinde ise, teofilin verilen grupta 35. günde kontrol grubuna göre daha iyi kaynama bulguları görüldüğü tespit edilmiştir. Ancak bu veriler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Fakat 1. ortopedistin 21. gün sonuçlarına göre Teofilin grubunda sayısal olarak kontrol grubuna göre daha fazla kemik oluşumu görülmüş ve istatistiksel olarakta anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Histolojik bulgular incelendiğinde ise; 7. gün Teofilin grubundaki kaynama miktarı daha fazla iken, 7. gün kontrol grubundaki kaynama daha az olarak bulunmuştur. 21. gün teofilin grubunda kontrol grubuna göre sayısal anlamda daha fazla kallus dokusu görülmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,430$). Hem teofilin verilen grupta hemde kontrol grubunda 7. 21. ve 35 . günler zamansal olarak kıyaslandığında kırık iyileşmesinin anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p<0,001$). Bu kırık modelimizin ve çalışma yöntemimizin doğru olduğunu göstermektedir. Erken dönem sonuçları bu bilgiler ile uyum gösterirken, geç dönemde ise, Teofilin'in kırık iyileşmesi üzerine olumsuz bir etkisine rastlanmamıştır.

Teofilinin antienflamatuar özelliği nedeniyle, tıpkı NSAİ ilaçların ortak etkisi olan özellikle erken dönemde inflammatuar hücre göçünün engellenmesi ve bunun sonucunda kırık iyileşmesinin gecikmesine yol açabileceği düşünülmüş ancak, gerek radyolojik veriler gerekse histolojik veriler ışığında, tam tersi bir sonuç elde edilmiştir. Erken dönemde kaynamanın hızlı oluş mekanizması için birkaç fikir öne sürülebilir. Kırık iyileşmesi için gerekli şartlardan biri, kemiğin ve çevre dokuların kanlanmasıdır. Kırık iyileşmesinde en önemli faktör kanlanmadır. Kırık iyileşmesi; kemikten, periosttan ve çevre yumuşak dokulardan gelen kanın kırık sahasına birikmesiyle başlar. Kırık iyileşmesi için gerekli büyüme faktörleri ve fibroblastlar bu yolla kırık bölgesinde toplanırlar. Teofilinin doku oksijenizasyonunu arttırdığı bilinmektedir (17). Kırık iyileşmesinin ilk fazı olan inflamasyon evresi Teofilinin dokulara daha fazla kan ve bununla birlikte daha fazla oksijen sağlaması ve bunun sonucunda daha hızlı bir kırık iyileşmesi gerçekleşmiş olabilir. Bu sayede kırık sahasına hücre göçünün erken olması beklenebilir. Öte yandan bir Fosfodiesteraz inhibitörü olan teofilinin yapılan çalışmalar sonucu, özellikle FDE2, FDE3 ve FDE4 inhibisyonu sayesinde, BMP-4'ün ALP aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (64) aynı çalışmada FDE enzimlerinin özellikle erken safhadaki osteoblastik hücre yapımının denetlenmesinde görevli oldukları belirtilmektedir. Erken dönemde kaynamanın kontrol grubuna göre daha iyi olması, teofilinin yukarıda bahsedilen etkileriyle açıklanabileceğini düşünüyoruz .

Geç dönem bulguları incelendiğinde, hem radyolojik, hem de histolojik veriler ışığında teofilinin kırık iyileşmesi üzerine kemik oluşumu, kaynama veya remodeling safhalarının hiçbirinde olumsuz bir etkisine rastlanmamıştır.

6. SONUÇLAR

Teofilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak üzere sıçanlarda deneysel olarak, açık kırık modeli üzerinde yapılan bu çalışmada, sonuçlar radyolojik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Teofilin verilen ve verilmeyen gruplar hem kendi aralarında hem de birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

1- Radyolojik incelemede, Lane-Sandhu skorlama sistemi kullanılmıştır. Kontrol grubunun radyolojik sonuçlarının zamana bağlı değişimi kendi aralarında karşılaştırıldığında kemik oluşumu ($p=0,001$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Bu sonuç kaynama olayının beklendiği gibi zamanla giderek arttığını göstermektedir. Teofilin grubunun radyolojik sonuçlarının zamana bağlı değişimi kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, özellikle kemik oluşumu ($p=0,002$), kaynama($p=0,009$) ve yeniden yapılanma ($p=0,002$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Bu sonuç da bize kaynama olayının beklendiği gibi zamanla giderek arttığını göstermektedir.

2- Teofilin grubu ve kontrol grubunun radyolojik olarak her bir zaman grubu için karşılaştırılması yapıldığında ise, özellikle 1. Ortopedistin 21. gündeki değerleri incelendiğinde kemik oluşumu bakımından Teofilin lehine olumlu yönde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,032$).

3- Histolojik sonuçlar, Huo ve arkadaşları tarafından tarif edilen 10 basamaklı bir skalaya göre değerlendirilmiştir. Kontrol ve Teofilin grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır. 7. gün sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. 7. günde Teofilin grubundaki kaynama miktarı daha fazla iken, kontrol grubundaki kaynama daha az olarak bulunmuştur($p=0,044$). Hem Teofilin hem de kontrol grubunda 7.,21. ve 35. günlerde giderek artan oranda kaynama bulguları görülmüş ve böylelikle radyolojik sonuçlarda olduğu gibi histolojik değerlendirme sonuçları da zaman içinde giderek artan oranlarda kaynama söz konusudur. Böylelikle çalışmanın yönteminin doğruluğu sağlanmıştır. Bu sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

4- Teofilin grubu ve kontrol grubu histolojik sonuçları, 7. 21. ve 35. günler için karşılıklı olarak kıyaslandığında ise 7 ve 21. günde Teofilin grubunun puanının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum 7. gün teofilin grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı iken($p=0,044$), 21. ve 35.günlerde elde edilen veriler için anlamlı değildir($p=0,430$ ve $p=0,404$).

5-Teofilin grubunda 35. gün için incelenen tüm preparatlarda kırık kaynamasının gerçekleştiği ve özellikle kırık bölgesinde yeni kemik oluşumunun sağlandığı görüldü, bu veri ışığında teofilinin kırık iyileşmesini bozmadığı anlaşılmaktadır.

Bu sonuçlar bize Teofilin kullanımının kırık iyileşmesini erken dönemde hızlandırdığını göstermiştir. Ancak Teofilin'in kırık iyileşmesindeki etki mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için, daha ileri düzeyde çalışmaların yapılması da gerekmektedir.

Kırık iyileşmesini hızlandırmak için erken dönemde Teofilin kullanılabilir mi? Yada teofilinin kullanılmasının endike olduğu klinik durumlarda ; kırıklarda tabloya eklendiğinde, kırık iyileşmesi nasıl etkilenir? Bu soruların yanıtları, benzer daha başka çalışmaların sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmelidir. Ancak çalışmamız doğrultusunda söyleyebiliriz ki; sıçanlarda kırık iyileşmesinde denediğimiz teofilinin kırık iyileşmesi üzerine herhangi bir olumsuz etkisine rastlanmamış ve erken dönemde kırık iyileşmesi üzerine etkisi olumlu yöndedir.

Daha uzun dönemde ise, Teofilin kullanımının kırık üzerine hangi yönde etki edeceği ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır ve uzun dönem çalışmalarına gereksinim vardır.

7. ÖZET

TEOFİLİN'İN SIÇANLARDA

KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Teofilin metilksantin türevi olup, bronkodilatör ve antienflamatuar etkilere sahip bir ilaçtır. Bu özelliklerinden dolayı başta bronşiyal astma olmak üzere bronkospazma yol açan anafilaksi, allerjen, toksik gaz, duman solunması sonucu oluşan solunum zorluğunun tedavisinde kronik bronşit, kronik obstrüktif akciğer hastalığının(KOAH) akut ataklarında reversibl bronkospazmı çözmek için kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Teofilin'in kırık iyileşmesi üzerine etkileri, rat femurlarında deneysel kırık modeli oluşturularak histolojik ve radyolojik olarak değerlendirilmiştir. Denek olarak 42 adet, ortalama ağırlıkları 232 gr (194-255 gr) olan, 20 haftalık Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, 1 haftalık uyum döneminden sonra rastgele seçilmiş 7'şerli 6 gruba ayrıldı. T 1; 7 gün, T 2 ; 21 gün,T 3 ise 35 günlük deney grubu olarak belirlendi. Kontrol grubu olarakta K1; 7 gün, K2 ;21 gün, K3 ise 35 günlük deney grubu olarak belirlendi. Ratların sağ femurlarında anestezi altında kırık oluşturuldu ve internal tespit yerleştirildi. T grubuna 40mg/kg Teofilin orogastrik yolla günde 1 kez verildi. K grubuna ise Teofilin verilmeyerek kontrol grubu olması sağlandı. T1 ile K1 grubu 7. günde, T2 ile K2 grubu 21. günde, T3 ile K3 grubu 35. günde sakrifiye edilip sağ femurlarındaki kırık hattında bulunan kaynama dokusu, radyolojik ve histolojik olarak değerlendirilerek gruplar arası karşılaştırmaları yapıldı.

Histolojik değerlendirmede Teofilin'in 7. gündeki gruplarda kırık iyileşmesini hızlandırdığı tespit edildi. Radyolojik değerlendirmede ise özellikle 21. gündeki Teofilin grubunun kontrol grubuna göre daha fazla iyileşme gösterdiğini gözlemledik.

Sonuç olarak, histolojik ve radyolojik değerlendirmelerde orogastrik yolla uygulanan Teofilin'in , kırık iyileşmesini erken dönemde arttırdığı tespit edildi. Bir çok olumlu etkisi ispatlanmış olan Teofilin'in kırık iyileşmesinde de erken dönemde olumlu bir etkisinin olabileceğini düşünüyoruz. Literatürde, Teofilinin kırık iyileşmesi üzerine etkileriyle ilgili deneysel bir çalışmaya rastlanmadı.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Teofilin etkileri, Doku oksijenizasyonu

8. SUMMARY

EFFECTS OF THEOPHYLLINE ON FRACTURE HEALING IN RATS

Theophylline is a drug derived from methylxanthine and it has bronchodilator anti-inflammatory effects. Thanks to these effects it is used in the treatment of bronchial asthma and anaphylaxis which causes bronchospasm, allergen, toxic gas, in the treatment of respiratory distress resulting from breathing fumes, chronic bronchitis, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) and it is used to resolve the reversible bronchospasm in acute attacks.

In the present study, the effect of Theophylline on the healing of fractures was investigated histologically and radiologically by forming an experimental fracture model in rat femurs. As subjects of 42, average weight 232 g (range, 194-255 g), which, 20-week female Sprague Dawley rats were used. After an adaptation period of 1 week, rats were randomised into 6 groups with 7 rats in each one. T1 was 7 days, T2 21 days experiment and T3 35 days experiment group. There were also three control groups: K1; 7, K2; 21 and K3; 35 days groups. On the right femurs of rats, fracture was created under anesthesia and internal fixation was made. In T groups, 40 mg/kg Theophylline was administered once a day via orogastric way. It was not administered to control groups. On 7. day T1 and K 1 groups, on 21. day T 2 and K 2 groups, and on 35. day T 3 and K 3 groups were sacrificed and union tissue on the fracture line on right femurs was analysed histologically and radiologically and inter group comparisons were made.

In histological evaluation, it was established that Theophylline accelerated fracture healing on 7 day groups. In radiological evaluation, especially on 21 day group Theophylline led to higher rate of improvement compared to control group.

In conclusion, it was established that Theophylline administered orogastrically enhanced healing of fractures in histological and radiological evaluations. It is our suggestion that Theophylline, with many proven favorable effects, may have positive effects in the healing of fractures. This study is the first experimental study in this direction about effects of theophylline on fracture healing.

Key words: Fracture healing, Theophylline Effects, Tissue Oxygenization

KAYNAKLAR

1. Ege R: Travmatoloji Kırıklar ve Eklem Yaralanmaları. Kadioğlu Matbaası, Ankara, 1989, s. 1-61
2. Current Concepts of Molecular Aspects of Bone Healing. *İnjury int care* , 2005, 36: 1392-1404
3. Barnes PJ: Goodman & Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed, McGraw-Hill, 2011, pp. 1046-1052.
4. Barnes PJ: Goodman & Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed , McGraw-Hill ,2011, pp. 1040-1044.
5. Baumann TW: Some thoughts on the physiology of caffeine in coffee- and glimpse of metabolite profiling. *Braz. J. Plant Physiol*, 18(1): 243-251, 2006
6. Jungueria CL, Carnerio J, Kelley O: Bone. In: Basic Histology. Appleton and Lange, New Jersey, 1995, pp. 132-151.
7. Gartner LP and Hiatt JL: Color Textbook of Histology. Second ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 2001, pp. 134-154.
8. Kierszenbaum AL: Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Çev. Demir R). Palme Yayıncılık, Ankara, 2006, s. 118-145.
9. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R: Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *J Bone Joint Surg Am*, 77:1256-1275, 1995.
10. Schenk RK: Biology of fracture. In: Browner B, Jupiter J, Levine A, Trafton P (eds) *Skeletal Trauma*, Saunders, Philadelphia, 2003, pp. 29-74.
11. Netter HF. Healing of Fracture. In: The Netter Collection of Medical Illustrations, Novartis, New Jersey, Vol 8: 25-27, 1997.

12. Tachdjian OM. Fractures and Dislocations. In: Pediatric Orthopedics. Saunders, Philadelphia, Vol 2: 1532-44, 1972.
13. Muscler FG. Bone Healing and Grafting. In: Orthopaedic Knowledge Update 8, Rosemont, 29-37, 2005.
14. McKibbin B: The biology of fracture healing in long bones. J Bone Joint Surg, 60B:150-162, 1978.
15. Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res, 355: 7-21, 1998.
16. Cornell CN and Lane JM: Newest factors in fracture healing. Clin Orthop Relat Res, 277:297-311, 1992.
17. Miller MD: Miller'ın Ortopedi Kitabı (Çev. Yetkin H ve Yazıcı M) Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006, s. 1-23.
18. Cruess RL: Healing of bone, tendon and ligament In: Fractures. Philadelphia, Lippincott Company, 1984, pp. 147–167.
19. Frost, H. M: The biology of fracture healing; An overview for clinicians. Part I. Clin. Orthop. 248: 283-293, 1989.
20. Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C: Rockwood and Green's Fractures in Adults. Sixth ed., Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2006, pp. 297-330.
21. Brond AR and Rubin TC. Fracture Healing. In: Surgery of the Musculoskeletal System. Churchill Livingstone, New York 1: 93–114, 1990.
22. Turck C W, Dohlman J G, Goetzl E J. Immunological mediators of wound healing and fibrosis. J Cell Physiol(Suppl 5), 89-93,1987.
23. Hulth A, Johnell O, Klareskog L, Henricson A: Appearance of T-cell and Ia-expressing cells in fracture healing in rats. Int J Immunother, 1: 103-6, 1985.

24. Santavirta S, Konttinen Y T, Nordst rm D, Makela A, Sorsa T, Hukkanen M, Rokanen P: Immunologic studies of nonunited fractures. *Acta Orthop Scand* ,63 (6): 576-86,1992.
25. Weinstein SL and Buckwalter JA: Turek Ortopedi ilkeler ve Uygulamaları ( ev. Alpaslan AM) G ne  Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009, s. 57-71.
26. Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M: The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Trauma Surg* 121: 426–428, 2001.
27. Douglas J and Pritchard MD. Instructtional Course Lectures. First ed: 371-413,1996.
28. Miller MD: Miller’ın Ortopedi Kitabı ( ev. Yetkin H ve Yazıcı M) Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006, s. 24-44.
29. Khan SN: Bone growth factors. *Orthop Clin North Am*, 31: 375–388, 2000.
30. Wood G: General principles of fracture treatment. In: Canale (Ed) *Campell’s Operative Orthopaedics*. Mosby, Philadelphia, 2003, pp. 2669-2724.
31. Simmons HA and Raisz LG : Effects of acid and basic fibroblast growth factor and heparin on resorption of cultured fetal rat long bones. *J Bone Miner Res.*, 6(12): 1301-5, 1991.
32. Scheindlin S: A new look at the xantine alkaloids. *Mol Interv*, 7(5): 236-242,2007.
33. Barnes PJ. Theophylline in chronic obstructive disease: new horizons. *Proc Am Thorac Soc.*, 2(4): 334-339,2005.
34. Luger EJ, Rochkind S, Wollman Y, Kogan G, Dekel S: Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med.*, 22:97-102, 1998.
35. Lane JM and Sandhu HS: Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am*, 18: 213-225, 1987.

36. Bancroft JD and Cook HC: Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Churchill Livingstone Medical Division of Langman Group UK Limited, London, England, 1994, pp. 373-413.
37. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR: Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone Medical Division of Pearson Profesional Limited, New York, USA, 1996, pp. 309-339.
38. Demir R: Histolojik Boyama Teknikleri. Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 2001, s.1-49
39. Huo MH, Troiano NW: The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. J Orthop Res. 9: 383-390, 1991.
40. Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA: Fracture healing as a postnatal developmental process: Molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. J Cell Biochem, 88: 873-884, 2003
41. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA: Growth factor regulation of fracture repair. J Bone Miner Res, 14: 1805-1815, 1999.
42. Nunamaker DM: Experimental models of fracture repair. Clin Orthop Relat Res, 355 Supp: 56-65, 1998.
43. Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG: Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture. Semin Cell Dev Biol, 19: 459-466, 2008.
44. Dimar JR, Ante WA, Zhang YP, Glassman SD. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on posterior spinal fusion in the rat. Spine ,21(16): 1870-1876,1996.
45. Giannoudis PV, Mac Donald DA,Matthews SJ, Smith RM, FurlongAJ, De Boer P. Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs. J Boint Surg ,82-B(No 5):665-658 ,2000.

46. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, Friedlaender GE: The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res*, 9:383-390, 1991.
47. Nilsson OS, Bauer HCF, Brosjö O, Törnkuist H. A comparison of indomethacin and diclofenac in the inhibition of experimental heterotopic new bone formation. *Internal Orthopaedics (SICOT)* , 11:283-287,1987.
48. Reikeraas O and Engebretsen L: Effects of ketoralac tromethamine and indomethacin on primary and secondary bone healing. An experimental study in rats. *Acta OrthopTrauma Surg* ,118:50-52,1998.
49. Høgevoid HE, Grogard B, Reikeraas O: Effects of short-term treatment with corticosteroids and indomethacin on bone healing. *Acta Orthop Scand* ,63(6):607-611,1992.
50. Keller J, Bünger C, Andreassen TT, Bak B, Lucht U: Bone repair inhibited by indomethacin. Effects on bone metabolism and strength of rabbit osteotomies. *Acta Orthop Scand*, 58:379-383,1987.
51. Bhattacharyya T, Levin R, Vrahas MS, Solomon DH: Nonsteroidal antiinflammatory drugs and nonunion of humeral shaft fractures. *Arthritis Rheum*, 53(3): 364-7, 2005.
52. Aslan M, Şimşek G, Yıldırım U: Effects of short-term treatment with systemic prednisone on bone healing: an experimental study in rats. *Dent Traumatol*, 21:222-225, 2005.
53. Simpson AHRW, Mills L, Noble B: The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing. *J Bone Joint Surg*, 88B: 701-705, 2006.
54. Jackson RA, McDonald MM, Nurcombe V, Little DG, Cool SM: The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model. *J Orthop Res*, 24:636-644, 2006.

55. Huddleston PM, Steckelberg JM, Hanssen AD, Rouse MS, Bolander ME, Patel R: Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture healing. *J Bone Joint Surg*,82A(2):161–73, 2000.
56. Perry AC, Prpa B, Rouse MS, Piper KE, Hanssen AD, Steckelberg JM: Levofloxacin and trovafloxacin inhibition of experimental fracture-healing. *Clin Orthop Relat Res.*, (414):95–100, 2003 .
57. Ince A, Schütze N, Karl N, Löhr JF, Eulert J: Gentamicin negatively influenced osteogenic function in vitro. *Int Orthop*, 31(2):223–8, 2007.
58. Brown WM: Treating COPD with PDE 4 inhibitors. *Int J Chron Obstruct Pulmon* , 2(4): 517-533,2007.
59. Rotella DP. Phosphodiesterase enzymes- Target overview. *Touch Briefings. Drug Discovery*. 2007; 22-23
60. Featherstone RL, Kelly FJ, Chambers DJ: Theophylline improves functional recover of isolated tar lungs after hypothermic preservation. *Ann Thorac Surg* , 67: 798-803,1999.
61. Takami M, Cho ES, Lee SY, Kamijo R, Yim M: Phosphodiesterase inhibitors stimulate osteoclast formation via TRANCE/RANKL expression in osteoblasts: possible involvement of ERK and p38 MAPK pathways. *FEBS Lett*,579(3):832–8, 2005.
62. Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, Wakabayashi S: Enhancement of recombinant human bone morphogenetic protein–2 (rhBMP-2)-induced new bone formation by concurrent treatment with parathyroid hormone and a phosphodiesterase inhibitor, pentoxifylline. *J Bone Miner Metab.*,22(4):329-34, 2004.
63. Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, Wakabayashi S, Tsutsumimoto T. Enhancement of bone morphogenetic protein–2-induced new bone formation in mice by phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline. *Bone* 28:3 290–294, 2001.
64. Tsutsumimoto T, Wakabayashi S, Kinoshita T, Horiuchi H, Takaoka K. Involvement of phosphodiesterase isozymes in osteoblastic differentiation. *J Bone Miner Res.* ,17(2):249–56, 2002.

65. Rawadi G, Ferrer C, Spinella-Jaegle S, Roman-Roman S, Bouali Y, Baron R. 1-(5-oxohexyl)-3,7-Dimethylxanthine, a phosphodiesterase inhibitor, activates MAPK cascades and promotes osteoblast differentiation by a mechanism independent of PKA activation *Endocrinology* ,142(11):4673–82, 2001.
66. Kinoshita T, Kobayashi S, Ebara S, Yoshimura Y, Horiuchi H, Tsutsumimoto, et al: Phosphodiesterase inhibitors, pentoxifylline and rolipram, increase bone mass mainly by promoting bone formation in normal mice. *Bone*, 27(6):811–7, 2000.
67. Hendeles L and Massanaic M: Update on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of theophylline. *Chest*88(Suppl): 103-110,1985.
68. Aubier M and Roussos C : Effects of theophylline on respiratory muscle function. *Chest* 88(Suppl): 91-97, 1985.