

**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ AD**

**Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Tunç Cevat ÖĞÜN**

AMNİON ZARININ KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Dr. Serhan SEZGİN
(UZMANLIK TEZİ)**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. M. Nazım KARALEZLİ**

**KONYA
2008**

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1 Kemik Dokusu | 2 |
| 2.1.1 Kemik Dokusunun Tanımı ve Genel Özellikleri | 2 |
| 2.1.2 Kemik Histolojisi | 2 |
| 2.1.3 Hücresel Biyoloji | 3 |
| 2.1.4 Matriks | 7 |
| 2.1.5 Kemik Dolaşımı | 8 |
| 2.1.6 Kemiği Çevreleyen Dokular | 10 |
| 2.1.7 Kemik Oluşum Tipleri | 11 |
| 2.1.8 Kemik Yaralanması ve Tamiri | 12 |
| 2.1.9 Kırık Kaynamasına Etkili Faktörler | 15 |
| 2.2 Amnion Zarının Özellikleri | 20 |
| 2.2.1 Amnion Zarının Cerrahide Kullanımı | 21 |
| 3. MATERYAL ve METOD | 23 |
| 3.1 Amnion Zarının Hazırlanması | 23 |
| 3.2 Denekler ve Anestezi | 24 |
| 3.3 Cerrahi İşlem | 24 |
| 3.4 Histopatolojik Değerlendirme | 25 |
| 3.5 Radyolojik Değerlendirme | 27 |
| 3.6 Mekanik Test | 27 |
| 3.7 Ölçümler ve Hesaplamalar | 29 |
| 3.8 İstatistiksel Analiz | 30 |
| 4. BULGULAR | 31 |

| | |
|---------------------------|----|
| 5. TARTIŞMA | 40 |
| 6. SONUÇ | 44 |
| 7. ÖZET | 45 |
| 8. ABSTRACT | 46 |
| 9. KAYNAKLAR | 47 |
| 10. TEŞEKKÜR | 57 |

1-GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan vücudundaki organ ve sistemlerin düzgün çalışabilmeleri için gerekli çatının temel unsuru kemik dokusudur. Günümüzde artan iş temposu ve trafik kazaları sonucunda; kemik kırıklarıyla daha sık karşılaşılmaktadır. Kırık basitçe kemiğin fiziksel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanabilir. Gerçekte sorun bu kadar basit değildir. Kırık oluşumu ile birlikte patoloji sadece kemik dokusuyla sınırlı kalmaz. Çevre yumuşak dokular, farklı organ sistemleri de bu olaydan olumsuz etkilenir hatta kişinin yaşamını kaybetmesine neden olabilir. Kemik kırılması ve tedavi sürecindeki aşamalar kişiyi kötü yönde etkilediği gibi yapılan sağlık harcamaları da ekonomiyi olumsuz etkiler.

Kırık iyileşmesi uzun ve hassas bir süreçte olur. İyileşmenin nasıl olduğu ve hangi faktörlerin etki ettiğine dair çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda kemik metabolizması ve iyileşmeyi olumlu ya da olumsuz etkileyen faktörlerin bilinmesi tedavi şekillerini de değiştirmiştir.

Kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalar; kırığın tespit şekilleri, kırığı sistemik ve lokal etkileyen faktörler, kırık üzerine elektrik ve ses stimülasyonu, hiperbarik oksijen uygulanması üzerine yoğunlaşmıştır.

Günümüzde amnion zarı göz hastalıkları, dermatoloji, üroloji gibi farklı kliniklerde uygulama alanı bulmuştur. İçerdiği birtakım kimyasal maddelerin kemik kaynaması üzerine olan etkileri henüz kesin olarak bilinmemektedir ve literatürde kemik kaynamasına yönelik yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmamızda amacımız, amnion zarının kemik kaynaması üzerine etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kemik dokusu

2.1.1 Kemik dokusunun tanımı ve genel özellikleri

Kemik, iskelet sisteminin en önemli yapı taşıdır. Yaşamsal organlara destek ve koruma sağlar. Yaşamımız için gerekli temel iyonların vücuttaki konsantrasyonunun sağlanmasında da görev alır. Kemik, üzerine yapışan kasların düzenli kontraksiyonu ile vücudun hareket etmesini sağlar (1,2).

2.1.2 Kemik Histolojisi

Kemik Tipleri

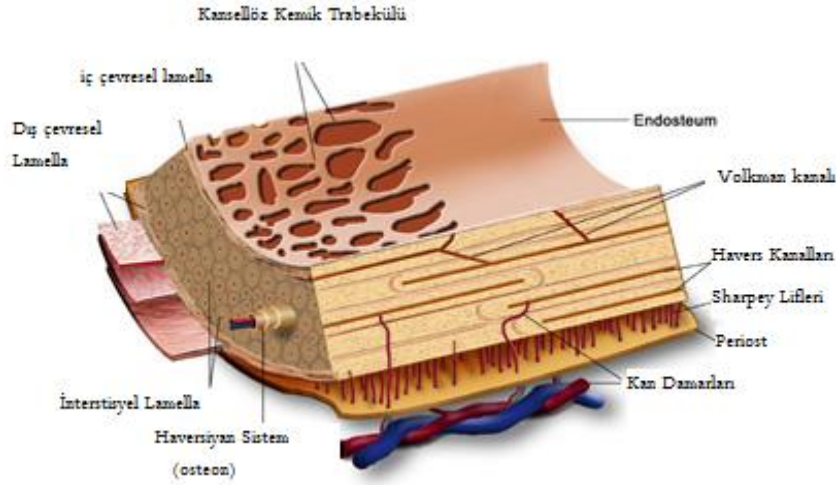
Normal kemik lamellerdir ve kortikal ya da spongioz olabilir. İmmatür ve patolojik kemik örgülü yapıdadır ve lameller kemiğe göre fazla sayıda osteosit içerecek biçimde daha rastgele düzenlenmiştir. Yapım ve yıkım döngüsü artmıştır. İmmatür kemik lameller kemiğe göre daha zayıf ve esnektir. Lameller kemik strese dayanıklı iken örgülü kemik dayanıksızdır (3).

A. Kortikal Kemik

İskeletin %80' ini oluşturur. Sıkıca paketlenmiş osteonlar ya da arterioller, venüller, kapillerler, sinirler ve olasılıkla lenfatik kanalları içeren haversiyen (veya Volkmann) kanallarıyla bağlı haversiyen sistemlerinden oluşur. Osteonlar arasında intersitisyel lamellalar mevcuttur. Lamelleri sıklıkla fibriller bağlar ama sement hatlarını geçmezler. Sement hatları osteonun dış sınırını belirler. İntroosseoz dolaşım besin sağlar. Kortikal kemik spongioz kemiğe göre daha yavaş bir dönüşüm hızına, göreceli olarak yüksek bir Young modülüsüne, torsiyon ve bükülmelere karşı on kat daha yüksek bir dirence sahiptir (3).

B. Spongioz Kemik

Süngerimsi ya da trabeküler kemik de denir. Kortikal kemikle karşılaştırıldığında yoğunluğu daha azdır ve stres çizgilerine bağlı olarak daha fazla remodelasyon meydana gelir (Wolff kanunu). Daha yüksek bir dönüşüm hızı vardır. Young modülüsü daha küçüktür, bu nedenle kortikal kemikten daha elastiktir (3). Trabeküler kemik, esas olarak uzun kemiklerin uçlarında ve vertebralarda bulunur. Trabeküler kemiğin plaklar halinde, birbiri ile bağlantılı, üç boyutlu dantele benzer bir yapı oluşturması, yüksek yüzey/alan oranı oluşturarak yüksek metabolik aktivite işlevi yanında, kemiğe yansıyan çeşitli yüklere (özellikle kompresif) karşı kemiğin dayanma gücünü de artırır (4).



Şekil 1: Matür kemik dokusunun mimari yapısı

2.1.3 Hüresel Biyoloji

A. Osteoblastlar

Osteoblastlar mezenkimal kök hücrelerden gelişirler. Mikroskopik olarak oval şekilli, polihedral yapıya, ekzantrik büyük nükleuslu, büyük granüllü endoplazmik retikulumu sahip hücrelerdir. 20-30 µm büyüklüğünde olup kemiğin yüzeyinde tabaka halinde bulunurlar. Osteoblastlar, osteosit ve ekstrasellüler matriks ile olan iletişimi transmembran proteinler ve integrinler vasıtasıyla sağlarlar. Osteoid materyal ve matriks sentezlerler. Ortalama 1-10 hafta yaşarlar. Lokal sitokinler ve PTH (paratiroid hormon), D vitamini metabolizmasının yan ürünleri, gonadal ve adrenal steroidler gibi moleküllere spesifik reseptör içerirler. Bu reseptörler ile aktif hale gelen osteoblastlar, osteoklastları aktif hale getirecek mediyatörler salgırlar ayrıca hematopoetik hücrelerin değişimine katkıda bulunur.

Görevleri kısaca; kemik matriksindeki kollejen ve kollejen dışı protein sentezi, ekstrasellüler matriks fibrillerinin düzenini sağlamak, osteoid materyalin mineralizasyonunu sağlamaktır. Bu mineralizasyonu ALP (alkalenfosfataz) enzimi sayesinde içerdikleri adozintrifosfatazın ortama saldığı Ca^{+} iyonu ile sağlarlar. Sentezlediği çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde osteoklastların rezorpsiyonuna aracılık ederler.

Osteoblastlar aktif olduktan sonra çeşitli şekillerde görev yaparlar. Bir kısmı kemik yüzeyinde metabolizmasını yavaşlatıp istirahat hücresi olarak kalır. Bunlar az sayıda organel içerdikleri için yassılaştımlardır. Sialoprotein, osteonektin, osteopontin ve ALP sentezlerler. Osteoklastların kemik yüzeyinde yerleşmesine PTH etkisiyle aracılık ederler. Bir kısmı

matriks sentezleyen osteosite dönüşür. Diğer bir kısmı da apoptozis ile ortamdan kaybolur (5,6,7).

B. Osteositler

Osteositler kemiğin iç haberleşmesinden sorumludurlar. Kemiğe uygulanan fiziksel kuvvetlerin yorumlanması ve uygun cevabın verilmesini sağlarlar. Yeniden yapılanmadan sorumlu hücrelerdir (2,8,9,10,11).

Kemik oluşumu sırasında bazı osteoblastlar kemik matriksi içinde kalarak osteosite dönüşür. Osteoblastlarca sentezlenen osteoid, kalsifikasyona uğrayıp hidroksiapatit kristallerini oluştururken bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak organellerinden çoğunu kaybeder ve osteosite dönüşürler (12-15). Osteositler osteoblastlara göre hücresel düzeyde farklılıklar taşırlar. Osteositler yassı elips şekilli, stoplazmik uzantıları olan, küçük tek çekirdekli hücrelerdir. Osteoblastlara göre daha az sayıda mitokondri, endoplazmik retikulum ve golgi aparatı içerirler. Daha yoğun çekirdek kromatini taşırlar (16). Osteosite dönüşen osteoblast sayısı kemik oluşum hızına bağlı olduğu için oluşum hızı arttıkça bölgedeki osteosit sayısı da artar (12-15). Normal bir insan kemiğinde osteblastlardan 10 kat fazla sayıda osteosit hücresi bulunur, tüm kemik hücrelerinde %90' ı osteosit hücresidir (5). Osteoblast ve osteoklastlar kemik yüzeyinde yerleşmişken osteositler mineralize matriks içinde yer alırlar (5,6,7). Osteositlerin ömrü birkaç yıl kadardır (14). Kronik glukokortikoid kullanımı, yaşlanma, kuvvete maruz kalmak, östrojen azalması osteosit ölümünü artırır (17-20). PTH verilmesi ile ölümlerinin engellendiği bildirilmiştir (21).

Farklılaşma sırasında oluşan osteositler yavaş yavaş matriks üretme yeteneklerini kaybederler ve boyut olarak küçülürler. Çevrelerindeki matriksi rezorbe ederek osteositik lakünleri oluştururlar. Her bir lakünde bir osteosit bulunur (22,23). Kemiğin sert yapısı içinde yerleşmiş osteositler lakünler sayesinde diğer osteositlerle ve de vücut sıvılarıyla iletişim halindedir. Gelişmiş sitoplazmik uzantılarıyla osteositler gerekli iyon ve metabolitlerin transferini sağlarlar.

C. Osteoklastlar

Kemik iliğindeki hematopoetik mononükleer / fagositik seri hücrelerinden gelişirler. Öncü hücreler, kemik yüzeyinde füzyona uğrayarak osteoklast olarak bilinen 100µm'luk çapta, 10-12 çekirdekli dev hücrelere dönüşürler. Makrofajlardan farklı olarak kıvrımlı sınırları, mitekondri ve vakuolden zengin sitoplazması, kalsitonin reseptörleri vardır ve asit fosfataz üretirler (24).

Osteoklast gelişimi için osteoblastik aktiviteye ihtiyaç vardır. Osteoblastlar tarafından salınan makrofaj koloni uyarıcı faktör, osteoklast differansiyasyon faktör, kalsitrol, PTH, interlökin 1, 3, 6 ve 11, TNF α (tümör nekroze edici faktör alfa), prostoglandin E2 osteoklastları aktive ederken, osteoblast kaynaklı osteoprotogenin (osteoklast inhibe edici faktör), interferon γ , interlökin 4, 13, 18 inhibe eder.

Osteoklast fırçamsı kenar ve organelsiz boş bir alandan oluşur. Fırçamsı kenar sitoplazmanın uzantılarından oluşmuştur. Kemığın yıkımı sırasındaki etkileşim bu alanda olur. Fırçamsı kenarı kontraktıl proteinlerden zengin organelsiz bir sitoplazmik alan (clear zone) çevreler.

Kemik yıkımının olduğu fırçamsı kenarda ph 3.5-4 tür. Bu düşük ph osteoklastın H⁺ pompası ve Cl/HCO₃ exchanger vasıtasıyla sağlanır. Karbonikanhidraz bu bölgede yoğun olarak bulunur. H⁺ üretimine katkı sağlar. Tartarata rezistan asit fosfataz fırçamsı kenarda yoğundur. Osteoklastın kemik yüzeyine yapışmasını sağlayan osteopontin ve kemik sialoproteini defosforile ederek tutunma gerçekleşir. Asidik ortamda kalsiyum ve fosfat çözünür. Geriye kalan organik matriks ise; asit fosfataz, aril sülfataz, b-glukoronidaz, b-gliserofosfataz, metalloproteaz, kollagenaz ve sirtomolizin gibi enzimlerle yıkılır. Osteoklastın trabeküler kemik yüzeyinde oluşturduğu rezorpsiyon kavitesine howship lakünü denir. Bu kavite kortikal kemikte Haversiyen kanalını oluşturur.

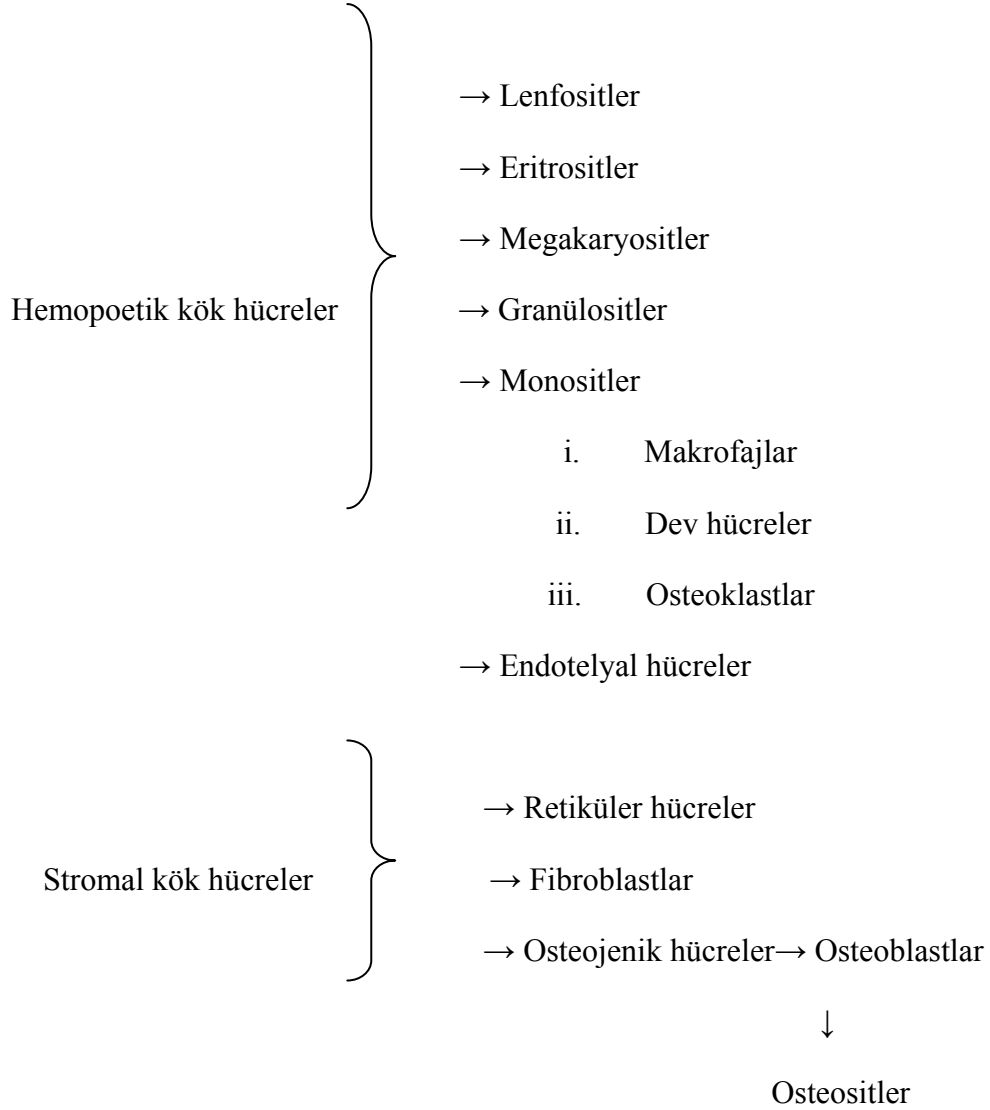
Osteoklastın aktivitesini bifosfanat, kalsitonin, östrojen hormonu, TGF β (Transforme edici büyüme faktör β) azaltırken, PTH, D vitamini ve tiroksin artırır (2,24,25).

D. Osteoprogenitör Hücreler

Mezenkim kaynaklı ana hücrelerin bir alt grubudur. Mitoz yeteneğine sahip olup, olgun kemik hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptir. Bu hücreler uyarılmadıkları zaman kemik yüzeyi yakınlarında, periostun iç yüzeyinde, endostta ve Havers kanallarında bulunurlar. Kırık sonucu uyarıldıklarında, belirgin nükleuslu füziform iri hücrelere dönüşürler (26,27,28). Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar sonucunda iki tip osteoprogenitör hücre saptanmıştır. Bunlardan birincisi gelişmemiş endoplazmik retikulum ve az gelişmiş golgi cisimciği ile tanınan preosteoblastlardır. Bu hücrelerden osteoblastlar gelişir. Diğerleri ise belirgin mitokondri ve serbest ribozomları ile tanınan hücrelerdir. Bu hücreler ise osteoklastlara öncülük eder. Özelleşmiş kemik hücreleri kemığın oluşumundan, rezorbsiyonundan ve kemik yapısının devamlılığını sağlamaktan sorumludur (12).

Osteoprogenitör hücrelerin her zaman kondroblast, osteoblast ve osteoklastlara farklılaşma

yetenekleri vardır. Kemikteki iki ana hücre olan osteoklastlar ve osteoblastlar, kaynağını hemopoetik ve stromal hücre sistemi olarak adlandırılan iki farklı hücre soyundan alırlar (29,30,31).(Şekil2).



Şekil 2,(32)

E. Kemik yüzeyini döşeyen hücreler

Osteoblastlar, kemik yüzeyinde aktif olmadıkları zamanlarda ince uzun sitoplazmaları ile istirahat halinde bulunurlar. Kaplama hücreleri de denmektedir.

Görevleri arasında; kemik ve çevresi arasında bariyer oluşturması, yeni kemik oluşumu yada yıkım bölgesinin tayin edilmesi vardır (33).

2.1.4 Matriks

Kemik matriksi organik ve inorganik matriksten oluşur (5,6,34,35). Kemiğin yaş ağırlığının %65'ini inorganik, %20'sini organik komponent oluşturur. Kalan %10'unu su ve %5'ini ise diğer organik moleküller ve amorf inorganik tuzlar oluşturur (5,6). Organik ve inorganik matriks birbirleriyle ilişki halindedir (6).

A. Organik Matriks

Organik komponent primer olarak kollajenden (%90) oluşup kemiğin gerilim direncini oluşturur. Diğer % 10'luk kısmı ise kollajen dışı proteinlerden oluşmaktadır (5,6,34). Kollajen içeriğinin büyük çoğunlunu Tip I kollajen oluşturur. Daha az oranda da Tip III, V, VI, XI, XII kollajen bulunur (5,34). Tip I kollajen içeriğindeki aminoasitlerin özellikle de hidrosilizin ve hidrosiprolinin sayesinde tensil kuvvetlere karşı daha dayanıklı bir hal kazanır. Bu aminoasitlerdeki bir azalma veya yapısında bozulma olması kemik kırılmasını artırır (5). Tropokollajen moleküllerinin birleşme yerlerinde 400 Å^o çapında gözenekler oluşur. Bu gözeneklere hidroksiapatit kristalleri depolanır (36).

Organik matrikste bulunan kollajen dışı proteinler (5,6,34,37):

a.*Proteoglikanlar*: Kollajen dışı proteinlerin % 10' unu oluşturur. Glikozaminoglikanlardan oluşmuştur (22). Bunlar sülfate olmuş tekrarlayan karbohidrat üniteleridir. Osteoid matrikste hyaluronik asit, kondroitin sülfat, biglikan ve dekorin olmak üzere dört tipi mevcuttur.

b.*Gamakarboksigliutamik asit (GKGA) içeren proteinler*: İki tip proteinden oluşur; Osteokalsin ve GKGA. Osteokalsin osteoblast ve plateletlerce sentezlenir. Sentezinde D ve K vitamini kullanılır. Osteogenezisin biyokimyasal belirteci olan bir proteindir. GKGA ise K vitamini varlığında sentezlenen kalsiyum bağlayan bir proteindir

c.*Glikoproteinler*: Osteonektin, kollajen dışı proteinlerin %25'ini oluşturur. Trombosit ve osteoblastlardan salgılanır kemiğe spesifik değildir. Matriks ve hücreler arası adezyonda önemli rol oynar. Osteopontin, fibronektin, kemik sialoprotein, , trombospondin ve vitronektin hücre yüzey reseptörü olarak görev alırlar. Osteopontin kemik spesifik bir proteindir. Osteoklastların kemik yüzeyine tutunmalarını sağlar (22).

d.*Plazma proteinleri*: Albumin ve α₂-SH glikoprotein bulunur. Kalsiyum depolanmasında rol alırlar.

e.*Büyüme faktörleri*: Polipeptid yapıdadırlar.

TGF-β; Enflamasyon ve tamirde rol alır. Kondrosit ve osteoblastlarda sentezlenerek

enkondral kemikleşme esnasında hücre dışı matrikste birikir. Kollojen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Proteolitik enzimleri baskılayarak granülasyon dokusu oluşumuna yol açar (38).

PDGF (Platelet kaynaklı büyüme faktörü); Trombosit, monosit, makrofaj ve endotelial hücreler tarafından sentezlenir. Hücre replikasyonunu indükler. Kemik oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (39).

BMP (Bone morfojenik protein); Hücre gelişimi doku ve organların sistemleşmelerini sağlar. Bunlar dışında IL-1,6 (interlökin), CSF (Koloni stimulan faktör) ve IGF-I,II (İnsuline benzer büyüme faktörü), FGF (Fibroblast büyüme faktörü), NGF (Sinir büyüme faktörü), EGF (Epidermal büyüme faktörü), CDGF (Kondroblast kaynaklı büyüme faktörü), MDGF (Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü), ECGF (Endotelial hücre büyüme faktörü) bulunur (39)

B. İnorganik Matriks (Mineral faz)

Kemiğin kuru ağırlığının 2/3 ni kemik minerali oluşturur (40). Bu mineraller kalsiyum, fosfat, karbonat, sodyum, potasyum, manganez ve floridden oluşur (5,34). Bu mineraller kollojen fibrillerinin arasında ve içinde iğne, plak, çubuk, şeklinde küçük kristaller oluştururlar. Bu kristal yapısı kalsiyum hidroksiapatit [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] olarak isimlendirilir. Kristallerin boyu 20-80nm, eni 2-5nm dir. Hidroksiapatit içinde bazen fosfat grubu yerine karbonat, hidroksil grubu yerine de klor ve flor bulunabilir. Bu değişimler kristalin çözünübilirlik gibi fiziksel özelliklerini değiştirebilir (40). Hidroksiapatit yüzeyindeki iyonlar suya doyurulduğu için kristalin etrafında su ve iyonlardan oluşmuş bir tabaka bulunur. Hidrasyon kabuğu denilen bu tabaka ile vucut sıvıları ile iyon dengesi sağlanır (41). İnorganik komponent kemiğin kompresif yüklere direncini sağlar (5).

2.1.5 Kemik Dolaşımı

A. Anatomi

Bir organ olarak kemikler kardiyak çıkışın %5-10' unu alır. Uzun kemikler 3 kaynaktan beslenir;

a.Besleyici arter sistemi, Besleyici arterler ana sistemik arterlerden dallanır. Diafizyal kortekse nutrient forameninden girerler ve sonra medüller kanala girerek inen ve çıkan küçük arterlere dallanırlar. Bu damarlar endosteal kortekste arteriollere dallanırlar ve haversian sistemi içindeki damarlar aracılığıyla matür diafizyal korteksin iç yüzünün en az üçte ikisini

beslerler. Besleyici arter sistemi yüksek basınçlıdır.

b. Metafizyal- epifizyal sistem , Periartiküler vasküler pleksustan doğarlar.

c. Periosteal sistem, Primer olarak matür diafizyal korteksin en çok dış üçte birini besleyen kapillerlerden oluşur. Periosteal sistem düşük basınçlıdır.

B. Fizyoloji

a. Akımın yönü; Matür kemikteki arteryel akım yüksek basınçlı besleyici arteryel sistemin ve düşük basınçlı periosteal sistemin net etkisinin bir sonucu olarak sentrifugaldir (içten dışa doğru). Endosteal sistemin bozulduğu tamamen deplase bir kırıkta basınç gradienti tersine döner. Periosteal sistem basıncı baskın hale gelir ve kan akımı sentripedal hal alır (dıştan içe doğrudur). Gelişmekte olan immatür kemikte arteryel akım sentripedaldir. Çünkü periost yüksek oranda vaskülarizedir ve kemik kan akımının baskın bileşenidir. Matür kemikte venöz akım sentripedaldir. Kortikal kapillerler daha sonra boşaltıcı venöz sisteme drene olan venöz sinuzoidlere drene olurlar.

b. Kemik sıvı bileşenleri;

| | |
|-----------------------|------|
| Ekstravasküler | %65 |
| Haversiyan | %6 |
| Laküner | %6 |
| Kırmızı kan hücreleri | %3 |
| Diğer | %20, |

c. Kemik kan akımındaki fizyolojik durumların etkileri;

| | |
|--------------|---------------|
| Hipoksi | Akımı artırır |
| Hiperkapni | Akımı artırır |
| Sempatektomi | Akımı artırır |

C. Kırık iyileşmesi sırasında kan akımındaki değişimler; Kemik kan akımı kırık iyileşmesinin ana belirleyicisidir. Kemik kan akımı ana besinleri kemik yaralanması olan yere getirir. Kırık bölgesinde oluşan damar yaralanmasına bağlı olarak gelişen ilk tepki kemik kan akımında bir azalmanın olmasıdır. Saatler yada günler içinde kemik kan akımı artar. İki

haftada zirve yapar ve 3-5 ayda normale döner. Oymasız intramedüller çivilerin en büyük avantajı endosteal kan akımının korunmasıdır. Gevşek oturtulmuş çiviler kortikal perfüzyonu korur ve kanalı dolduran çivilere göre daha hızlı reperfüzyon sağlarlar. Kanalin oyulması korteksin iç %50-80'ini devaskülarize eder. Bu endosteal kan akımının revaskülarizasyondaki gecikmenin en önemli sebebidir.

D. Düzenleme; Kemik kan akımı metabolik, humoral ve otonomik girdilerin kontrolü altındadır. Kemiğin arteryel sisteminin oldukça önemli bir vazokonstrüksiyon ve daha az bir vazodilatasyon potansiyeli vardır. Kemik içindeki damarlar pek çok vazoaktif reseptör içerir. Bu reseptörler gelecekte kemik kanlanmasıdaki bozukluklara bağlı gelişen kemik hastalıklarının farmakolojik tedavisinde faydalı olabilir (42).

2.1.6. Kemiği Çevreleyen Dokular

A.Periost

Eklem yüzleri hariç kemiklerin dış yüzeyini örten osteojenik bağ doku yapısına periost denir. Dış ve iç olmak üzere iki tabakadan oluşur.

Dış tabaka fibroblast, kollojen ve elastinden zengin yoğun fibröz bir tabakadır. Periostun kemik matriksi ile olan bağlantısı kollojen liflerden oluşmuş Sharpey lifleri ile sağlanır.

Periostun kemiğe bakan iç yüzü mikrovasküler açıdan ve hücre sayısı bakımından daha zengindir. Kambium da denilen iç tabakada osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, fibroblastlar, sempatik sinirler bulunur (27,43).

Periostal hücreler kemik çapının arttırılmasında matriks sentezleyerek, kırık iyileşmesinde ise hyalin kırıkda sentezleyerek ekstraosseöz kallus oluştururlar(5). Periostun kalınlığı ve hücre sayısı çocuklukta fazla iken, yaş ilerledikçe azalır (5,35).

B.Kemik iliği

Öncü hücrelerin kaynağıdır, kemiğin iç çapını kontrol eder.

a- Kırmızı ilik hematopoetiktir (%40 su,%40 yağ, %20 protein). Yaşlanmayla birlikte kırmızı ilik önce apendiküler islelette (ekstremitelerde) sonrada aksiyel iskelette sarı iliğe dönüşür.

b- Sarı ilik inaktiftir (%15 su, %80 yağ, %5 protein)(44).

2.1.7. Kemik oluşumu tipleri

A. Enkondral kemik oluşumu

Embriyolojik yaşamdan büyüme tamamlanıncaya kadar iskeletin kıkırdaktan oluşmuş kısımlarının kemik yapıya dönüşmesi olayına endokondral kemikleşme denir. Doğum sonrası stabil olmayan kemik kaynaması da aynı yolla olur (6,35,45).

Osteoprogenitör hücreler kıkırdak matriks salgılar ve kondrositlere dönüşürler. Hyalin veya hyalin benzeri çoğunlukla tip II kıkırdak oluşumu görülür. Bunu kıkırdağın mineralizasyonu ve vaskülarizasyonu takip eder. Vaskülaritenin artışıyla hücreler kıkırdağın rezorbsiyonuna başlar. Rezorbe olan kıkırdağın ortasında medüller boşluk oluşur. Hematopoetik kemik iliği bu alanda gelişir. Osteoprogenitör hücreler kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayacak olan osteoblastlara dönüşür. Sonraki aşamada ise immatür kemik ve kalsifiye kıkırdak karışımı osteoklastlarca rezorbe edilerek yerine osteoblastlarca matür kemik dokusu oluşturulur (45). Enkondral kemik oluşum örnekleri; embriyonik uzun kemik oluşumu, uzun kemiklerin boyuna büyümesi, demineralize kemik kullanılarak oluşan kemik (44).

B. Embriyonik uzun kemik oluşumu

Genellikle intrauterin 6. haftada mezenşimal taslaktan oluşur. Enkondral kemik oluşumu embriyonik uzun kemik oluşumundan sorumludur. Yaklaşık 8. haftada mezenşimal modeli vasküler tomurcuklar işgal ederek osteoblastlara dönüşen ve primer kemikleşme merkezlerini oluşturan osteoprogenitör hücreleri getirirler. Kıkırdak modeli büyümesi apozisyonel ve intersitisyel büyüme ile olur. Kıkırdak taslağının merkez kısmının kapiller tomurcuklarla gelen miyeloid öncü hücrelerce rezorbsiyonu sonucunda kemik iliği oluşur. Kemik uçlarında sekonder kemikleşme merkezleri oluşur ve bunlar immatür kemiklerin uzunlamasına büyümesinden sorumlu olan epifizyal büyüme merkezlerini meydana getirir. Bu büyüme süreci sırasında epifizyal arter, metafizyal arterler, besleyici arterler ve perikondral arterlerden oluşan zengin bir arteriyel kaynak vardır (46).

C. İntramembranöz kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme kıkırdak bir model olmadan kemik oluşumudur (47). İntramembranöz kemikleşmenin olacağı bölgedeki mezenkim hücrelerinden fibroblastlar gelişerek kollojen sentezlerler. Fibriller yapıdaki kollojenin membran yapısı oluşturmasından dolayı bu adı almıştır.

Bu membran içindeki mezenkim hücrelerinden osteoblastlar farklılaşır. Osteoblastlar

oganik matriks sentezine başlarlar. Bir kısım osteoblast, sentezlenip kalsiyum yoğunluğu artmış olan matriks içinde kalarak osteosite dönüşür. Kemikleşmenin başladığı bu ilk yapı primer kemikleşme merkezi olarak adlandırılır. Bu merkezlerin histolojik görünümüne spikül (iğnecik) adı verilir. Spiküller aralarında kapiller ve diğer hücrelerin bulunabileceği ağı yapı oluştururlar. Bu ağı alanda kemik iliği gelişir (48).

Büyüme tamamlanıncaya kadar kafatası sürekli genişlemektedir. Çap artışının sağlanması için kemiğin iç yüzeyinde konumlanmış osteoklastların kemik rezorpsiyonu yapması, dış yüzeyinde yerleşen osteoblastların da bu oranda sentez yapması gerekmektedir (49).

Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri periost ve endostunu oluştururlar. Distraksiyon osteogenezisinde de kemikleşme aynı mekanizma ile olur. Kırık model olmaksızın kollojenin kalsifiye matrikse dönüşümü ile gerçekleşir (45,50).

D. Apozisyonel Kemik Yapımı

Kemiğin enine genişlemesi ve remodelasyonu bu şekilde olur. Periost ile çevrili kemiklerde, periost içindeki osteoblastlarca sentezlenen osteoid ile tabakalar halinde yeni kemik oluşumu gerçekleşir. Remodelasyonda da gerekli sahalarda osteoblastik aktivasyonla osteoid sentezi yapılır (45).

2.1.8. Kemik yaralanması ve tamiri

Dıştan ya da içten gelen kuvvetler sonucunda kemiğin anatomik bütünlüğünde bozulma olmasına kırık denir (51). Kırık oluştuktan sonra çeşitli fizyolojik olaylar silsilesi ile kemik bütünlüğü yeniden sağlanmaya çalışılır. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar bırakmadan aslına en yakın şekilde iyileşir (52,53,54). Kırık iyileşmesi kırığın olduğu andan itibaren başlar, kemik tekrar eski halini alıncaya kadar devam eder (51). Kırık iyileşmesinin 2 tipi vardır. Primer ve sekonder (55,56,57).

A. Primer kırık iyileşmesi

Kırık uçlarının tam redüksiyonu sonrası görülen iyileşme türüdür. Kallus oluşumu görülmez. Bu nedenle rejenerasyon, fibröz ve kondral iyileşme safhaları olmadan direkt kemik oluşumu görülür. Kırık hattında canlı osteojenik hücrelerden osteoklast ve osteoblast farklılaşması olur. Osteoklastlar havers kanallarını genişletirler. Osteoblastlarda genişleyen bu kanallara yerleşerek konsantrik lameller kemik oluştururlar. Periost reaksiyonu görülmez (58,59).

B. Sekonder kemik iyileşmesi

Kırık iyileşmesi kallus gelişimi ile olur. Embriyolojik kemik oluşumuna benzediği için enkontral kemikleşme de denir (60). Bu iyileşme sürecindeki her faz bir önceki ve bir sonraki fazla iç içedir (1,60).

Cruess ve Dumart' a göre sekonder kırık iyileşmesi 3 evrede oluşur (62).

- Enflamasyon
- Onarım
- Yeniden şekillenme (Remodeling)

Enflamatuar dönem

Akut inflamasyon hücrelerinin kırık bölgesine yayılmasından dolayı bu isim verilmiştir (63). Birkaç gün süren bu dönemde sırasıyla vazokonstriksiyon, vazodilatasyon, pıhtı oluşumu, fagositoz, yeniden damarlanma ve granülasyon dokusunun oluşumu görülür (62). Birkaç gün sürer. Kırık oluştuktan sonra periost ve endost yırtılmış, bölgeyi çaprazlayan kan ve lenf damarları hasarlanmıştır. Hasarlı dokulardan açığa çıkan sıvılar neticesinde hematoma meydana gelir. Bu hematoma çevre yumuşak dokularca sarılır. Hematomun içi hipoksik ve asidiktir. Trombositlerce kanama durdurulur ve nekrotik pıhtı oluşturmak üzere fibrin depo edilir (64,65). Nekroz oluşmaya başladıkça ortama kalsiyum salınmaya başlar. Kırık bölgesindeki osteoblast ve osteositler ölür. Kırık uçları rezorbe olmaya başlar. İlk birkaç saat içinde oluşan fibrin ağı üzerinde osteojenik hücre proliferasyonu başlar.

Onarım dönemi

Onarım evresi enflamatuar evrede oluşan hematoma organize olmasıyla başlar. Organize hematoma kallusa dönüşümü ile devam eder. Kırık hematoma içindeki öncü hücreler lokal uyarıların etkisiyle fibroblast ve diğer hücrelere farklılaşırlar. Bu sayede hematoma organize olmaya başlar. Farklılaşma sonrası oluşan osteoblast ve kondroblast gibi hücrelerin aktiviteleri lokal ve sistemik mediatörlerce kontrol edilir. Öncü yani osteoprogenitör hücreler vasıtasıyla hematoma artık oluşmuş ve daha stabil olan granülasyon dokusu gelişmiştir (33,59,61,66)

Periostun derin tabakalarında hızla gelişmeye başlayan osteoprogenitör hücreler hacimce artıp periostun kemikten ayrılmasına neden olur. Osteojenik hücreler hızla çoğalırken kapiller tomurcuklanmada buna eşlik eder. Kapiller tomurcuklanmaya öncülük eden periostal damarlardır. Osteojenik çoğalma kapasitesi damarlanma hızından daha fazla olduğu için periosta uzak kısımlardaki hücreler iskemik kalır. İskemik bölgede hücre farklılaşması

kondrosit yönünde olduğu için kallusun çevresi kırıkta matriks ile sarılır. Periosta yakın kısımlarda ise osteoblastlar osteoid sentezlerler (59,61,66,67).

Kallus oluşuktan sonra mineralize olmaya başlar. Osteoblastlarca matriks vezikülleri salgınır. Bu veziküllerde lipid, yoğunlaşmış kalsiyumfosfat, alkalenfosfataz, alkalen adozintrifosfat ve profosfataz enzimleri bulunur (33,48,66,68,69,70).

Kalsifikasyonu inhibe eden profosfatlar, profosfataz ile parçalanır ve mineralizasyon başlar. Kalsiyumun çökmesi için gerekli fosfat alkalenfosfataz aracılığıyla sağlanır (58,71).

Organik matriks içinde bu veziküller parçalanır. Vezikül içindeki kalsiyum konsantrasyonunun artışıyla kristalizasyon oluşur. Büyüyen hidroksiapatit kristalleri vezikülü parçalayarak matrikse dağılır (48).

Kallusun kalsifiye olması sonrası matriks içinde kalan osteoblastlar osteosite dönüşerek trabeküler ağı yaparlar. Bu dönüşüm arttıkça trabeküller genişler. Bu iyileşme şekli intramembranöz kemikleşmedir (33, 48,66,69).

Kırıkta doku içinde alkalenfosfataz salgılanmasıyla matriks kalsifiye olur. Kondrositler diffüzyonla beslendikleri için bu kalsifiye ortamda yaşayamazlar. Kondroklastlar bu ölü kondrositleri sindirir ve lakün adı verilen boşluklar oluşur. Bu laküner boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girer. Kalsifikasyon olmadan yeni damar oluşumu olmaz. Osteoblastlar bu boşluklarda osteoid sentezlemeye başlarlar (72).

Yeniden Şekillenme

Kırık uçları kallus ile sıkıca stabil hale getirildikten sonra sıra bu tamir dokusunun fazlalık kısımlarının resorbe edilmesine gelir. Bu iyileşmenin en uzun dönemidir. Yıllarca sürebilir. Kemik uçları arasındaki stres aktarım yolundaki trabeküler kemik yerini kompakt kemiğe bırakır. Bu değişim aktivasyon , rezorbsiyon ve formasyon şeklinde sıralanabilir.

Osteoblastlar PTH tarafından uyarılınca kemiğin belirli bölgesinden çekilirler ve bu boşluklara osteoklastlar yapışır (73). Rezorbsiyon yaptıktan sonra yerlerini tekrar osteoblastlara bırakırlar (74).

Kemiğin eski şeklini almasında Wolf kanunu olarak bilinen histolojik değişimlerin rolü vardır. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks tarafı pozitif, konkav tarafı ise negatif yüklenir. Bu olay piezoelektriksel yüklenmedir. Pozitif yük osteoklastları uyararak kemik resorbsiyonunu, negatif yük osteoblastları uyararak kemik sentezini artırır.

Hueter- Volkmann yasası mekanik faktörlerin uzunlamasına büyüme, kemik

remodelizasyonu ve kırık onarımını etkileyebildiğini öne sürer. Kompresif kuvvetler büyümeyi engeller ve tensil kuvvetler büyümeyi uyarır (75).

2.1.9. Kırık kaynamasına etkili faktörler

Kırık iyileşmesi fazları mediatör mekanizmalar aracılığı ile kontrol edilir. Bu mediatörlerin seviyesi ve aktivitesini değiştiren lokal ve genel çeşitli faktörler vardır (52, 67,76).

A. Lokal Faktörler

Travmanın derecesi ve etkisi

Travmanın şiddetine bağlı olarak kemik ve yumuşak doku hasarı oluşur. Hasarın büyüklüğüne bağlı olarak oluşan nekrotik doku miktarı iyileşme için gerekli mezenkimal hücre göçü ve vasküler invazyon için bir engel oluşturur (39).

Açık kırıklarda hematoma dışarı boşalması ve enfeksiyon riskinden dolayı kaynama olumsuz etkilenir (35,76).

Kırık uçlarının birbirine göre konumu

Kırık uçları birbirinden ne kadar uzaksa kaynama da o oranda yavaş olur. Çünkü kırık uçları arasındaki kallusun kanlanması periosttan kaynaklanan yeni damarların gelişmesiyle mümkündür (77).

Kırık kemik uçları arasına yumuşak doku girmesi de kaynamayı geciktiren bir faktördür (35).

Kırık yerinin kanla beslenmesi

Aşırı cerrahi diseksiyon ile kanlanması bozulan ve kanlanması sınırlı olan kemiklerin (skafoid, talus, tibia distal 1/3' i) kaynaması daha geç olur (35,76).

Kırılan kemiğin türü

Kırılan kemiğin spongios yada kortikal olması da kaynamayı etkiler. Spongios kemik yüzey alanı fazla, hücresel bakımdan zengin ve kanlanması iyi olduğu için daha kolay iyileşir(49).

Kırığın şekli

Segmenter kırıklarda intramedüller kanlanma da etkilendiği için kaynama daha geç olur (78).

Eklem içi kırıklarda çoğunlukla açık redüksiyon gerektiği için lokal kanlanma bozulur.

Eklem sıvısının enzimatik içeriği de bu tür kırıklarda kaynamayı olumsuz etkileyen bir diğer nedendir (35,76).

Spiral ve oblik kırıklarda kaynama yüzey alanı geniştir, kaynama hızlıdır. Bu kırıklarda damarlar aynı seviyede yaralanmadığı için beslenmede transvers kırığa göre daha iyidir (77).

Enfeksiyon

Kırık hattında enfeksiyon olması iyileşme hücrelerinin beslenmesini engeller. Ortamda oluşan nedbe ve fibröz doku iyileşmeyi geciktirir (41).

Yerel patolojik koşullar

Kemiğin mukavemet yeteneğinin kaybolmasına bağlı olarak küçük bir travma ile kırık oluşabilir. Bu tip patolojik kırıklara; dejeneratif, metabolik, enfeksiyon, radyoterapi ve tümör sonrasında rastlanır. Kemikte enfeksiyon yada maling tümör olduğunda iyileşme hücreleri gerektiği şekilde görev yapamazlar. Bu gibi patolojik kırıkların tedavisinde öncelik altta yatan nedeni ortadan kaldırmaktır. Osteoporozun kırık kaynamasına olumsuz etkisi yoktur. Fakat temas yüzeyi azlığı nedeniyle ve kemik kalitesine bağlı fiksasyon kaybından ötürü kaynama geç olur (35,76).

Radyoterapi kemik iyileşmesini olumsuz etkiler. Işınlama sahasında hücre ölümü, damarlarda tromboz, kemik iliğinde fibrozis oluşturması nedeniyle iyileşme gecikir yada durur (79).

B. Genel Faktörler

Yaş

İskelet gelişimi tamamlandıktan sonra yaş ile kırık kaynaması arasında bir bağlantı kalmaz. İnfantlardaki kaynama hızı adölesanlara, adölesanlardaki kaynama hızı ise erişkinlere göre fazladır. Bunun nedeni yeni damar oluşum hızının ve farklılaşmamış mezenkimal hücre sayısının fazla olmasıdır (53).

Genel durum

Diyabet, raşitizm, anemi, tüberküloz gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar) hiperemi nedeniyle kalsiyum tuzlarının çözülmesini etkiler. Artan lökositlerce salınan proteolitik enzimler matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller. Dolaşım sistemi hastalıklarındaki hiperemi kemikleşmenin azalmasına ve osteoporoza neden olur (53).

Yapılmış hayvan deneylerinde insülinin kemikteki kollojen sentezini uyarıcı etkisinin olduğu gösterilmiştir. Diyabetiklerde encondral kemikleşme sırasında mezenkimal hücre gelişmesinin inhibe olduğu ve kırık oluşumunun geciktiği bildirilmiştir (39).

Beslenmede kırık iyileşmesini etkiler. Doku yapımı için protein ve sentez işlemi içinde enerji gereklidir. Tek bir uzun kemik kırığının iyileşmesi metabolizmaya %20-25 enerji yükü getirir (83). Travmalı bir hasta diyetinde normalden daha fazla karbonhidrat ve protein tüketmelidir.

Hormonlar

PTH vücutta kalsiyum dengesini sağlayan temel hormondur. Kemik rezorpsiyonunu , böbrekten kalsiyum geri emilimini ve böbrekte kalsitrol yapımını artırarak serum kalsiyum düzeyini korur. Aralıklı verildiğinde kemik yapımını uyarır, ancak yüksek konsantrasyonda kollojen yapımını baskılar. Devamlı verildiğinde osteoklastlar aracılığı ile kemik yıkımını artırır (84). PTH nun osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyararak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. PTH kemikteki rezorpsiyon etkisini osteoblastlar üzerinden gösterir. İnaktif osteoblastlar PTH sayesinde aktif hale gelerek kemik yüzeyinde osteoklastların yapışabilecekleri bir boşluk hazırlarlar (53,85).

Kalsitonin özellikle tiroidin parafoliküler-C hücrelerinde sentez edilir. Kalsitoninin en önemli etkisi plazma Ca^{+} konsantrasyonunu düşürmektir. Ekstrasellüler Ca^{+} düzeylerindeki artış kalsitonin sekresyonunu uyarır. Paratiroid hormonunun etkilerine zıt yönde çalışır. Bu da osteoklastik aktiviteyi ve kalsiyumun kemikten mobilizasyonunu inhibe eder. Kemik yapımını artırır (53,76,85).

İnsülin anabolizan bir hormondur. Kollojen yapımını artırır. Somatomedin reseptörleri üzerinden indirekt yolla kemik formasyonuna katkıda bulunur (26,86).

Büyüme hormonu, büyüme ve gelişmeyi protein sentezi ve büyüme hızını artırarak yapar. Kemik formasyonuna katkı sağlar. Kallusun hacminin artmasını sağlar (67,76).

Kortikosteroidler, kırık iyileşmesini geciktirirler. Bu etki osteoblast gelişiminin yavaşlamasına ve matriks protein sentezinin azalmasına bağlıdır. Kallusun oluşumunu yavaşlatır, somatomedin sentezini inhibe ederler (53,76). Ayrıca PTH reseptör sayısını ve G protein miktarını artırarak PTH na duyarlılığı artırır. Sonuçta kemik yıkımında artış olur (87).

Gonodal steroidler, her iki cinsin kemik gelişiminde ve bütünlüğünün sağlanmasında etkilidir. Östrojen epifiz kapanması için mutlak gerekli iken, androjenler kas gücünü artırarak

yada dolaylı olarak kemik yapımını uyararak etkili olurlar. Menapoz sürecinde azalmış östrojen seviyesi sonucunda kemikte rezorbsiyon artışı olur. Bu etkide östrojen reseptörü taşıyan osteoklastların bir rolü olabileceği düşünülmektedir (85,87).

Kalsitriolün görevi barsaktan kalsiyum ve fosfor emilimini artırarak kemik mineralizasyonuna katkı sağlamaktır. Yüksek konsantrasyonda ve kalsiyum-fosfor eksikliğinde ise , kemik yıkımını artırır. Osteoblast aktivitesi kalsitriol tarafından direkt stimüle edilir. Osteoblastların bölünmelerini ve diferansiye olmalarını sağlar (24,87).

Tiroid hormonları, hem kemik yıkımı, hem de yapımını uyarır. Hipertiroidide kemik döngüsü artar ve kemik kaybı gelişir. Kemiğin yeniden şekillenmesinde de etkilidir (53,87).

Vitaminler

A vitamini, mezenkimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Osteoblastların düzenlenmesinde ve osteoklastların aktivitesinin sağlanmasında etkilidir. Eksikliğinde kemik oluşumu engellenir, epifizyel kıkırdak hücreleri büyümesi ve gelişmesi azalır, encondral büyüme durur. A vitamini fazlalığında ise hücre farklılaşması yavaşlar, kıkırdak kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara farklılaşma uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir (26,53).

C vitamini, kollajen sentezine katkısından dolayı kemik iyileşmesini olumlu etkiler (80).

D vitamini normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. Böbreklerden kalsiyum ve fosfat geri emilimini artırır. Dolaylı olarak barsaklardan fosfat emilimini artırır, matriks mineralizasyonunu kolaylaştırır. Kalsiyumun kemikten kana geçişini artırır bu etkisi PTH varlığında belirgindir. D vitamini eksikliğinde Ca^{+} düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. Kemik hücreleri ve diğer bazı dokularda sitrat konsantrasyonunu artırır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Aşırı dozda olumsuz etki eder (53).

İlaçlar

Antikoagülanlar kırık iyileşmesini, mekanik olarak pıhtı oluşumunu engelleyerek ya da bölgedeki hücre sayısını değiştirip aktivitelerini etkileyerek geciktirirler.

Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar ossifikasyonu; prostoglandin inhibisyonu sonucunda lokal kan akımını azaltarak veya primitif osteoblastların fonksiyonunu engelleyerek geciktirirler. Yüksek dozlarda indometazin kırık iyileşmesini durdurduğu bilinmektedir .

Antibiyotikler, hücresel ve matriks dejenerasyonunu azaltır, kollajen yapımını etkiler ve bunun sonucu olarak da bükme kuvvetlerine karşı dirençte azalma meydana getirir.

Dikumoral, kondroidin sülfat ve hyolüronidaz; kırık iyileşmesine yardım eder. L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (53,76,85).

Diğer etkenler

Redüksiyon yapılmış olan kırıkta oluşacak ikincil hareketlenmeler yeni oluşmuş damarların parçalanmasına ve kırık kallusunun kanlanması bozulmasına sebep olur. Aynı zamanda kemikleşme sırasında oluşan fibrin köprülerin de bu hareketle zarar görmesi iyileşmeyi geciktirir (48).

Kırık bölgesindeki sinir harabiyetinin kaynamayı olumsuz etkilediği gösterilmiştir (39).

Lokal olarak uygulanan elektriksel uyarım kaynamayı hızlandırabilir. Elektriksel alan hücre proliferasyon ve sentez fonksiyonunu hızlandırarak kaynamayı olumlu etkiler (80).

Düşük doz lazer uygulanmasının biokimyasal, radyolojik, morfolojik ve ultrastrüktürel olarak kırık kaynamasını olumlu etkilediği hayvan deneylerinde gösterilmiştir (81).

Düşük şiddette ses dalgalarının kaynamayı hızlandırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu kaynama hızlanması hem taze kırıklarda hem de kaynaması gecikmiş kırıklarda gözlenmiştir (39).

İyi tespit edilmiş kırıklara erken ve kontrollü yük verme kırık iyileşmesini uyarıcı etki gösterir. Bunun nedeni olarak prostoglandin E₂ miktarının artması ve kan dolaşımına olan etkisidir (39).

Vücut dışında çoğaltılmış mezenkimal kök hücrelerin vücuda ekildiklerinde ektopik osteokondrojenik potansiyele sahip oldukları gösterilmiştir (82).

Basıç altında oksijen solunması (2-3 atmosfer/günlük 2 saat) kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Daha uzun süre solunması iyileşmeyi geciktirmektedir. Bu etkisi kanda oksijenasyonun üst düzeye çıkması sonrası kapiller damar gelişiminin ve kollojen yapımının artmasıyla sağlanır (76,88).

2.2. Amnion Zarının Özellikleri

Sert sağlam ve genellikle avasküler yapıdadır. Amniotik sıvı ile temasta ve dolayısıyla fetüse en yakın membrandır (89). İç yüzeyi düzdün ve kaygandır. Normal koşullarda korionun tamamını, plasenta plağını, kordonu döşer (90). Yaşamın erken döneminde fetusu oluşturan iç hücre kitlesi ile trofoblastlar arasında bir boşluk oluşur. Bu boşluğu çevreleyen hücreler amnion zarını oluştururlar ve bu boşluk da büyüyerek amniotik kaviteyi oluşturur.

Amniotik zarın gelişimi gebeliğin çok erken dönemlerinde (7-8. günlük embriyoda) izlenmektedir (89). Şekillenmiş embriyonun dorsal yüzeyinde ortaya çıkar. Amnion membranının mitotik aktiviteyle belirlenen büyümesi yaklaşık 28. haftaya kadar sürer. Mitotik aktivite durduktan sonrada amniotik kese büyümeye devam eder. Bu büyüme mitoz durduğu için mevcut hücrelerin gerilmesiyle sağlanır.

Makroskobik olarak çok ince, tek bir yapı olarak izlenmesine rağmen 5 tabakadan ibarettir.

- 1- Küboidal epitel tabakası (en iç kısım)
- 2- Bazal membran
- 3- Kompakt tabaka (kollojen I, III ve IV den oluşur)
- 4- Mezenkimal hücre tabakası
- 5- Spongioz tabaka (en dışta bulunur korion lave ile ilişkilidir)

Amnion epitelyal hücrelerinin embriyonik disk ektoderminden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Bu hücreler amniotik zarın iç kısmını desteklemektedirler. Epitel hücre yüzeyinde bulunan mikrovilluslar amnion sıvısının hücrelere transferinde görev alır (91). Amnion membran epiteli, altındaki bazal membrana hücre uzantıları ve hemidesmozomlarla bağlanır. Kompakt tabaka zarın esneklik ve sağlamlığından sorumludur. Mezenkimal tabakada fibroblast benzeri hücreler vardır. Bu hücreler kompakt tabakanın ihtiyacı olan kollojeni ve ayrıca IL-6, IL-8 ve MCP-1 (monosit kemoaktan protein) gibi sitokinleri sentezlerler. Bu sitokinler antibakteriyel aktivitenin sağlanmasında görev yaparlar (91).

Amnion zarı sadece fetüsü koruyan bir yapı değildir. Amnion sıvı içeriğinin dengesinden de sorumludur (91). Aynı zamanda metabolik olarak da aktiftir. Sitokin , vazoaktif peptid ve büyüme faktörlerinin üretimi de mevcuttur. Vazoaktif peptidler için endotelin 1 ve PTH benzeri protein sentezi örnek oluşturur (89).

Amnion zarının aktivitesini öğrenebilmek adına çalışmalar yapılmıştır. Amnion zarının

subkutan dokuya implante edildiği bir çalışmada, mezenkimal tabakanın konakçıya bakan yüzeyinde tüm olgularda sıvı toplanması olduğu görülmüştür. Bu amnion hücrelerinin aktif sekresyon yapabildiklerini gösteren bir çalışmadır. Bu hücreler içerdikleri adenozin trifosfataz enzimi sayesinde aktif sodyum geri Emilimi yapabilmektedirler (92).

İnsan amniotik epitel hücreleri yüzeylerinden HLA-A, B, C, DR antijenleri ve β_2 mikroglobulini geçirmezler. Yapılan bir çalışmada gönüllü kişilerin subkutan dokusuna amnion zarı implante edilmiş. İzlenen günlerde akut rejeksiyona rastlanmamış. Olgulara bir ay sonra yapılan serum immunofloresans çalışmada amnion hücrelerine karşı herhangi bir in vitro reaksiyon saptanmamış. 7. haftada yapılan biopside amniotik epitel hücreleri görülmüş. Bu sonuçlar amniotik epitel hücrelerine karşı akut immun rejeksiyon gelişmediğini göstermiştir (93,94).

Sonuç olarak amnion zarının özellikleri;

- Esnek, sağlam biyolojik olarak aktif insan kaynaklı bir materyaldir.
- Ucuz, saklanabilen, temini ve hazırlanması kolay bir materyaldir
- Sitokin, vazoaktif peptid ve büyüme faktörleri salgılar
- Amnion zarına karşı immun reaksiyon gelişmemektedir
- Uygulandığı ortamda antimikrobik özellik göstermektedir ve enflamasyonu baskılamaktadır.

2.2.1. Amnion Zarının Cerrahide Kullanımı

Amnion zarı ilk defa deri defekti tedavisinde Davis adlı araştırmacı tarafından 1910 yılında kullanılmıştır. Bundan 3 yıl sonra Stern ve Sabella ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda cilt defekti olan hastaları amnion zarı ile tedavi etmişler. Sonuç olarak epitelizasyonun hızlı olduğunu, hastaların ağrılarının azaldığını ve enfeksiyon gelişmesini önlediğini bildirmişlerdir (95,96,97).

Amnion membranı yapay vajina oluşturmak için kullanılmıştır. Sonuçları tatmin edici bulunmuştur. Ameliyattan 9 ay sonra alınan epitel örneklerinde normal vajen sitolojisi görülmüştür (98).

Amnion membranı bir takım işlemlerden geçirildikten sonra cansız bir materyal (amnioplastin) şeklinde kafa travmalı hastalarda oluşabilen meningeserebral yapışıklıkların önlenmesinde kullanılmıştır (99).

İlerleyen yıllarda enterokutanöz fistül nedeniyle ameliyat edilen hastanın ince barsak defekti amnion zarı ile başarılı bir şekilde onarılmıştır (98).

Troensegaard-Hansen yaptıkları çalışmada periferik vasküler hastalık nedeniyle oluşmuş bacak ülserlerinin tedavisinde amnion zarı kullanmışlardır. 1. ve 2. derece ülserlerde başarılı sonuçlar almışlardır (100,101).

Amniotik membranın post operatif yapışıklıkları önlemek için kullanıldığı çeşitli çalışmalar vardır. Trelford- Sauder'in ratlarda yaptıkları çalışmada; barsak perforasyonu ve bakteriyel kontaminasyon sonrası kontrol grubuna göre amnion zarı uygulanan grupta yapışıklık daha az görülmüştür (102,103).

Amnion zarı gastroşizis ve omfolosel tedavisinde biyolojik örtü olarak kullanılmıştır. Seashore JH ve arkadaşlarının 16 yenidoğanda yaptıkları çalışmada amnion zarını biyolojik örtü olarak başarıyla kullanmışlardır (104,105).

Amnion zarı ayak ülserlerinin tedavisinde kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (98,106).

Göz hastalıklarının tedavisinde; yanık sonrası oküler yüzey rekonstrüksiyonunda (107), semblefaronla birlikte olan nüks pterjiumların tedavisinde (108), konjonktiva yüzey rekonstrüksiyonunda (109), ülserasyonla birlikte olan dirençli epitel defektlerinde (110), pterjium eksizyonu sonrası primer kapama ve konjonktival otogrefte alternatif olarak (111), limbal kök hücre yetmezlikli hastalarda kornea rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır (112).

Kalça tüberkülozu sonrası gelişmiş olan eklem dejenerasyonunda amniotik artroplastisi şeklinde yeni yüzey alternatifi olarak başarıyla kullanımı bildirilmiştir (113).

Deneysel çalışmalarda tendon ve sinir iyileşmesinde kullanılmıştır. İyileşme sonrası görülen yapışıkların azaldığı tespit edilmiştir (114,115).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız deneysel bir çalışma olup S.Ü Meram Tıp Fakültesi Hastanesi, S.Ü Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi ve S.Ü Mühendislik-Mimarlık Fakültesi' nde yapılmıştır. Bu çalışma Selçuk Üniversitesi (S.Ü) Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden 20.10.2006 tarihinde, 2006/31 sayılı Deney Hayvanları Etik Kurul onayı ve S.Ü Meram Tıp Fakültesi Dekanlığından 2006/131 Karar sayılı Etik Kurul onayı alınarak yapılmıştır.

Çalışmamız insan amnion zarının kırık iyileşmesine olan etkisini araştırmak için ratlar üzerinde yapılmıştır. Otuz adet rat herhangi bir cerrahi müdahale yapılmadan mekanik teste kullanılmak üzere grup III (kontrol grubu) olarak ayrılmıştır. Geriye kalan 120 adet rat 60 aralık iki gruba ayrılarak sağ femurlarına cerrahi işlem uygulanmıştır. I. Gruba açık osteotomi ve K teli ile tespit yapıldı. II. gruba ise tespit yapıldıktan sonra kırık hattına insan amnion zarı sarıldı. Her iki gruptan 1, 5 ve 9. haftalarda 9 adet rat randomize edilerek histolojik ve radyolojik inceleme yapıldı. Çalışmanın sonunda her iki gruptan geriye kalan ve başlangıçta ayrılan ratlara mekanik test uyguladı. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırdı.

3.1 Amnion Zarı Hazırlanması

Amnion zarının alınması için önceden Hepatit B, Hepatit C, sifiliz ve HIV enfeksiyonu yönünden seronegatif olduğu bilinen gebeler seçildi. S.Ü Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalındaki sezeryanları takiben plasentalar steril şartlarda alındı. Amnion zarı steril şartlar altında koriondan dikkatlice sıyrıldı. Bu amnion zarı literatürde belirtildiği üzere steril salin solüsyonu ile yıkanarak kanlarından temizlendi. %10'luk gentamisin sülfat solüsyonunda dört saat bekletildikten sonra kullanıldı (114).(Resim 3.1)



Resim 3.1

3.2 Denekler ve Anestezi

Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde ağırlıkları 200gr (+/- 20 gr) arasında değişen normal aktiviteye sahip, 150 adet dişi Sprague Dawley cinsinde rat kullanıldı. Denekler ortama alışmaları için çalışmaya başlamadan önce, bir hafta boyunca standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz – 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20 +/- 1 derece oda ısısı, %50 +/- 5 rölatif nem, oda hava değişimi saatte 15 kez) tutularak ortama alışmaları sağlandı ve aditibitum (ihtiyaçları kadar) su (çeşme suyu) ve yem (Purina optima YEM, BOLU) verildi. Tüm hayvanların sağ femurları çalışmaya alındı. Kontrol grubu dışında kalan hayvanlara intraperitoneal 80mg/kg Ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç San. ve A.Ş. Lüleburgaz- Türkiye) verilerek genel anestezi uygulandı. Sonra hayvanlar randomize şekilde iki gruba ayrıldı.

3.3 Cerrahi İşlem

Çalışmaya toplam 150 adet rat ile başlandı. 30 rat mekanik test için kontrol grubu (Grup III) olarak ayrıldı ve hiçbir cerrahi müdahalede bulunulmadan çalışma sonunda mekanik teste tabi tutuldu. Geriye kalan 120 rat grup I için 60, grup II için 60 rat olacak şekilde randomize edildi ve cerrahi uygulandı. Anestezi uygulanan ratların sağ bacakları traşlandı. Povidon iyot çözeltisi ile silindi. Femur lateralinden longitudinal 2cm lik insizyon yapıldı. Kaslar künt diseke edilerek femur shaftına ulaşıldı. Kesici alet yardımıyla transvers şekilde osteotomize edildi. Kırık 1mm'lik K teli ile diz eklemi açılmadan intramedüller retrograd tespit edildi. K telinin dizde ve kalçada cildi rahatsız etmemesine dikkat edildi. Kırık hattında stabilitenin kontrolü yapıldı.

I. Grup ratların kırık hattına başka bir işlem yapılmadan 4/0 Wicril ile kas fasyası, 4/0 keskin ipek sütür ile de cilt kapaması yapıldı.

II. Grup ratların kırık hattına amnion zarı 360° saracak şekilde yerleştirildi. 4/0 Wicril ile kas fasyası, 4/0 keskin ipek sütür ile de cilt kapaması yapıldı.

Cerrahi işlem sonrasında tüm ratların kafeslerinde atelsiz serbest hareket etmelerine izin verildi. Her deneğe enfeksiyon profilaksisi amacıyla postoperatif bir doz 50mg/kg/gün 1. kuşak sefalosporin (sefazolin sodyum) İM olarak uygulandı.

Deney süresince; Bir rat (Grup I) birinci haftasında kafesinde ölü bulunduğu için ve 5 rat da enfeksiyon (Grup I: 1 adet, Grup II: 3 adet) veya fiksasyon kaybı (Grup II: 1 adet) nedeniyle değerlendirme dışı bırakıldı.

Her iki gruptan 1, 5 ve 9. haftalarda, 9 adet ratın (yüksek doz dietil eter anestezisinin irreversibl dönemdeki letal etkisi görüldükten sonra) sakrifikasyon işlemleri gerçekleştirildi.

| | 1.hafta | 5.hafta | 9.hafta |
|--------------------|---------|---------|---------|
| Grup I (Amnionsuz) | 9 | 9 | 9 |
| Grup II (Amnionlu) | 9 | 9 | 9 |

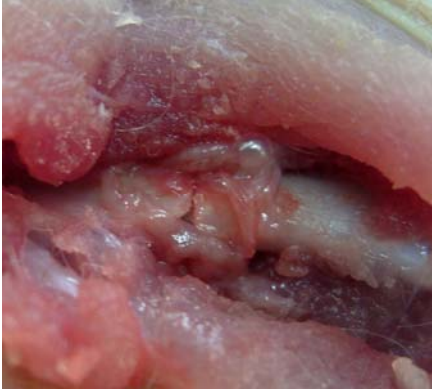
Tablo 3.1 : Opere edilen ratların sakrifikasyon haftaları ve sayıları



Resim 3.2 : İnsizyon ve osteotomi



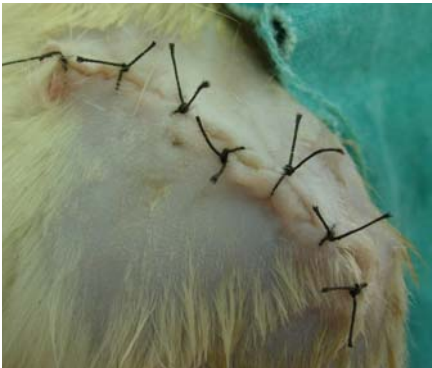
Resim 3.3 : İntramedüller tespit



Resim 3.4 : Amnion zarı sarılmış kırık hattı



Resim 3.5 : Kas fasiası kapatılmış



Resim 3.6 : Cildin kapatılmış son hali

3.4 Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan 144 adet ratın 18 tanesi ilk hafta, 18 tanesi 5. hafta ve 18 tanesinde 9. haftada kırık iyileşmesi açısından histolojik olarak Modifiye Lane-Sandhu histolojik skorlama

kriterlerine göre değerlendirildi. Bu skorlama sisteminde kaynama (proksimal ve distal), spongioz kemik, korteks ve kemik iliği ayrı ayrı değerlendirilerek, toplamda 0 - 20 aralığında skorlandı. Tablo 3.2 (116).

Sakrifiye edilen her denekten çevre yumuşak dokular temizlendikten sonra alınan femurlar, S.Ü Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda %10'luk nötral formolin solüsyonu içinde 48 saat saklandı. Daha sonra spesmenler %10' luk formik asit solüsyonu içinde dekalsifiye edildi. Yaklaşık bir hafta içinde dekalsifiye olan femurlar ototeknikonda dehidrasyon, şeffaflama ve parafinizasyon aşamalarından geçirildikten sonra parafin içine gömülerek bloklandı. Kırık hattına dik geçen ve kallus merkezine yakın 5 -6µm kalınlığında kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eosin (H.E) boyasıyla boyandı. Bu şekilde hazırlanan preparatların histolojik değerlendirmesi polarize ışık mikroskobunda yapıldı.

Modifiye Lane-Sandhu Histolojik Kemik İyileşme Skorlaması :

| Kaynama(proksimal ve distal ayrı ayrı değerlendirilir) | Puan |
|---|-------------|
| Kaynama yok | 0 |
| Fibröz kaynama | 1 |
| Osteokondral kaynama | 2 |
| Kemiksel kaynama | 3 |
| Bölgenin komplet kaynaması | 4 |
| Spongioz | |
| Sellüler aktivite yok | 0 |
| Erken apozisyonel yeni kemik | 1 |
| Aktif apozisyonel yeni kemik | 2 |
| Spongioz kemikte reorganizasyon | 3 |
| Komplet spongioz reorganizasyon | 4 |
| Korteks | |
| Yok | 0 |
| Erken bulgu | 1 |
| Korteks oluşmak üzere | 2 |
| Reorganize olmuş | 3 |
| Tam teşekkül etmiş | 4 |
| Kemik iliği | |
| Kesitlerde yoksa | 0 |
| Oluşmak üzereyken | 1 |
| %50' den fazla oluşmuş | 2 |
| Komplet kırmızı ilik | 3 |
| Matür yağ dokulu ilik | 4 |
| Her kategori için olabilecek toplam puanlar | |
| Proksimal kaynama | 4 |
| Distal kaynama | 4 |
| Spongioz | 4 |
| Korteks | 4 |
| Kemik iliği | 4 |
| Maksimum Skor | 20 |

Tablo 3.2

3.5. Radyolojik Değerlendirme

Opere edilen ratların 1, 5 ve 9. haftada direkt grafileri çekilerek kaynama ve kallus oluşumları karşılaştırıldı. Değerlendirmenin objektif olmayacağı düşünöldüğü için istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

3.6. Mekanik Test

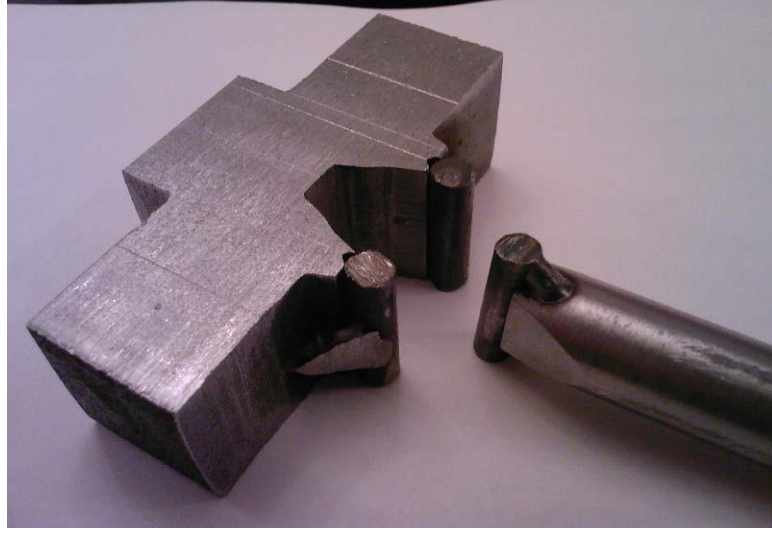
Test için I. gruptan 9. haftada 31 adet rat, II. Gruptan 29 adet rat ve 30 adet de hiçbir cerrahi müdahale yapılmamış (kontrol grubu, grup III) rat sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen ratlardan tüm yumuşak dokuları disseke edilerek ve bütönlüğü korunarak alınan femurlar vakit kaybetmeden oda sıcaklığında (23°C) ÜNE (üç noktadan eğme) testine tabi tutuldular(Resim 3.7). Bu test Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği laboratuvarında bulunan TEDEA Huntleigh Model No: 615 cihazına ek aparat yerleştirelerek yapılmıştır (Resim 3.9). Bu aparat NSI/ASAE'nin S459 DEC01 nolu standardına göre imal edilmiş ölçekli bir kalıptır. Femurların ÜNE testi için dayanak noktası oluşturur ve baskı esnasında stabil kalmalarını sağlar (Resim 3.8).

Femurlar eğilme kuvveti ön-arka planda olacak şekilde mesnetlere serbest olarak yerleştireldiler. Mesnet aralığı 20mm, desteklere ait çap 4mm dir. Yük iki destek üzerine yerleştirelmiş olan rat femurlarının orta kısmına , tekil ve simetrik olacak tarzda uygulandı.

Femurlara uygulanan eğme kuvvetine 0 N (Newton) ile başlandı. Ağırlık artırımını 2mm/dk olacak şekilde femurlar kırılıncaya kadar devam edildi (117).



Resim 3.7 : Yumuşak dokularından arındırılmış rat femurları.



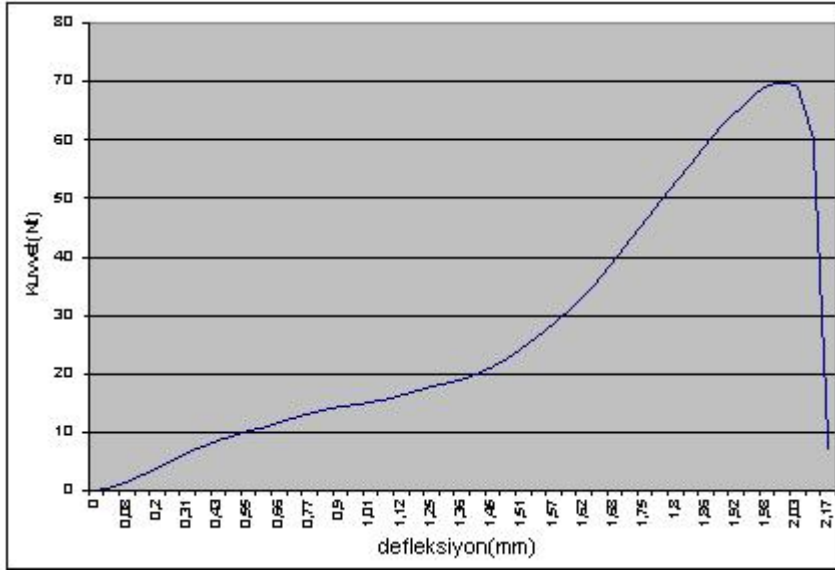
Resim 3.8 : ANSI/ASAE'nin S459 DEC01 Standardına göre üretilmiş üç noktadan eğme kalıbı.

Her yük artırımında yüklerin uygulandığı noktada oluşan defleksiyon değerleri bilgisayarca kaydedildi. Bu değerler daha sonra yük-defleksiyon eğrilerinin çizimi ve mekanik özelliklerin hesaplanmasında veri olarak kullanıldı. İleri hesaplamalarda kullanılmak üzere femurların ortalama kortikal kalınlıkları, ön-arka ve iç dış yan çapları 1/50mm hassasiyetindeki dijital kumpas (Mitutoyo, Japan) ile ölçüldü.



Resim 3.9 : TEDEA Huntleigh Model No:615 çekme-basma test cihazı.

Kırılmanın meydana geldiği son yük maksimum kırılma yükü, defleksiyon değeri ise maksimum defleksiyon olarak kaydedildi.



Şekil 3.1 Amnionsuz iyileştirilmiş femura ait bir deney numunesinin kuvvet-defleksiyon grafiği.

3.7 Ölçümler ve Hesaplamalar

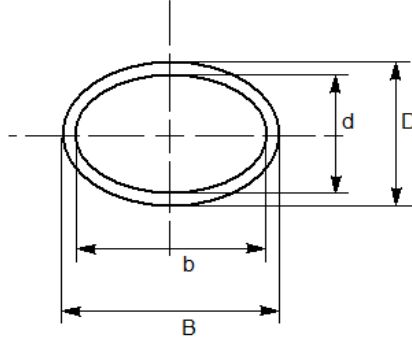
Kemiklere ait boyut analizi, kemikler yumuşak dokularından temizlendikten hemen sonra yapıldı. Kemik kesit alanını belirlemek için boyut ölçümleri kemik gövdesinin orta kısmında iç ve dış çap dijital kumpas ile ölçülerek bulundu. Eğme gerilmesi σ (Pa) denklem (1)'den hesaplanmıştır.

$$\sigma_{Eğ} = \frac{FLc}{4I} \quad (1)$$

Burada, F uygulanan kuvvet (Nt), c kemiğin enine kesitinde merkezden en dış yüzeye olan eğme yükünün uygulandığı doğrultudaki uzaklık (m), L destekler arası mesafe (m), I kemiğin enine kesitinin alan atalet (eylemsizlik) momenti (m^4). İçi boş elipse ait atalet momenti denklem (2)'den hesaplanmıştır.

$$I = 0.049[(B \cdot D^3) - (b \cdot d^3)] \quad (2)$$

Burada, B büyük dış çap (m), D küçük dış çap (m), b büyük iç çap (m), d küçük iç çap(m) (Şekil 3.2).(117)



Şekil 3.2 Rat femurlarına ait tipik kesit alanı.

3.8 İstatistiksel Analiz Yöntemi

Gruplar arası haftalara göre karşılaştırmada Mann-Whitney U testi, grup içi eşleştirilmiş iki grup karşılaştırmasında Wilcoxon işaretli sıra testi kullanıldı. Aynı grubun farklı haftalarının kaynama oranlarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis analizi yapıldı. Anlamli fark çıkan haftayı bulmak için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamli kabul edildi. Mekanik test sonuçları aritmetik ortalaması alınarak hesaplandı.

4. BULGULAR

4. 1. Histopatolojik Bulgular

Çalışmaya alınan 144 ratın 54 tanesine histolojik değerlendirme yapıldı. Çalışmamızda üç ayrı dönemde (1,5 ve 9. hafta) değerlendirmesi yapılan iki ayrı grup (toplam altı) mevcuttur.(Tablo 4.1)

| No | Grup | Hafta | Kaynama | Spongioz | Korteks | Kemik İligi | Toplam |
|----|------|-------|---------|----------|---------|-------------|--------|
| 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 9 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 10 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 20 | 1 | 5 | 3 | 2 | 0 | 2 | 7 |
| 21 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 22 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 23 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 24 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 25 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 26 | 1 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 |
| 27 | 1 | 5 | 3 | 2 | 0 | 2 | 7 |
| 28 | 2 | 5 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 29 | 2 | 5 | 2 | 1 | 0 | 1 | 4 |
| 30 | 2 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 31 | 2 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 32 | 2 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 33 | 2 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 34 | 2 | 5 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 35 | 2 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | 2 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 37 | 1 | 9 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 38 | 1 | 9 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 39 | 1 | 9 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 40 | 1 | 9 | 3 | 2 | 2 | 1 | 8 |
| 41 | 1 | 9 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 42 | 1 | 9 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 43 | 1 | 9 | 3 | 2 | 2 | 1 | 8 |
| 44 | 1 | 9 | 3 | 2 | 1 | 1 | 7 |
| 45 | 1 | 9 | 3 | 2 | 2 | 1 | 8 |
| 46 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 47 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 48 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 49 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 50 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 51 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 52 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 53 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 54 | 2 | 9 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |

Tablo 4.1: Modifiye Lane-Sandhu iyileşme skalasına göre puanlama

Bu gruplardan ilki Grup-I (amnionsuz) , ikincisi Grup-II (amnionlu) olarak adlandırıldı. Elde edilen histolojik puanlar grupların kendi içinde farklı haftalara göre ve iki grup arasında aynı haftanın iyileşme farklarını belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildi.

| Haftalar | Kaynama | Spongioza | Korteks | Kemik İliği | Toplam |
|----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|
| 1-5.hf | p = 0.007 | p = 0.003 | Fark yok | p = 0.005 | p = 0.007 |
| 1-9.hf | P = 0.006 | p = 0.003 | p = 0.006 | p = 0.003 | p = 0.006 |
| 5-9.hf | p = 0.008 | Fark yok | p = 0.006 | Fark yok | p = 0.01 |

Tablo 4.2 : Kırık iyileşmesinin grup I için haftalık istatistiksel analizi

| Haftalar | Kaynama | Spongioza | Korteks | Kemik İliği | Toplam |
|----------|-----------|-----------|----------|-------------|-----------|
| 1-5.hf | p = 0.014 | p = 0.046 | Fark yok | Fark yok | p = 0.017 |
| 1-9.hf | P = 0.03 | p = 0.03 | Fark yok | Fark yok | p = 0.003 |
| 5-9.hf | P = 0.014 | p = 0.025 | Fark yok | Fark yok | p = 0.023 |

Tablo 4.3 : Kırık iyileşmesinin grup II için haftalık istatistiksel analizi

Her iki tablo incelendiğinde toplam histolojik puanların tüm haftalarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark yapmış olduğu görülmekte. Detaylı olarak incelendiğinde ise; Grup II nin (Tablo 4.3) kemik iliği iyileşmesi bakımından 1- 5 ve 1-9. haftalarda Grup I e göre geride kaldığı görülüyor. Grup I in (Tablo 4.2) kortikal iyileşmesinin 1- 9 ve 5- 9. haftalarda Grup II den istatistiksel olarak daha iyi olduğu görülmekte.

| Hafta | Histolojik parametre | Sayı | Ortalama | Standart Sapma |
|-------|----------------------|------|----------|----------------|
| 1 | Kaynama | 9 | 0.56 | 0.53 |
| | Spongioza | 9 | 0 | 0 |
| | Korteks | 9 | 0 | 0 |
| | Kemik İliği | 9 | 0 | 0 |
| | Toplam | 9 | 0.56 | 0.53 |
| 5 | Kaynama | 9 | 2.22 | 0.44 |
| | Spongioza | 9 | 2 | 0 |
| | Korteks | 9 | 0 | 0 |
| | Kemik İliği | 9 | 1.22 | 0.44 |
| | Toplam | 9 | 5.44 | 0.88 |
| 9 | Kaynama | 9 | 3 | 0 |
| | Spongioza | 9 | 2 | 0 |
| | Korteks | 9 | 1.33 | 0.5 |
| | Kemik İliği | 9 | 1 | 0 |
| | Toplam | 9 | 7.33 | 0.5 |

Tablo 4.4 : Haftasına göre I. Grubun histolojik puan ortalaması ve standart sapmaları

| Hafta | Histolojik parametre | Sayı | Ortalama | Standart Sapma |
|-------|----------------------|------|----------|----------------|
| 1 | Kaynama | 9 | 0 | 0 |
| | Spongioza | 9 | 0 | 0 |
| | Korteks | 9 | 0 | 0 |
| | Kemik İliği | 9 | 0 | 0 |
| | Toplam | 9 | 0 | 0 |
| 5 | Kaynama | 9 | 1 | 0.71 |
| | Spongioza | 9 | 0.44 | 0.53 |
| | Korteks | 9 | 0 | 0 |
| | Kemik İliği | 9 | 0.11 | 0.33 |
| | Toplam | 9 | 1.56 | 1.33 |
| 9 | Kaynama | 9 | 2 | 0 |
| | Spongioza | 9 | 1 | 0 |
| | Korteks | 9 | 0 | 0 |
| | Kemik İliği | 9 | 0 | 0 |
| | Toplam | 9 | 3 | 0 |

Tablo 4.5 : Haftasına göre II. Grubun histolojik puan ortalaması ve standart sapmaları

Her iki tablo incelendiğinde I. grubun ortalama histolojik puanlarının II. gruba göre daha fazla olduğu görülmektedir. Kaynama amnion zarından olumsuz etkilenmiştir.

İyileşme haftalarının grup içinde karşılaştırılması sonucu I. Grupta kaynama, spongioza , kemik iliği ve toplamda anlamlı fark çıkmıştır. II. Grupta ise kaynama, spongioza ve toplamda fark çıkmış diğer iyileşme parametrelerinde istatistiksel anlamlı bir fark çıkmamıştır. Grup içinde haftalara göre oluşan farkı ortaya çıkarmak için ileri analiz yapıldı.

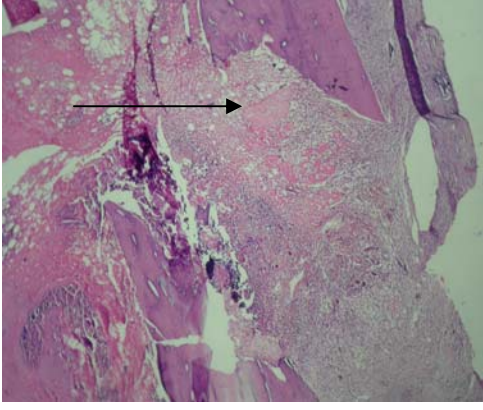
| Haftalar | Kaynama | Spongioza | Kemik İliği | Toplam |
|----------|------------|------------|-------------|------------|
| 1- 9 | p = 0.0001 | p = 0.0001 | p = 0.0001 | p = 0.0001 |
| 5- 9 | p = 0.001 | Fark yok | Fark yok | p = 0.001 |
| 1- 5 | p = 0.0001 | p = 0.0001 | p = 0.0001 | p = 0.0001 |

Tablo 4.6 : I. Grubun haftalara göre iyileşmesinin ileri analizi

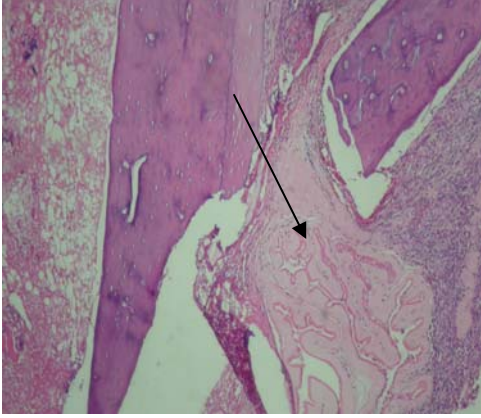
| Haftalar | Kaynama | Spongioza | Toplam |
|----------|------------|------------|------------|
| 1- 9 | p = 0.0001 | p = 0.0001 | p = 0.0001 |
| 5- 9 | p = 0.001 | p = 0.011 | p = 0.009 |
| 1- 5 | p = 0.001 | Fark yok | p = 0.002 |

Tablo 4.7 : II. Grubun haftalara göre iyileşmesinin ileri analizi

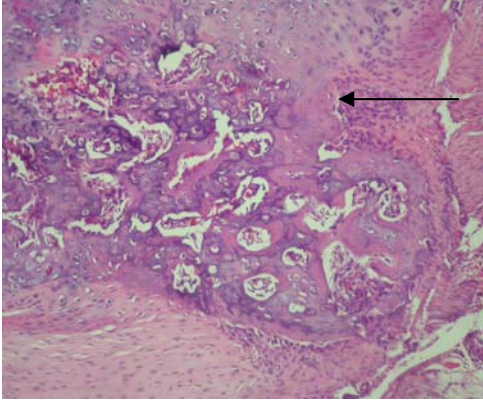
Tablolar incelendiğinde I. Grupta 5- 9. haftalarda, spongioza ve kemik iliği iyileşmesinde kaynama yönünden fark oluşmamıştır. II. Grupta ise 1. ve 5. haftaların spongioza iyileşmesinde anlamlı fark oluşmaması dışında tüm hafta parametrelerinde anlamlı fark oluşmuştur.



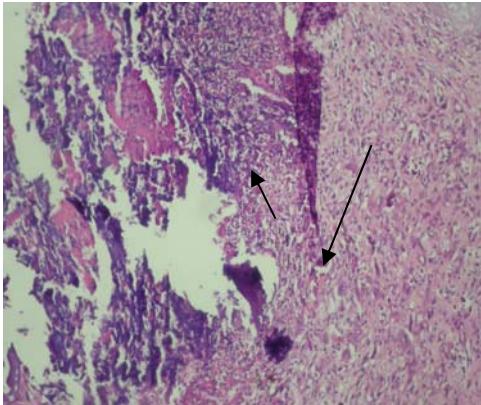
Resim 4.1: 1. Hafta I. Grup, Kırık hattını dolduran kan-fibrin kitlesi gösterilmiştir.(x4 H.E)



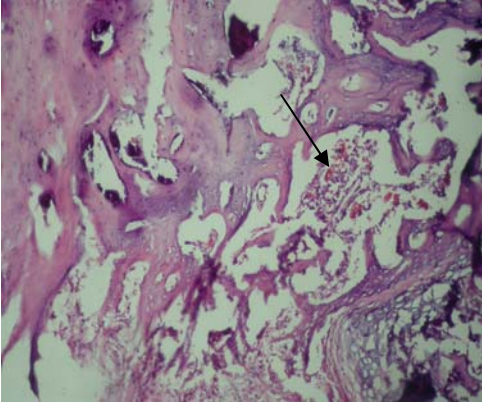
Resim 4.2 : 1. Hafta II. Grup, Kırık uçları arasına girmiş amnion zarı. (x10,H.E)



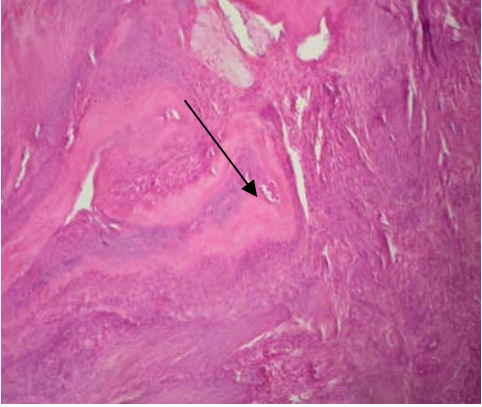
Resim 4.3 : 5. Hafta I. Grup, Yeni kırıkta ve kemik oluşumu görülüyor.(x10,H.E)



Resim 4.4: 5. Hafta II. Grup, Bağ doku ve dev hücre oluşumu (büyük ok), nekrotik doku (küçük ok). (x10,H.E)



Resim 4.5 : 9.Hafta I.Grup, Kemik dokusu içinde kemik iliği gösterilmiştir.(x10 H.E)



Resim 4.6 : 9. Hafta II. Grup, Amnion zarı ve etrafında bağ doku gelişimi.(x10,H.E)

Histolojik incelemenin sonucu olarak amnion zarı uygulanan grupta diğer gruptan farklı olarak kırık hattında normal bir kallus dokusu oluşmamıştır. Fibröz bir bağ doku gelişimi ile iyileşme tamamlanmıştır. Amnion zarı 9. haftada bile halen mikroskopik olarak gözlenebilmektedir. Bu nedenle grup II de kaynama oranını grup I e göre düşük bulduk.

4. 2. Radyolojik Bulgular



Resim 4.7 : 1.hafta I. grup

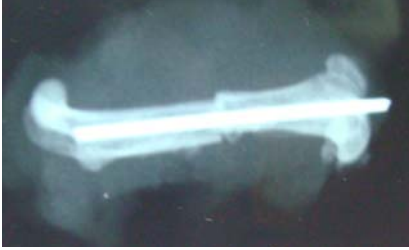


Resim 4.8 : 1.hafta II. grup





Resim 4.9 : 5. hafta I. grup



Resim 4.10 : 5. hafta II. grup



Resim 4.11 : 9. hafta I. grup



Resim 4.12 : 9. hafta II. grup



Resimler incelendiğinde 5. haftadan itibaren I. grupta kaynamanın olduğu fakat II. grupta kaynamanın oluşmadığı görülmekte. 9. haftada II. grupta kaynamama ve kırık hattının kalsifiye olmayışı dikkati çekmektedir.

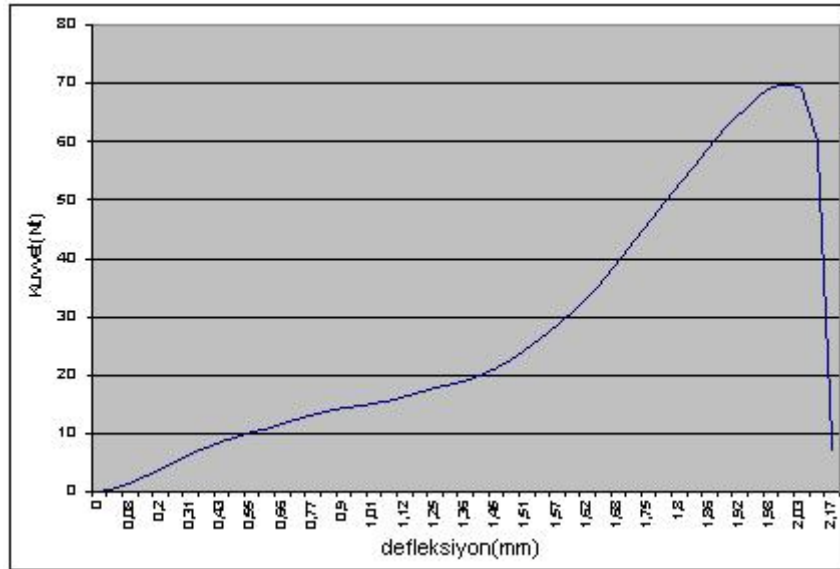


Resim 4.13 : 5. haftadaki Grup I ve Grup II rat femurlarının makroskopik görünümü

Resim 4.13 de 1. fotoğrafta 5. haftadaki (grup I) femurda kemikleşmenin olduğu hatta kırık hattının izlenemediği görülmekte. 2. fotoğrafta (grup II) ise kırık hattı çevresinde kalın beyaz bir iyileşme dokusu görülmekte.

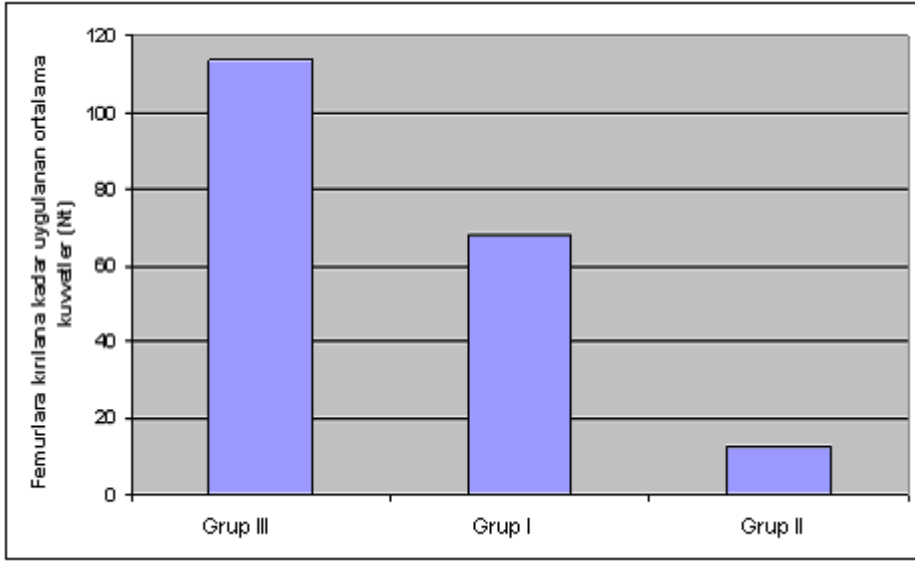
4.3. Mekanik test sonuçları

Test cihazı ve hesaplamalar ile elde edilen mekanik çalışma sonuçları grafikler yardımı ile sunulmuştur (Şekil 4.1)



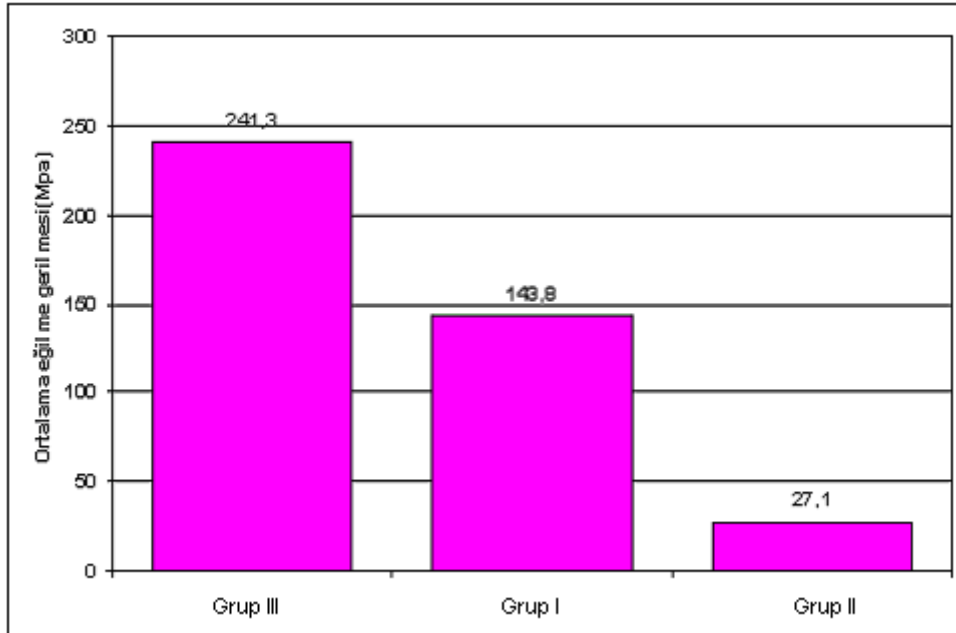
Şekil 4.1: Grup I e ait bir deney numunesinin kuvvet-defleksiyon grafiği.

Grup III ve diğer iki metotla iyileştirilmiş femurlara ait kırılıncaya kadar mukavemet ettiği maksimum yükler karşılaştırılmıştır. Amnion zarıyla iyileştirilmiş kemiklerin (Grup II) 20N' nun altında bir kuvvet ile kırıldıkları görülmektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 : Femurlara kırılncaya kadar uygulanan ortalama kuvvetler.

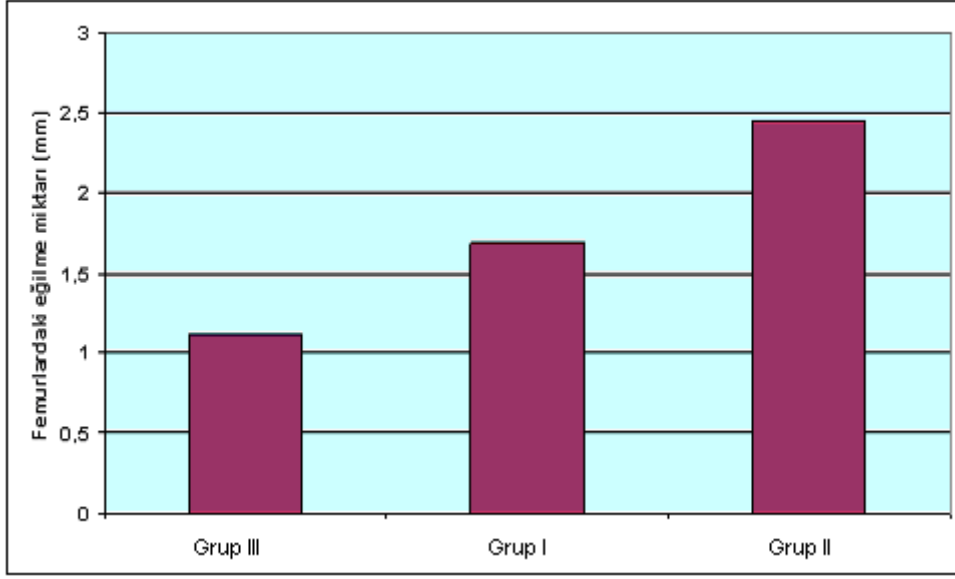
Rat femurlarının ortalama eğilme gerilmeleri (dayanımı) karşılaştırılmış ve amnion zarı ile iyileşen kemiklerde (Grup II) 27.1 Mpa (megapaskal) gibi en düşük değer bulunmuştur. Bu değer absorbe ettiği enerjinin diğer gruplara göre ne kadar düşük olduğunu göstermektedir.(Şekil 4.3)



Şekil 4.3 : Femurların kırılana kadar oluşturdukları ortalama eğilme gerilmeleri.

Femurların kırılncaya kadar ne kadar eğildikleri görülmektedir. Amnion zarı ile iyileşen kemiklerin (grup II) yaklaşık olarak normal kemiğin 2 katı kadar esnediği görülmekte.

Amnionsuz iyileştirilmiş (grup I) femurların ortalama eğilme miktarı iki grubun arasında bir değerdir(Şekil 4.4).



Şekil 4.4 : Uygulanan kuvvet sonucunda femurlardaki eğilme miktarı.

Amnion zarı ile iyileştirilmiş (grup II) kemiklerdeki maksimum kırılma kuvveti en düşüktür. Kırılıncaya kadar absorbe ettiği enerji miktarı da en düşük seviyededir. Fakat kırılma noktasına gelinceye kadar ki eğilme miktarı diğerlerine göre bir hayli fazladır

5. TARTIŞMA

Kemik, iskelet sisteminin en önemli yapı taşıdır. Yaşamsal organlara destek ve koruma sağlar. Yaşamımız için gerekli temel iyonların vücuttaki konsantrasyonunun sağlanmasında da görev alır. Kemik üzerine yapılan kasların düzenli kontraksiyonu ile vücudun hareket etmesini sağlar (1,2).

Dıştan ya da içten gelen kuvvetler sonucunda kemiğin anatomik bütünlüğünde bozulma olmasına kırık denir (51). Kırık oluştuktan sonra çeşitli fizyolojik olaylar silsilesi ile kemik bütünlüğü yeniden sağlanmaya çalışılır. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar bırakmadan aslına en yakın şekilde iyileşir (52-54). Kırık iyileşmesi kırığın olduğu andan itibaren başlar, kemik tekrar eski halini alıncaya kadar devam eder (51).

Kırık iyileşme sürecinde travmanın şiddeti, şekli ve çevre yumuşak dokuların hasar derecesi, tedavinin nasıl yapıldığı ve kişinin genel sağlık durumunun da etkili olduğu gösterilmiştir (76,118). Az sayıda kırık tedavi gerektirecek şekilde iyileşme sorunları gösterir, bunun dışında konservatif veya cerrahi tedavi yollarıyla sorunsuz biçimde iyileşirler (119,120). Kırık iyileşme sürecinin hızlandırılması için yapılmış çalışmalardan bazıları klinikte kullanım alanı bularak; tekrarlayan tedavi gereksinimlerini, işgücü kaybını, morbidite miktarını ve tedavi masraflarının azalmasını sağlamış kaynama oranlarını en üst düzeye çıkararak kişiyi en kısa sürede normal hayatına döndürmüştür (120-122).

Kırık iyileşmesi; temelde 3 dönemde gerçekleşir; inflamasyon, onarım ve remodelasyon (62). Bu iyileşme sürecinde hem kemiği çevreleyen yumuşak doku hem de medulla aktif rol oynar (55,56,123). Kırık iyileşme sürecindeki hücreler arası fiziksel ve biyokimyasal etkileşimlerin anlaşılması, bu süreçlere etki edebilecek faktörlerin araştırılmasını sağlamıştır (124).

Günümüze kadar kırık iyileşmesini hızlandırmaya yönelik çeşitli teknikler denenmiştir. Kaynamayı olumlu yönde etkileyen çalışmalar rutinde kullanım alanı bulmuştur. Bunlar kısaca; elektrik stimülasyonu, mekanik stimülasyon ve ultrasondur (119,125). Kemik kaynamasını biyolojik olarak hızlandırabilecek çalışmalarda yapılmıştır. Bunlar otojen ve allojen kemik greftleri, sentetik greftler, otojen kemik iliği ve büyüme faktörleri (118,126,127), BMP(128,129), TGF- β (130,131), Fibroblast büyüme faktörü (132,133), insülin benzeri büyüme faktörü, büyüme hormonu (134), PDGF (135), vasküler endotelial büyüme faktörü (136,137) ve NGF (138)' dir. Literatürde kemik ve kırık iyileşmesine etkili olduğu

hayvan çalışmalarında gösterilmiş büyüme faktörleri de ilerleyen yıllarda insanlarda da kullanılabilecektir.

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörlerden biride kırığın şekli ve yaralanmanın tipidir. Açık ya da kapalı kırık olması, segmental ya da tek transvers bir kırık olması tedavi yaklaşımını ve sonucunu etkiler. Kırık olduğu anda ortamda bulunan hücre çeşitliliği, faktörlerin düzeyi de iyileşmeyi etkiler (139,140). Kapalı kırıklarda kaynama hematoma boşalmaması ve çevre yumuşak doku hasarının daha az olması gibi sebeplerden dolayı açık kırıklara göre daha iyidir. Yapılan deneysel çalışmalarda kapalı kırık yöntemi de kullanılmıştır. Açık kırık modelinde ise kaynama daha geç olmakta ve gruplar arasındaki kaynama oranlarının karşılaştırılması daha kolay olmaktadır (139). Biz çalışmamızda açık osteotomi uyguladık çünkü amnion zarının kırık hattına sarılması için bu gerekliydi.

Osteotomi sonrası kırık tespiti literatürde farklı şekillerde yapılmış. Bunlardan bazıları; intramedüller tespit, eksternal fiksator ve plak uygulanmasıdır (141,142). İntramedüller tespit buna benzer çalışmalarda tercih edilen bir yöntem olduğunu gördük (131,143). Biz çalışmamızda osteotomi hattından dize retrograd K teli gönderdik. Diz ve kalça eklem hareketine zarar vermeden intramedüller tespit yaptık. Kırık oluşturduktan sonra diz ve kalça eklemine açmadan retrograd K teli ile tespit ettik. Temin etmedeki ve uygulamadaki kolaylığın yanında rijit bir tespit yapmadan kallus oluşumuyla sekonder iyileşmeyi sağladık. Literatürde de ratlarda intramedüller tespit tercih edildiğini gördük (141,144).

Kırık iyileşmesi üzerine yapılmış çalışmalarda fare, rat, tavşan, köpek gibi farklı hayvanlar kullanılmıştır (141). Çalışmamızda denek sayısının fazla olması, kolay temin edilebilirliği, şartlara hızlı uyumu ve enfeksiyona dirençli olmaları, izogenetik olmaları nedeniyle rat kullandık. Literatürde de buna benzer çalışmaların çoğunlukla ratlar üzerinde yapılmış olduğu görülmekte (135,145).

Kırık iyileşmesinin histolojik analizinde literatürde çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Huo ve arkadaşları kırık bölgesindeki hücresel farklılaşmayı 1 den 10' a kadar puan vererek derecelendirmişler (146). Allen ve arkadaşları kallus dokusunun iyileşme aşamalarının 0'dan 4'e kadar puanlamışlardır (145). Literatürde bunlara ek olarak Modifiye Lane-Sandhu histolojik değerlendirme skalası da kullanılmıştır (143). Bu skalada korteks, spongios kemik ve kemik iliği ayrı ayrı değerlendirilerek toplam 20 puan üzerinden derecelendirilmektedir. Çalışmamızda histolojik değerlendirme yöntemi olarak bizde Modifiye Lane-Sandhu histolojik değerlendirme skalasını kullandık (116).

Radyolojik değerlendirmede farklı yöntemlerin kullanılmış olduğunu gördük. X-Ray ile kırık uçları arasındaki köprüleşme, kırık hattının fark edilebilirliği, kallus genişliği gibi parametreler değerlendirilmiş (131,133). Bu parametrelerin ayırımında değerlendirme sırasında hata oranının yüksek olacağının düşündüğümüz için istatistiksel olarak çalışmaya almadık. Fakat grupların haftalara göre kaynama oranlarının görsel farklılıklarını ortaya koymak için çalışmamıza ekledik (145,147,148).

Amnion zarının post operatif adezyonları önlemek amacıyla kullanıldığı başarılı çalışmalar vardır. Bu çalışmalardan birinde amnion zarı adezyonları belirgin şekilde azaltmış, intraabdominal apseleri lokalize olarak tutmuş ve olumsuz bir durum oluşmamıştır. Amnion zarı artifisyel vagina oluşturmak için kullanılmış ve başarılı sonuç alınmıştır (102,103). Üriner sistemde üreter defektinin tamiri için kullanılmış ve başarılı sonuç alınmış çalışma mevcuttur (149). Amnion zarının hyaluronik asit ile birlikte perinöral adezyonları ve fleksr tendon tamiri sonrasında gelişen adezyonların önlenmesinde başarıyla kullanılabileceği hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (114,115). Amnion zarı oftalmoloji alanında çok tercih edilen bir materyal olmuştur. Büllöz keratit, kimyasal ve fiziksel birçok yaralanmada amnion zarı fizyolojik bir örtü olarak kullanılmış başarılı sonuçlar alınmıştır (150,151).

Tejwani ve ark.'ları termal ve kimyasal yaralanma olan 69 hastanın 72 gözüne uyguladıkları amniotik membran transplantasyonu ile olumlu sonuçlar elde ettiklerini, bu olumlu etkinin amniotik zarının erken dönemde hem inflamasyonu engelleyerek skar gelişimi ve fibrozisi önlemesi, hemde altındaki dokuda epitelizasyonu artırması ile bağlantılı olabileceğini belirtmişlerdir (151). Benzer şekilde Lee ve ark.'ları büllöz keratopatili hastalarda amniotik membranın uygulamasının olumlu etkilerini bildirmişlerdir. Amnion zarının bir mekanik bariyer olarak ve TGF- β seviyesini azaltarak altındaki kök hücrelerin fibroblast gibi farklı hücelere farklılaşmasını engelleyerek fibrozisi önleyebileceği belirtilmiştir (150).

Gomes ve ark.'larının 36 adet tavşanda yaptıkları bir çalışmada hayvanların kafatasında (parietal kemikte) defekt oluşturmuşlar. Hayvanları iki gruba ayırmışlar. Gruplardan ilkinde defektin üzerini amnion zarı ile sarıp iyileşmeye bırakmışlar. İkinci gruba ise oluşturdukları defekti otojen demineralize dentin matriks ile doldurup üzerini amnion zarı ile sarmışlar. Histolojik olarak takiplerinde amnion zarı uygulanan grupta iyileşmenin geciktiğini tespit etmişler. Amnion zarının 4. haftada rezorbe olduğu enfeksiyon yada rejeksiyon olmadığı tespit edilmiş. Çalışmanın zeleştirisinde amnion zarı kullanılmayan bir grup olmamasına değinilmiş (152). Bizim alışmamızda da amnion uygulanan grupta kemik iyileşmesi

kullanılmayan gruba göre geride kalmıştır. Enfeksiyon oranı da amnion grubunda literatürden farklı olarak daha sık gözlenmiştir.

Kalça tüberkülozuna bağlı olarak gelişen eklem dejenerasyonunun tedavisinde, yeni eklem yüzeyi oluşturmak amacıyla kullanımında da (Amniotik artroplasti) başarılı sonuçlar literatürde yer almaktadır (153). Mencucci ve ark'ları invitro olarak amniotik membranın antibiyotikli (netilmisin) ortamda antibiyotiği abzorbe edebildiğini, antibiyotiksiz ortama alındığında ise bu antibiyotiği ortama salarak antibiyotik için taşıyıcı olabileceğini göstermişlerdir (154).

Amniotik allogreftlerin konak dokudaki akıbeti, amniotik hücrelerin konak tarafından tahribi ve bu alanda fibroblastik aktivite ile kollojene benzer madde birikimidir. Rejeksiyon olayı diğer allogreftlerde olduğu kadar şiddetli değildir. Bu da amnion membranının antijenitesinin çok zayıf olduğunu göstermektedir (92,155). Çalışmamızda amnion membranı kullanılan grupta kırık hattı çevresinde fibroblastik aktivite ile kollojene benzer madde birikimi görülmüştür (Resim 4.4).

ÜNE testi esnasında femurların enine kesitinde çekme ve basma gerilmeleri oluşur. Ayrıca femuru eğmeye çalışan tekil kuvvetin oluşturduğu eğilme momenti ile bu kuvvetin oluşturduğu defleksiyon miktarı femur özellikleri hakkında önemli veriler ortaya çıkarmaktadır. Çalışmamızda amnion zarı ile iyileştirilmiş kemiklerde normal kemiğe göre çok fazla defleksiyon meydana gelmiş bunla orantılı olarak mukavemet yeteneğinde o derece zayıf olmuştur. Amnion zarının bu haliyle kullanımını kemik kaynamasını olumsuz etkilemiştir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda; amnion zarının kırık iyileşmesi üzerine olumlu bir etkisini saptayamadık. Çalışma sonunda amnion zarı ile iyileştirilmiş femurların diğer gruptan farklı olarak kırık hattının beyaz, yumuşak bir iyileşme dokusu ile örtülmüş olduğunu gördük (Resim 4.13). Diğer çalışmalarda (göz, dermatoloji, üroloji vs) amnion zarının bariyer etkisi, fibrozisi ve enflamasyonu engelleyici etkisi bir avantaj oluşturmuşken bizim çalışmamızda bu faktörler kaynamayı olumsuz yönde etkilemiştir. Bariyer etkisinin kallusun oluşması ve periostal yeni damarlanmanın, kallusa invazyonunu engellemiş olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda bariyer etkisi nedeniyle kırık hattının iyileşmeye etkisi olan çevre yumuşak dokuyla da bağlantısı kalmamıştır. Amnion zarının antienflamatuar etkisinin ise kırık iyileşmesinde gerekli olan enflamasyonu baskılayarak kaynamayı olumsuz yönde etkilediği düşünülmüştür.

Bu konuda yapılmış diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda femurların mekanik sağlamlığını test etmek ve gruplarla olan ilişkisini belirlemek amacı ile kontrol grubu da oluşturduk. Bu sayede her iki gruptaki iyileşme farklarını histolojik ve radyolojik olarak birbirleri ile karşılaştırmanın yanında her iki grubun mekanik özelliklerini kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Bu çalışmanın kırık iyileşmesi ve amnion zarının kullanılacağı farklı araştırmalar için yol gösterici bir çalışma olduğunu umut ediyoruz.

7. ÖZET

İnsan amnion zarının kırık iyileşmesine etkilerini araştırmak için ratlar üzerinde deneysel bir çalışma yaptık. 150 adet dişi ratın 30 adeti çalışma sonunda mekanik testin kontrol grubu (grup III) olarak ayrıldı. Kalan 120 adet ratın tamamının sağ femuru açık osteotomize edildi ve K teli ile tespit edildi. Randomize edilen ratların I. grubuna ek bir müdahale yapmadan cilt kapatılması yapıldı. II. grubun kırık hattına amnion zarı sarılarak ciltleri kapatıldı.

1,5 ve 9. haftalarda her gruptan 9 adet rat yüksek doz eter ile sakrifiye edildi. Alınan femurlar radyolojik ve histolojik olarak değerlendirildi. Histolojik değerlendirmede Modifiye Lane-Sandhu kemik iyileşme skalası kullanıldı. 9. haftanın sonunda I. gruptan 31 adet rata, II. gruptan 29 adet rata ve III. gruba mekanik test uygulandı. Mekanik test ÜNE prensibine göre yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede Mann-Whitney U testi, Wilcoxon işaretli sıra testi ve Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

İyileşme miktarları histolojik olarak II. grupta daha düşük olarak bulundu. Radyolojik değerlendirmenin istatistiksel analizini çalışmamıza eklemedik. Grupların kaynama oranları hakkında fikir vermesi amacıyla fotoğraflarına yer verdik. Radyolojik açıdan da incelendiğinde kemik iyileşmesinin II. grupta daha yavaş olduğunu gördük. Mekanik test sonuçları da kaynama miktarı ve kemik direncinin II. grupta daha az olduğunu gösterdi.

Diğer çalışmalarda (göz, dermatoloji, üroloji vs) amnion zarının bariyer etkisi, fibrozisi ve enflamasyonu engelleyici etkisi bir avantaj oluşturmuşken bizim çalışmamızda bu faktörler kaynamayı olumsuz yönde etkilemiştir. Bariyer etkisinin kallusun oluşması ve periostal yeni damarlanmanın, kallusa invazyonunu engellemiş olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda bariyer etkisi nedeniyle kırık hattının iyileşmeye olumlu etkisi olan çevre yumuşak dokuyla da bağlantısı kalmamıştır. Amnion zarının antiinflamatuvar etkisinin ise kırık iyileşmesinde gerekli olan enflamasyonu baskılayarak kaynamayı olumsuz etkilediği düşünülmüştür.

Bu konuda yapılmış diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda femurların mekanik sağlamlığını test etmek ve gruplarla olan ilişkisini belirlemek amacı ile kontrol grubu da oluşturduk. Bu sayede her iki gruptaki iyileşme farklarını histolojik ve radyolojik olarak birbirleri ile karşılaştırmanın yanında her iki grubun mekanik özelliklerini kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Bu çalışmanın kırık iyileşmesi ve amnion zarının kullanılacağı farklı araştırmalar için yol gösterici bir çalışma olduğunu umut ediyoruz.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, insan amnion zarı, mekanik test

8. ABSTRACT

We performed an experimental study to investigate the effects of human amniotic membrane on bone healing. A total 150 female Sprague Dawley rats were divided into 3 groups. Group I included 60 animals which underwent primary femoral osteotomy with K wire fixation in group II, amniotic membrane was enveloped over the osteotomy side in addition. The third group of 30 animals was the control.

Nine animals taken from each group at 1,5 and 9 post operation week for sacrifice. Radiologic and histological assesment were done in all femoral specimens. Modified Lane Sandhu bone healing scale was used for histological evolution mechanical test was performed. Thirtyone animals in group I, 29 animal in group II and all control groups at the and of the 9th week. Mechanical test was performed in according to ÜNE principle. Mann Whitney U test, Wilcoxon and Bonferroni correctable Mann-Whitney U test were used for statistical evaluation. $P < 0.05$ was accepted for statistical significant. mechanical test was performed.

Histological ratio of healing was more less in group I. No inclusion of the statistical evaluation in this study. We observed radiologic bone healing in group II. Mechanical test results showed us ratio of healing and bone strength were less in group II.

Amniotic membrane has removal advantages as follows barrier effects, prevention of fibrosis and inflammation that mentioned in literature. In contrast to literature no aforementioned effects in current sutdy. It thought that amniotic membrane prevents callus formation, perosteal neovascularization its invasion into callus and soft- tissue attachment to bone. Antiinflammatory effect of amniotic membrane is close relation to supression of the inflammation which is require for bone healing.

In contrast to literature, we used control group for testing of mechanical strength and to identify of its relation to groups. In this may we compared radiological and histological differences of healing and mechanical properties of two groups.

In conclusion, we believe that this study guide for bone healing and similar studies.

Key words: Bone healing, ,human amniotic membrane, mechanical test

9. KAYNAKLAR

1. L.Carlas Jungueira, Jose Corneiro, Robert O'Kelley. Temel Histoloji. İstanbul:Barış Kitapevi. 1998: 132-150
2. Lian JB, Stein GS, Canalis E, Gehron-Robey P, et al:Bone formation. Osteoblast lineage cells, growth factors, matrix proteins and the mineralization process, in Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism,4th ed, Favus M, 1.Ed, Lippincotti Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999, chap.3
3. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'ın Ortopedi Kitabı. Ankara:Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 1
4. Kutsal YG,(ed). Osteoporoz. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 37-38
5. Buckwalter JA,Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R:Bone biology-I. In Pritchard DJ(ed).Instructional Course Lectures Volume 45, AAOS,1996;371-86
6. Schenk RK:Biological of fracture repair. In Browner BD.Jupiter JB, Levine AM,Trafton PG (ed). Skeletal Trauma Vol 1.Third edition. Saunders Co,Philadelphia 2003;29-73
7. Gil FTH, Gracia MAA, Pingarron MC, Jerez LB:Physiological bases of bone regeneration I.Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11 :E47-51
8. Grant PR. (2003) Oral Cells And Tissues. Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois: Chapter 7-8. page 442-57
9. Gehron-Robey P, Boskey A L.(1996) The biochemistry of bone, in Osteoporosis. Marcus E , Feldman D, Kelsey J, Eds., Academic Pres, San Diego, chap.4.page 74-8
10. Gorski JP. (1998) Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of non-collagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. Crit Rev Oral Biol Med; 9: 201-223
11. Lian JB, and Stein, G S, (1996) Osteoblast biology, in Osteoporosis, Marcus R, Feldman D, and Kelsey I, Eds, Academic Press, San Diego, chap. 2. p.23-7
12. Bölükbaşı N. Alveol kemiği implant ilişkisi.(2004) İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Oral İmplantoloji Anabilim Dalı. Seminer çalışması.
13. Corradi C, Cozzolino A.(1952)The action of ultrasound on the evolution of an experimental fracture in rabbits. Minerva Ortop.55:44-5
14. Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO. (1998) Temel Histoloji. 8. Baskı İstanbul: Barış Kitabevi Ltd.Şti. 132-151.
15. Şirin SY. (2005)Deneysel olarak meydana getirilen kemik defektlerine yerleştirilen farklı tipteki yapay kaynaklı greft materyallerinin kemikleşmesinde hiperbarik oksijen

uygulamasının etkilerinin incelenmesi Doktora tezi. İ.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş – Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul

16. Marie PJ. Cellular and molecular alterations of osteoblasts in human disorders of bone formation, *Histol. Histopathol*,1999; 14, 525.
17. Frost HM, (1960) In vivo osteocyte death, *J. Bone Joint Surg*, 42A,138.
18. Noble BS, Stevens H, Mosley JR, Pitsillides AA, et al: (1997) Bone loading changes the number and distribution of apoptotic osteocytes in cortical bone. *J Bone Miner Res*; 12(Suppl 1):S111.
19. Noble B, Stevens H, Loveridge N, and Reeve J, (1997) Identification of apoptotic changes in osteocytes in normal and pathological human bone, *Bone*, 20,273.
20. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, and Manolagas SC,(1998) Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids, *J. Clin. Invest*, 102,274.
21. Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Roberson P, Parfitt AM and Manolagas S.(1999) Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone, *J. Clin. Invest*, 104, 439
22. Hollinger JO, Buck CD, Bruder PS. *Biology of Bone Healing:Its Impact on Clinical Therapy*. In “Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics”. Lynch SE, Genco RJ, Marx, RE. 1st edition Quintessence publishing, 1999, chap1.
23. Marie PJ, Cellular and molecular alterations of osteoblasts in human disorders of bone formation. *Histol. Histopathol*, 1999; 14,525
24. Puzas FJ and Lewis GD. *Biology of osteoclasts and osteoblasts*, in *Orthopaedics. Principles of Basic and Clinical Science*, Bronner, F, and Worrell, RV, Eds, CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, chap. 3.
25. YG,(ed). *Osteoporoz.2. Baskı*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 44
26. Brinker MR, Miller D, Basic science. In: Miller D.(ed): *Review of Orthopaedics*, (2nded). WB Saunders, Philadelphia:1996; p 1-30
27. Burchard H. *Biology of cortical bone graft incorporation*. In:Burchard H(ed): *Osteochondral Allograft* (2nd ed). WB Saunders, Philadelphia: 1983; p 51-57
28. Buckwalter JA. *Musculoskeletal tissues and the musculoskeletal system*. In: Weinstein SL, Buckwalter JA(eds), *Turek's Orthopaedic Principles and Application* (5nded). JB. Lippincott company, Philadelphia: 1994; p 13-35.
29. Bruder SP, Fink DJ, Caplan AI. *Mesenchymal stem cells in bone development, bone*

- repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem* 1994; 56:283.
30. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. *J Bone Joint Surg. Am.* 1995; 77A: 1256.
 31. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Ortop Res* 1991; 9: 641
 32. Revell PA. *Pathology of Bone*. Great Britain :Springer - Verlag. Berlin Heidelberg : 1986; 1-30, 203-231.
 33. Frost HM. The biology of fracture healing and over view for clinicians part I. *Clin. Ortop Rel Res* 1979;248: 283-293
 34. Hing KA: Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering?. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 2004;362:2821-50
 35. Buckwalter JA, Einhorn TA, Marsh JL: Bone and joint healing. In Bucholz RW, Heckman JD (ed). *Fractures in Adults Vol 1*. Fifth edition. Lippincott Co, Philadelphia 2001; 245-71
 36. Rubin E, Farber JL. *Pathology*. Philadelphia: JB Lippincott, 1988
 37. Young MF, Kerr JM, Ibaraki K, Heegaard AM, Robey PG: Structure, expression and regulation of the major noncollagenous matrix proteins of bone. *Clin Orthop Relat Res*. 1992;281:275-94
 38. Wozney JM., Rosen V, Byrne M, et al. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl*. 1990; 13: 149
 39. Ballı B. Kemik iyileşmesi ve iyileşmeyi etkileyen faktörler. Bitirme tezi. İ.Ü. Dış Hekimliği Fakültesi. İstanbul; 2004.
 40. Kutsal YG,(ed). *Osteoporoz*. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 39
 41. Cowin SC. *Bone Mechanics Handbook*. 2nd edn. Boca, Raton, London, New York, Washington: CRC Press. 2001; Bölüm 1: 1-68, Bölüm 2: 1-24
 42. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). *Miller'in Ortopedi Kitabı*. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 5
 43. Meade JB, Cowin SC, Klawitter JJ, Van Buskirk WC. At al: (1984) Bone remodeling due to continuously applied loads. *Calcif Tissue Int*; 36, 25-30.
 44. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). *Miller'in Ortopedi Kitabı*. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 10
 45. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology-I. In Pritchard DJ(ed). *Instructional Course Lectures Volume 41*, AAOS, 1996; 99-387
 46. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). *Miller'in Ortopedi Kitabı*. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 12

47. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). Miller'in Ortopedi Kitabı. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 16
48. Marks SC, Popoff S N. Bone cell biology: The regulation development, structure, and function in the skeleton. The American Journal of Anatomy 1988; 183: 1-44.
49. Martin RB, Burr DB, Mrechanical adaptation, in Structure, Function and Adaptation of Compact Bone. Raven Press, New York, 1989, chaps.2,4,7 and 8.
50. Shearer JR, Roach HI, Parsons SW: Histology of a lengthened human tibia. J Bone Joint Surg 1992; 74B:39-44
51. Brand RA. Fracture Healing. In Evarts CM, (ed). Surgery of Musculoskeletal System. Newyork: Chuchill Livingstone, 1983: 65-71
52. Alturfan A K, Akalın Y. (2002). Ortopedik Travmatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 10-14
53. Kılıçoğlu SS. (2002) Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası; 55(2): 143-150
54. Rowe N L, Williams J L. (1985) Maxillofacial Injuries. Edinburgh London Melbourne and New York: Churchill Livingstone. 50-52
55. Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1998 ;355 Supp:7-21
56. Phillips AM: Overview of the fracture healing cascade. Injury 2005; 365:5-7
57. Cornell CN, Lane JM: Newest factors in fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1992 ;277:297-311
58. Türek S L. (1980) Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları. Florida- Miami: Mount Sina Tıp Merkezi ve Miami Kardiyoloji Enstitüsü; 32-151
59. Weber BG, Cech, (1973) O. Pseudoarthrosen. Verlag Hans Huber, Bern.
60. Waisman BNW, Sledge CB.(1986)Orthopaedic Radiology. WB Saunders Company, Philadelphia.
61. Rockwood&Gren.(1975) Fractures.Lippincot Company, Philadelphia, Toronto;copyright, 97-105.
62. Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Fractures 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Co, 1984; 1: 147-167.
63. Skinner HB, Diao E, Gosselin R, Lowenberg DW, Paiment G. Musculoskeletal Trauma Surgery. In Skinner HB, (ed). Current Diognosis and Treatment in Orthopedics. California: A Simon-Schuster Company, 1995: 51-115
64. Güven Y. Kıkırdak, Kemik ve Diş Biyokimyası. (1988) İ.Ü. Dişhekimliği Fak.

Biyokimya Bilim Dalı Ders Notları.

65. Kabisch WT, De Bruyn PP, Pabuwal SN. (1968) Quantitative characteristics of phagocytic organs. *Anat Rec. Jun*; 161(2): 197-210.
66. Ham AW, Cormack DH. (1979) *Histophysiology of Cartilage Bone and Joints* J.B. Philadelphia and Toronto: Lippincott Company
67. Oral O. L-Dopa'nın (Allojenik greft uygulanan ve uygulanmayan) kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine olan etkilerinin deneysel araştırılması (2000) Doktora tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul; 4-22.
68. Gross D, Williams WS. (1982) Streaming potential and electromechanical response of physiologically- moist bone. *J Biomech*; 15: 277-295
69. Robert B, Bently G. (1983) *Mercer's Orthopaedic Surgery*. London, 8th ed. 1983 27-65.
70. Vanable J. (1989). Integumentary potentials and wound healing. *Electric Fields in Vertebrate Repair*. R. Borgens. New York, Alan Liss Inc: 171-224
71. Scott J H. (1957) The mechanical basis of bone formation. *J Bone Joint Surg*; 39-B:134.
72. Graham G F. Cryosurgery. *Clin Plast Surg*. 1993;20(1);131-47.
73. Baron T, Tran Van P, Vignery A. Local control of bone remodelling: a suggested role for receptor mediated endocytosis. *New York, Excerpta Medica* 1982;123-127.8-6.
74. Isogai Y, Akatsu T, Ishizuya T, Yamaguchi A. et al. Parathyroid hormone regulates osteoblast differentiation positively or negatively depending on the differentiation stages. *T Bone Miner Res* 1996; 11:1384-1393.
75. Yetkin H, Yazıcı M, (ed). *Miller'in Ortopedi Kitabı*. Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 19
76. Ege R. *Travmatoloji. Kırıklar, Eklem ve Diğer Yaralanmalar* 5.Baskı. Ankara:2003;55-94.
77. Bassett CAL. et al. Biophysical principles of affecting bone structures. *The Biochemistry and Physiology of Bone*. G. H. Bourne (Ed.), Acad. Press, Inc. NewYork. 1971: 1-76.
78. Woll TS, Duwelius PJ: The segmental tibia fracture. *Clin Orthop Relat Res*. 1992 ;281:204-207
79. Persson BM, Ekelund L, Lovdahl R. Gunterberg B. Favourable results of acrylic cementation for giant cell tumors. *Acta Orthop Scand*. 1984 Apr; 55(2):209-14
80. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects.*Dent Clin North Am*.1991;35:469-477.

81. Oral O. Laser'in Ağız Cerrahisi Girişimlerinde İyileşme Üzerine Etkilerinin Deneysel Araştırılması, Doktora, 1987.
82. Caplan AI, Pechak D. The cellular and molecular biology of bone formation. In: Peck WA(Ed). Bone and Mineral Research. New York: Elsevier, 1987:117.
83. Jensen JE, Jensen TG, Smith TK, et al: Nutrition in orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg1982; 64A: 1263-72
84. Kutsal YG (ed). Osteoporoz.2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 46
85. Çankaya B. Kemik. İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Seminer çalışması. 2004
86. Uzzan B, Campo J, Cucherat M. Effects of Bone Mass Long Term Treatment with Thyroid Hormone. A Meta-Analysis J Clin Endocrinol Metab 1996;81:4278-88
87. Kutsal YG (ed). Osteoporoz. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 47
88. Einhorn TA. Enhancement of fracture healing. The Journal of Bone and Joint Surgery 1995; 77-A: 940-955.
89. Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın hastalıkları ve doğum bilgisi. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2006: 178
90. Danfort, Obstetrik ve Jinekoloji, Çeviri: Erez R, 7.Edisyon, Yüce Yayım, İstanbul, 1997.53-54
91. The placenta and Fetal Membranes In: Cummingham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gistrap LC, Hauth JC, Wenstrom KD(ed), Twenty-first edition, Mc Graw-Hill, USA, Chapter 5:85-108,2001
92. Trelford J, Frederick WH, David GA, and Mendel V: Implanted amniotic membrane as an autograft and as an allograft. J Med 6 (2): 169, 1975.
93. Talmi YP, Singler L, Inge E. Antibacterial properties of human amniotic membranes. Placenta 12, 285-288,1991.
94. M. Murraine, E. Menguay. Personal communication-Cornea 1(1), 16-21,2000
95. Davis JW: Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital.Johns Hopkins Med J 15:307,1910.
96. Stern M: The grafting of preserved amniotic membrane to burned and ulcerated surfaces substituting skin grafts J A M A 60:973,1913.
97. Sabella N: Use of the fetal membranes in skin grafting. Med Rec N Y 83:487,1913.
98. Trelford JD, Trelford- Saunder M: The amnion in surgery, past and present. Am J Obstet Gynecol 134(7):833,1979.

99. Chao YC, Humpreys S, Penfield W: A new method of prevention adhesions. The use of amnioplastin after craniotomy. *Br Med J* 1:517,1940.
100. Troensegaard-Hansen E: Amniotic graft in chronic skin ulceration. *Lancet* 1:859,1950.
101. Troensegaard-Hansen E: Amnion implantation in peripheral vascular disease. *Br Med J* 4:267,1956.
102. Trelford-Sauder M. and Dawe EJ: Use of allograft amniotic membrane for control of intraabdominal adhesions. *J Med* 9 (4): 273, 1978.
103. Young RL, Mason BA, Cota J, Wheeler J M, et al: Use of an amniotic membrane graft to prevent postoperative adhesions. *Fertil Steril* 55(3): 624, 1991.
104. Seashore JH, MacNaughton RJ, Talbert JL: Treatment of gastroschisis and omphalocele with biological dressings. *J Pediatr Surg* 10:9,1975
105. Gharib M: Repair of prenatally ruptured, omphalocele and the paraumbilical abdominal wall defect with the infants own fetal membranes. *Munch Med Wochenschr* 117:1555,1975,
106. Van der Linden PJQ, Erkens HWH, de Goeij AFPM, Dunselman GA, et al: Endometrial cell adhesion in an in vivo model using intact amniotic membranes. *Fertil Steril* 1999;65:76-80.
107. Shimazaki J, Yang H, Tsubato K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *104:2068-76,1997.*
108. Schmazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *Br J Ophthalmol* 82, 235-240,1980.
109. Tseng, Prabhasabat P, Lee S. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 124:765-774,1997.
110. Lee S. Tseng Scg. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol*.123.303-312,1997
111. Prabhasabat P, Barton K, Tseng SCG. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts primary closure for pteryj. Excision. *Ophthalmology* 104: 974-985.1997.
112. Tseng SCG, Prabhasabat P, Barton K. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allograft for corneal reconstruction in patients with limbal deficiency. *Arch. Ophthalmol* 116:431-441,1998.

113. Vishwakarma GK, Khare AK: Amniotic arthroplasty for tuberculosis of the hip A preliminary clinical study. *J Bone Joint Surg Br.* 1986 Jan;68(1):68-74
114. Ozgenel GY, Filiz G: Combined application of human amniotic membrane wrapping and hyaluronic acid injection in epineurectomized rat sciatic nerve. *J Reconstr Microsurg.* 2004 Feb;20(2): 153-7.
115. Ozgenel GY: The effects of a combination of hyaluronic and amniotic membrane on the formation of peritendinous adhesions after flexor tendon surgery in chickens. *J Bone Joint Surg Br.* 2004 Mar;86(2):301-7
116. Heiple KG, Goldberg VM, Powell AE, Bos GD, et al: Biology of cancellous bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18:179-85
117. ASAE standards, Shear and Three-point bending test of animal bone. ANSI/ASAE S459 DEC01, USA, 2003
118. Schemitsch EH, Bhandari M: Bone healing and grafting. In Koval KJ(ed). *Orthopaedic knowledge update-7.AAOS*, 2002;19-29
119. Claes L, Willie B: The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Progress in Biophysics and Molecular Biology.*2006;1-15 Review
120. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA: The role of growth factors in the repair of bone: Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg* 2002; 84A: 1032-44
121. Einhorn TA: Current concepts review: Enhancement of fracture- healing. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A:940-56 (Inst.course lect.1996.vol 45:401-16)
122. Hannouche D, Petite H, Sedel L: Current trends in the enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg* 2001;836:157-64
123. McKibbin B: The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg* 1978;60B: 150-62
124. Solheim E: Current concepts review: Growth factors in bone. *International Orthopaedics.* 1998;22:410-16
125. Busse JW, Bhandari M, Kulkarni AV, Tunks E: The effect of low-intensity pulsed ultrasound therapy on time to fracture healing: A meta-analysis. *Canadian Med. Ass. Jou.*2002; 166(4) :437-41
126. Stevenson S: Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts. *Clin Orthop Relat Res.* 1998 ;355Supp:239-46
127. Enneking WE, Burchardt H, Puhl JJ, Piotrowski G: Physical and biological aspects of repair in dog cortical bone transplants. *J Bone Joint Surg* 1975;57A:237-52

128. Eckardt H, Christensen KS, Lind M, Hansen ES, et al: Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing in an experimental model of fractures at risk of nonunion. *Injury*. 2005;36:489-94
129. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, Cook SD, et al: Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg* 2001;83ASupp(1):151-58
130. Bostrom MPG, Asnis P: Transforming growth factor beta in fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 ;355Supp: 124-31
131. Schmidmaier G, Wildeman B, Ostapowicz D, Kandziora F, et al: Long term effects of local growth factor (IGF-I and TGF- β) treatment on fracture healing: A safety study for using growth factors. *J Orthop Res*. 2004;22:504-19
132. Radomsky ML, Thompson AY, Spiro RC, Poser JW: Potential role of fibroblast growth factor in enhancement of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 ;355Supp:283-93
133. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, Fox CW: Novel formulation of fibroblast growth factor-2 and hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res*. 1999;17:607-14
134. Bak B, Jorgensen PH, Andreassen TT: The stimulating effect of growth hormone on fracture healing is dependent on onset and duration of administration. *Clin Orthop Relat Res*. 1991 -264:295-301
135. Rasubala L, Yoshikawa H, Nagata K, Lijima T, et al: Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2003;41:173-78
136. Eckardt H, Ding M, Lind M, Hansen ES, et al: Recombinant human vascular endothelial growth factor enhances bone healing in an experimental nonunion model. *J Bone Joint Surg* 2005;87B: 1434-38
137. Glowacki J: Angiogenesis in fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 ;355Supp:82-9
138. Cui GLY, McILmurray L, Allen WE, Wang H: rhBMP-2, rhVEGF165, rhPTN and thrombin-related peptide, TP508 induce chemotaxis of human osteoblasts and microvascular endothelial cells. *J Orthop Res*. 2005 ;23:680-85
139. Jackson RA, McDonald MM, Nurcombe V, Little DG, Cool SM: The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model. *J Orthop Res*. 2006;Apr:636-44
140. Zimmermann G, Henle P, Küsswetter M, Moghaddam A, et al: TGF- β 1 as a marker of delayed fracture healing. *Bone*. 2005;36:779-85
141. Nunamaker DM: Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat*

Res.1998;355Supp:56-65

142. Kirker CA, Gerhart TN, Armstrong N, Schelling SH, et al: Healing bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2 and copolymer. Clin Orthop Relat Res.1998 ;349:205-17
143. Kaygusuz MA, Ataşlı N, Aydoğdu İ, Özen S, et al: GM-CSF'nin kırık iyileşmesi üzerine etkisinin sıçan tibiaları üzerinde araştırılması. Acta Orthop Traumatol Turc.1999;33:205-10
144. Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM, et al: A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair. J Bone Joint Surg 2003;85A: 1425-35
145. Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, Günel İ, et al: Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. Acta Orthop Scand.1995;66(5):473-75
146. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, et al: The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic and histomorphometric parameters in rats. J. Orthop. Res 1991; 9:383-390
147. Hak DJ, Stewart RL, Hazelwood SJ: Effect of low molecular weight heparin on fracture healing in a stabilized rat femur fracture model. Orthop Res. 2006; Apr:645-52
148. Muratlı HH, Tabak AY, Korkusuz P, Örs Ü. et al: Endotelin antagonisti bosentanın kırık iyileşmesi üzerindeki etkisinin kobay modelinde incelenmesi. İnsizyon 1999;2(3): 171-80
149. Turan C. Amnion zarı greftinin üriner sistemde denenmesi (Tez çalışması). Ankara: A.Ü. Tıp Fakültesi, 1989.
150. Lee H, Ha SW, Kim JC: A novel application of amniotic membrane in patients with bullous keratopathy. J Korean Med Sci.2006;21 :324-28
151. Tejwani S, Kolari RS, Sangwan VS, Rao GN: Role of amniotic membrane graft for ocular chemical and thermal injuries. Cornea 2007;26:21-26
152. Gomes FR, Anjos JS, Nogueira TO, Guimaraes SAC: Histologic evaluation of the osteoinductive property of autogenous demineralized dentin matrix on surgical bone defects in rabbit skulls using human amniotic membrane for guided bone regeneration. Oral Maxillofac Implants.2001;16(4):563-71
153. Vishwakarma GK, Khare AK: Amniotic arthroplasty for tuberculosis of the hip. A preliminary clinical study. J Bone Joint Surg Br. 1986 Jan;68(1):68-74
154. Mencucci R, Menchini U, Dei R: Antimicrobial activity of antibiotic-treated amniotic membrane: An in vitro study. Cornea 2006;25:428-31
155. Trelford JD, Hanson W, Anderson DG: Wound healing and the amniotic membrane. J Med 6:383,1975.

10. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca daima ilgi, sevgi ve yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimleriyle yetişmemde büyük emeği geçen kliniğimizin değerli hocalarına, tezimin her aşamasında ilgi ve yardımını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Nazım KARALEZLİ'ye, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Tunç Cevat ÖĞÜN'e, Prof. Dr. Recep MEMİK'e, Prof. Dr. M.İ. Safa KAPICIOĞLU'na, Prof. Dr. Uğur YENSEL'e, Prof. Dr. Mustafa YEL'e, Prof. Dr. Mehmet ARAZİ'ye, Doç. Dr. İbrahim TUNCAY'a, Doç. Dr. Mustafa ÖZDEMİR'e, Doç. Dr. Hakan ŞENARAN'a ve kıdemli ağabeylerime ayrı ayrı teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Tezimin oluşmasında emeği geçen S.Ü Mühendislik Mimarlık Fakültesi Mekanik Anabilimdalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Ahmet AKDEMİR ve Araş. Gör. Dr. Hakan Burak KARADAĞ'a ilgilerinden dolayı teşekkür ederim.

Asistanlık hayatım boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, büyük özveriyle çalışan değerli asistan arkadaşlarıma ayrıca teşekkür ederim.

Kliniğimizde hemşire, fizyoterapist ve personel olarak görev yapan çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anne ve babama, kardeşlerime teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Dr. Serhan SEZGİN