



T.C.

BOZOK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**BOR NİTRÜR VE BORİK ASİT KOMPOZİTİ
İLE KAPLI PLAKLARIN KIRIK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ: HİSTOPATOLOJİK,
MOLEKÜLER VE RADYOLOJİK İNCELEME
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

DR. ENES ERDİ KAPUKAYA

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat KORKMAZ

YOZGAT-2024

T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**BOR NİTRÜR VE BORİK ASİT KOMPOZİTİ İLE
KAPLI PLAKLARIN KIRIK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ: HİSTOPATOLOJİK,
MOLEKÜLER VE RADYOLOJİK İNCELEME
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

Dr. ENES ERDİ KAPUKAYA

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat KORKMAZ

YOZGAT-2024

Bu araştırma Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TTU-2024-1383 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

‘‘**Bor nitrür ve borik asit kompoziti ile kaplı plakların kırık iyileşmesi üzerine etkisi: histopatolojik, moleküler ve radyolojik inceleme (Deneysel Çalışma)**’’ adlı bu çalışma Bozok Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak hazırlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim başından beri üzerimizde emeği geçen ve her zaman destek olan anabilim dalı başkanımız ve tez danışman hocam Prof. Dr. Murat KORKMAZ’a,

Gözümü açtığım ilk andan son ana, her zaman yanımda olan, ömrünü bana adanmış, tüm imkânlarıyla beni destekleyen biricik annem Birsen AKILLI KAPUKAYA’ya ve doktorluğumun temelini attıran, Ortopedi ve Travmatoloji’yi sevdiren, örnek aldığım, branşında ve tezimde emeğini esirgemeyen, gözümdeki en başarılı doktor saygıdeğer babam Prof. Dr. Ahmet KAPUKAYA’ya,

Tez çalışmalarımda emeği geçen Gazi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Prof. Dr. Abdulkerim Yörükoğlu, Arş. Gör. Resul BİBEROĞLU’na, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Prof. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN, Arş. Gör. Saniye KOÇ ADA, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş. Gör. Hülya BİNOKAY hocalarıma,

Uzmanlık eğitimimde emeği geçen Prof. Dr. Ahmet Şükrü SOLAK, Doç. Dr. Serhat DURUSOY, Doç. Dr. Ahmet Emre PAKSOY, Doç. Dr. Kerim ÖNER, Dr. Öğr. Üyesi Davut AYDIN, Dr. Öğr. Üyesi Hacı Ali OLÇAR, Dr. Öğr. Üyesi Göker YURDAKUL hocalarıma,

Çalışma arkadaşlarım Dr. Ali BOZ, Dr. Melikşah Bulut, Dr. Osman Muhammed ÖZBAY, Dr. Muhammed SARIKAYA, Dr. Burak MERT, Dr. Olga MOROZOVA, Dr. Hasan Nurettin MADRAN, Dr. Rafi ATABABAYEV, Dr. İrfan KARADAK, Dr. Mehmet Samet DEMİREL, Int. Dr. Beyza ATAY, Stj. Dr. Almila Nazlı KORUCU, Hemş. Birsen KUTBAY, Hemş. Hamide KORKMAZ, Hemş. Zeliha CANSIZ’a ve Hemş. Kübra ERDOĞMUŞ’a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Enes Erdi KAPUKAYA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLO VE GRAFİKLER DİZİNİ.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kemik dokusunun özellikleri ve kırık iyileşmesi	4
2.1.1. Kemik dokusu.....	4
2.1.2. Kırık İyileşmesi ve Tipleri.....	16
2.2. Femur Anatomisi	24
2.3. Rodentler ve Rat Anatomisi	26
2.3.1. Rodentler.....	26
2.3.2. Rat Anatomisi	27
2.4. Kırık iyileşmesi üzerinde yüzey kaplama ve yüzey kaplama materyalleri	28
2.4.1. Ortopedik biyomalzemeler	29
2.4.2. Kaplamada kullanılan malzemeler	30
2.4.3. Kaplama yöntemleri.....	34
2.5. Bor, Borik Asit ve Bor Nitrür	35
2.5.1. Bor	35
2.5.2. Borik Asit.....	36
2.5.3. Bor Nitrür.....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	39
3.1. Bor nitrür ve borik asit kompozitli plakların elde edilmesi	39
3.2. Çalışma Grupları	40
3.3. Hayvanların Hazırlanması, Kırık modeli ve Cerrahi	41
3.4. Radyoloji.....	44
3.5. Biyokimya.....	48
3.6. Histoloji.....	49
3.7. İstatistiksel Analiz	50

4. BULGULAR	51
4.1 Radyoloji.....	51
4.2 Biyokimya.....	63
4.3 Histoloji.....	74
4.4. Makroskopik değerlendirme.....	78
5. TARTIşMA	80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
7. ÖZET	87
8. ABSTRACT	88
9. KAYNAKLAR	89
10. EKLER	100

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Dünya bor madeni rezervleri.....	35
Tablo 2: hBN ve cBN'ün kimyasal değerleri.....	38
Tablo 3: Sakrifikasyon periyotları ve toplam rat sayıları	41
Tablo 4: Modifiye Lane ve Sandhu Radyolojik Skorlama Sistemi	47
Tablo-5: Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde Huo ve ark.'larının puanlama sistemi.....	50
Tablo 6: Post op 10.gündeki 1. Kontrol grubu ile 1. Deney grubu Lane-Sandhu skoru ve mikro-CT değerleri	54
Tablo 7: Post op 20.gündeki 2. Kontrol grubu ile 2. Deney grubu Lane-Sandhu skoru ve mikro-CT değerleri	55
Tablo 8: Post op 30.gündeki 3. Kontrol grubu ile 3. Deney grubu Lane-Sandhu skoru ve mikro-CT değerleri	56
Tablo 9: Grupların mikro-ct ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) değerleri (10. Gün)	57
Tablo 10: Grupların mikro-ct ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) değerleri (20. Gün)	58
Tablo 11: Grupların mikro-ct ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) değerleri (30. Gün)	58
Tablo 12: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25 th ,75 th) değerleri (10. Gün).....	61
Tablo 13: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25 th ,75 th) değerleri (20. Gün).....	61
Tablo 14: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25 th ,75 th) değerleri (30. Gün).....	61
Tablo 15: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25 th ,75 th) değerleri	62
Tablo 16: Post op 10.günde sakrifiye edilen kontrol grubu ile deney grubu biyokimya değerleri.....	63
Tablo 17: Post op 20.günde sakrifiye edilen kontrol grubu ile deney grubu biyokimya değerleri.....	64
Tablo 18: Post op 30.günde sakrifiye edilen kontrol grubu ile deney grubu biyokimya değerleri.....	65
Tablo 19: Grupların biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) değerleri (10. Gün)	65
Tablo 20: Grupların biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) değerleri (20. Gün)	66
Tablo 21: Grupların biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) değerleri (30. Gün)	67
Tablo 22: Grupların post-op gün bağımsız biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25 th ,75 th) ortalama değerleri	67
Tablo 23,24: IGF-1 biyokimyasal ölçüm standardizasyon tabloları.....	69
Tablo 25,26: ALP biyokimyasal ölçüm standardizasyon tabloları	71
Tablo 27,28: Osteokalsin biyokimyasal ölçüm standardizasyon tabloları.....	73
Tablo 29: Post op 10.gündeki 1. Kontrol grubu ile 1. Deney grubu histolojik Huo skorlaması	75
Tablo 30: Post op 20.gündeki 2. Kontrol grubu ile 2. Deney grubu histolojik Huo skorlaması	76
Tablo 31: Post op 30.gündeki 3. Kontrol grubu ile 3. Deney grubu histolojik Huo skorlaması	77
Tablo 32: Grupların Huo skorlaması karşılaştırılması (10. Gün)	77
Tablo 33: Grupların Huo skorlarının karşılaştırılması (20. Gün).....	78
Tablo 34: Grupların Huo skorlarının karşılaştırılması (30. Gün).....	78

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Kontrol ve deney gruplarının ortalama Mikro-CT toplam kemik volümü grafiği.....	59
Grafik 2: Kontrol ve deney gruplarının ortalama Mikro-CT yeni kortikal kemik miktarı grafiği	60
Grafik 3: Kontrol ve deney gruplarının ortalama Mikro-CT yeni kortikal kemik oranı (%) grafiği	60
Grafik 4: Kontrol ve deney gruplarının Lane-Sandhu Röntgen evreleme ortalaması grafiği.....	62
Grafik 5: IGF-1 düzeyi ölçümünde X eksen Standartların konsantrasyonu, Y eksen Absorbans değerleri	68
Grafik 6: Kontrol ve deney gruplarının IGF ölçümleri ortalaması grafiği.....	70
Grafik 7: ALP düzeyi ölçümünde X eksen Standartların konsantrasyonu, Y eksen Absorbans değerleri	70
Grafik 8: Kontrol ve deney gruplarının ALP ölçümleri ortalaması grafiği.....	72
Grafik 9: Osteokalsin düzeyi ölçümünde X eksen Standartların konsantrasyonu, Y eksen Absorbans değerleri	72
Grafik 10: Kontrol ve deney gruplarının Osteokalsin ölçümleri ortalaması grafiği.....	74

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

mm³: Milimetreküp

cm: Santimetre

BMP-7: Bone morphogenic protein-7

E2: Estradiol

ALP: Alkaline phosphatase, Alkalen fosfataz

PAS: Periyodik asit-schiff

CBFA1: Core binding factor alpha1, Merkezi bağlayıcı faktör1

Akt: Protein kinaz B

ERK: Extracellular signal-regulated kinase

APO: Anjiyopietin

VEGF: Vasküler Endotelyal Growth Factor

IL: Interlökin

PTH: Parathormon

TNF: Tumor nekroz faktör

TGF: Transforming growth faktör

GMP: Granülosit/makrofaj progenitor hücreler

ATP: Adenozin trifosfat

NF/κB: Nuclear Factor kappa B

OPG: Osteoprotegerin

RANK: Receptor activator of nuclear κB

HA: Hidroksiapatit

BN: Bor nitrür

BNNT: Bor nitrür nanotüp

MRC: Medical research council

PMMA: Polimetilmetakrilat

PU: Poliüretan

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PVP: Polivinilpirolidan

PTF: Politerefat

PGA: Poliglikolik asit

PLA: Polilaktik asit

c-BN: Kübik bor nitrür

h-BN: Hekzagonal bor nitrür

IGF-1: Insulin-like growth factor

BV: Bone volüme

BG: Borat glass

VCS: Vankomisin yüklü kalsiyum fosfat

VBG : Vankomisin yüklü borat camı

μ: Mikro

CoCrMo: Kobalt-kromiyummolibdenum

PLD: Darbeli lazer depolama

DLC: Diamond Like Carbon

TiO₂: titanyum oksit

Ct1: Tip I kollajen

Cs: Kitosan

HİP: Sıcak izostatik baskılama

MAPLE: Matriks destekli darbeli lazer buharlaştırma

EPD: Elektroforetik depolama

ZrO₂: Zirkonia

MRC-5: Akciğer dokusundan geliştirilmiş diploid hücre kültür hattı

TRAP: Tartarata dirençli asit fosfataz

WNT: Wingless-related integration site

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Kompakt kemikte osteon ve lamel yerleşimleri	6
Resim 2: Tam temaslı (kontakt) ve gap kırık iyileşmesi.....	19
Resim 3: Sekonder kırık iyileşmesi	21
Resim 4: Kırık iyileşmesinde 0.-5. Günler inflamatuvar faz, 5.21.gün onarım fazı ve 21.-35. Gün remodelling fazı rat femurunda gösterimi	24
Resim 5: Femur anatomisi.....	25
Resim 6: Myomorflar grubu şeması.....	27
Resim 7: Rat anatomisinde kemikler.....	28
Resim 8: 15mmx3mmx1mm boyutlarındaki standart plak ve bor nitrür-borik asit kompoziti kaplı plak	40
Resim 9: İnsizyon alanının tıraş edilmiş hali	42
Resim 10: Savaridas ve ark.'larının methoduna uygun kırık modeli oluşturulması	42
Resim 11: Plak vida uygulamasının ardından intra-op görünümü	43
Resim 12: Cilt sütürasyonu sonrası görünümü	43
Resim 13: Kalça destekliuzun bacak atel uygulanması	44
Resim 14: Maestro RX-7 Yeni Nesil Portatif İntraoral X-Ray	45
Resim 15: Post-op 0.gündeki kontrol grubunda bir ratın AP ve lateral sağ femur direkt grafi görüntülemeleri.....	45
Resim 16: İntrakardiyak kan alınarak uygulanan sakrifikasyon yöntemi	46
Resim 17: Bruker Skyscan 1275 Mikro-CT	48
Resim 18: Medwelt 800 D Santrifüj Cihazı 6'lı.....	49
Resim 19: Post op 30.gündeki deney grubundaki bir ratın röntgen örneği ve kallus dokuları(ok ile gösterilen)	51
Resim 20: Post op 30.gündeki deney grubundaki bir ratın mikro-ct örnekleri	52
Resim 21: Post op 30.gün kontrol örneği makroskopi, röntgen ve Mikro-CT görüntüleri	52
Resim 22: Post op 30.gün deney örneği makroskopi, röntgen ve Mikro-CT görüntüleri.....	53
Resim 23: Kontrol ve deney grubundan sakrifiye edilmiş deneklerin 10., 20. ve 30. günlerde sağ femurların makroskopik görüntüsü	79

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Travmalar tüm dünyada her ırk, tür ve cinsiyette görülebilen patolojilerdir. Yalnızca ABD’de 50 milyondan fazla hasta her yıl bir tür travmaya bağlı tıbbi bakım almaktadır (1). Kemik kırıkları ise travmalar içinde önemli bir yer tutan, ciddi bir ekonomik yük teşkil eden dünya çağında bir halk sağlığı sorunudur (2). Kırıklar, iş devamsızlığına, çalışma verimliliğinin azalmasına, engelliliğe, yaşam kalitesinin bozulmasına, sağlık kaybına ve yüksek sağlık bakım maliyetlerine neden olarak, bireylerin, ailelerin, toplumların ve sağlık sistemlerinin üzerinde büyük bir yük oluşturur. Bu durum ekonomik etkilere yol açabilirken, aynı zamanda kırıklarla ilgilenme sürecinde fiziksel ve duygusal zorluklarla karşılaşan bireylerin ve ailelerin psikolojik sağlığını da etkileyebilir. Dolayısıyla, kırıkların önlenmesi ve etkilerinin azaltılması, hem bireyler hem de toplumlar için önemli bir halk sağlığı meselesidir (3).

2019 yılında dünya çapında 204 ülkede yapılan çalışmada 1990-2019 yılları arasındaki 29 yıllık süreçte (1990 yılından bu yana %33.4’lük bir artış ile) 178 milyon yeni kırık vakası bildirilmiştir. Yeni kırık vakalarının 102 milyonu erkek cinsiyetinde, 76 milyonu ise kadın cinsiyette izlenmiştir. Ayrıca kırıklara bağlı oluşan akut ve kronik 455 milyon vaka bildirilmiştir. Kırıkların en sık görülme bölgesi alt ekstremitte kırıkları (patella, tibia, fibula ve ayak bileği), en sık görüldüğü yaş ise 95 ve üstü olarak bildirilmiştir (4).

Kırıkların tedavisinde immobilizasyon, atelleme, alçılama ve cerrahi yöntemler gibi birçok yöntem bulunmaktadır. Kırıkların cerrahi tedavisinde plak vida ile internal fiksasyon en sık kullanılan cerrahi tedavi yöntemlerinden biridir. Kemik vidaları, cerrahi müdahalelerde kullanılarak kemik parçalarını stabilize etme, bir kemik plakasını sabitleme veya parçalar arası tel veya kemik çimentosu fiksasyonu için iskele sağlama işlevi görür. Bu vidalar, çeşitli boyutlarda, uzunluklarda, diş tiplerinde ve metallerden oluşur, böylece cerrahlar için farklı kemik yapıları ve cerrahi gereksinimlere uygun seçenekler sunar. Vidaların işlevselliğini artırmak için, çeşitli tasarım özelliklerine sahip farklı vidalar bulunmaktadır. Örneğin, vidanın çekilmeye karşı direnç gösterme

yeteneği, klinik açıdan son derece önemlidir çünkü bu, kemik iyileşme sürecini etkiler. Bu direnç, vidanın yivlerinin dış çapı ve yerleştirildiği kemiğın gücü ile yakından ilişkilidir. Ayrıca, vidaların kemik içine yerleştirilme yöntemi de önemlidir. Doğru konumlandırma, vidaların kemik içinde stabil kalmasını ve kemik iyileşmesine uygun bir ortam sağlamasını sağlar. Bu, cerrahın dikkatli bir şekilde vidaları seçmesi ve uygun biçimde yerleştirmesi gerektiği anlamına gelir. Sonuç olarak, kemik vidaları cerrahi müdahalelerde önemli bir rol oynamakta olup, uygun seçim ve yerleştirme, başarılı bir kemik iyileşmesi için hayati öneme sahiptir (5, 6, 7).

Kırık cerrahisinde kullanılan kemik plakları, çeşitli boyutlarda, şekillerde ve tasarımlarda mevcuttur. Plak seçimi, bir dizi faktöre bağlıdır, bu da kemiğın boyutu ve aktivite düzeyi için gereken mekanik güçten, kırık segmentlerin boyutu, türü ve uygulama yöntemine kadar değişir. Kemik plakları, çeşitli kuvvetlere direnç gösterir. Bunlar arasında gerilim, kompresyon, kesme ve dönme kuvvetleri bulunur. Ayrıca, plaklar yerleşimlerine bağlı olarak bükülme kuvvetlerine de direnç gösterir. Tam anatomik redüksiyon elde edildiğinde, plaklar en yüksek dirence ulaşır ve yükü kemikle paylaşarak daha uzun dayanıklılık sağlar. İdeal bir plak, mümkün olduğunca az iyatrojenik travmaya neden olmalıdır. Ancak aynı zamanda stabil bir fiksasyon sağlamalıdır. Bu nedenle, plak kemiğe mümkün olduğunca yakın oturacak şekilde şekillendirilmelidir. Hem proksimal hem de distal ana kemik segmentlerine en az 2 vida (4 korteks) takılmalıdır. Ancak tercihen 3'ten fazla vida (6 korteks) kullanılması daha iyidir. Bikortikal vidalar, monokortikal vidalardan önemli ölçüde daha güçlü sabitleme sağlar. Kemik plakları, diafizyal uzun kemik kırıklarına uyum sağlar ve kemiğın dışbükey tarafına yerleştirildiğinde mevcut gerilim kuvvetlerini dengeler. Bu, plakların kemik iyileşme sürecini desteklerken, kemik dokusunun doğal yapı ve fonksiyonunu korumaya yardımcı olur. Ayrıca, plakların uzun vadeli başarısını etkileyen faktörler arasında uygun vida seçimi ve plak yerleşimi gibi detaylar da önemlidir (6, 7) .

Plak vida fiksasyon yöntemi açık redüksiyon ile anatomik redüksiyon sağlayabilir ve vidaların tek başına dayanamayacağı deformasyon kuvvetlerine karşı koyabilir (8). Bununla birlikte plak vida sistemi, enfeksiyon riskini de

yanında getirmektedir. İmplant edilen biyomateryaller, genellikle immünite açısından zayıf bir fibroinflamatuvar bölge ile çevrilir. Bu bölge, implantın yüzeyine yapışan bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların kolonileşmesi için bir alan sağlar (9). Gristina ve arkadaşları, bu durumun bakterilerin bir biyofilm oluşturmaya ve ek patojenik potansiyel kazanmasına yol açtığını öne sürmüşlerdir (10). Biyofilmler, bakterilerin yavaş veya sabit bir aşamaya girdiği ve çoğu antimikrobiyal ajana karşı daha dirençli hale geldiği yapısal formasyonlardır. Bu durum, bağışıklık sistemi ve antibiyotiklerin implant çıkarılana kadar bakterileri tamamen yok edememesine neden olabilir. Bu da erken enfeksiyonların tedavisini zorlaştırabilir ve uzun vadede implantın başarısını olumsuz yönde etkileyebilir (9).

İmplant başarısızlığı, ileri evre komplikasyonlardan biridir ve başlıca iki nedeni aseptik gevşeme ve enfeksiyondur. Bu başarısızlıkların bildirilen oranları çalışmaya göre değişmekle birlikte, implant başarısızlıklarının yaklaşık %18'i aseptik gevşemeden, %20'si ise enfeksiyondan kaynaklanmaktadır. Aseptik gevşeme çeşitli kaynaklardan kaynaklanabilir. Bunlar, yükleme sırasında implantın kemiğe göre mikro hareketini, enfeksiyon ve kemik erimesine yol açan implant aşınma parçacıklarının oluşmasını ve zayıf osseointegrasyonu içerir (11). Bu gibi komplikasyonlardan dolayı son dönemde kırık iyileşmesinde implant uygulamasına yüzey kaplama methodları geliştirilmektedir. Boşluk köprüleyen kaplamalar, kalsiyum-fosfat kaplamalar, biyoaktif cam kaplamalar, uzun dönem antibiyotik salınlı kaplamalar, zirkoniyum nitrit ve bor nitrid kaplamalar gibi birçok yöntem bulunmuş ve halen geliştirilmektedir (12).

Bu çalışmada, bor nitrid ve borik asit kompoziti ile kaplı plakların ratlarda kırık iyileşmesi üzerindeki etkisini değerlendirdik. Çalışmamızın amacı, bor nitrid ve borik asit kompoziti ile kaplı plakların normal plaklara oranla kırık iyileşmesi üzerindeki etkinlik farkını histopatolojik, moleküler ve radyolojik olarak değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik dokusunun özellikleri ve kırık iyileşmesi

2.1.1. Kemik dokusu

2.1.1.1. Kemik dokusunun tanımı

Kemik, mineralize ekstraselüler matriks ile karakterize bir bağ dokusudur. Diğer bağ dokulardan ayıran özelliği, matriksin mineralizasyonudur ve bu özelliği sayesinde destek ve koruma yeteneği sahip sert bir doku özelliğini taşır. Mineral içeriği nedeniyle kemik, aynı zamanda kalsiyum ve fosfat için bir depo bölgesi olarak hizmet etmektedir (13).

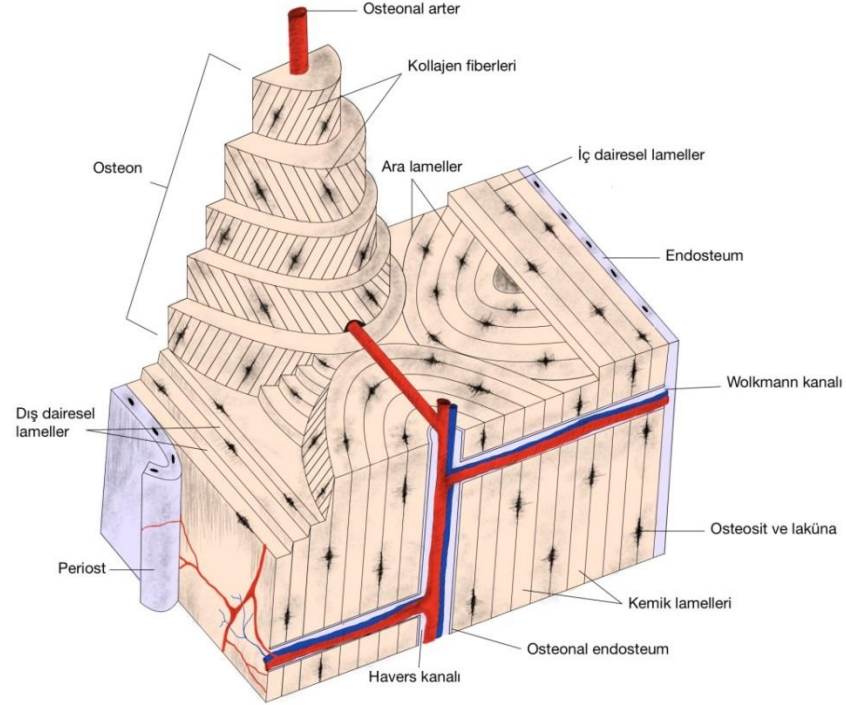
İnsan iskeleti, yaklaşık 206 adet kemikten oluşur. Bu kemikler, farklı şekil, boyut ve fonksiyonlara sahiptir ve vücudun çeşitli bölgelerinde bulunur. Eklem, bağ ve kaslar aracılığıyla birbirlerine bağlanır ve vücudun hareket etmesini sağlar. Kemik, insan iskelet sisteminin temelini oluşturan hayati bir dokudur. Bu dokunun önemli fonksiyonları bulunur. Bunların arasında vücudu destekleme, hareket sağlama, iç organları koruma, mineral depolama ve kan hücresi üretimi gibi önemli fonksiyonlar bulunur. Kemik, canlı, vasküler bir yapıya sahiptir ve sürekli olarak yenilenen mineralize bir bağ dokusu olarak tanımlanır. Kemik dokusu, sert ve dayanıklı bir yapıya sahiptir. Ayrıca, kendini yenileme yeteneği sayesinde travmalara ve streslere karşı koruyucu bir bariyer oluşturur. Bununla birlikte, kemik dokusunun karakteristik büyüme mekanizmaları, kemiklerin gelişimini, şekil ve boyutunu kontrol eder. Kemik dokusunu oluşturan hücreler ve interselüler matriks, kemiklerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini belirler. Osteositler, kemik dokusunun ana hücreleri olup, matriks içinde yer alırlar. Matür kemikte, matriksin %40'ını genellikle kollajen gibi organik materyaller oluştururken, %60'ını kalsiyum ve fosfattan zengin inorganik tuzlar oluşturur. Bu materyaller, kemiklerin dayanıklılığını artırır ve mineralize olmuş yapıya sahip olmalarını sağlar (14,15,16).

Kemiğin enine kesiti incelendiğinde, iki ana tip kemik dokusu belirlenebilir: kompakt kemik ve kanselöz kemik. Uzun kemiklerde, dış yüzeyi kaplayan kısmı genellikle yoğun kompakt kemikten oluşur ki bu kemik, sert ve dayanıklıdır ve kemik dokusunun en dayanıklı formunu oluşturur. Kompakt

kemiğin iç yüzeyi, ilik boşluğuna komşu olan kanselöz kemik tarafından kaplanır. Kanselöz kemik, daha az yoğun ve daha hafif bir yapıya sahiptir ve birçok bağlantılı boşluk içerir (17).

Yeni doğanlarda, kemik ilik boşluğu kırmızıdır ve hematopoetik (kan hücresi üreten) özelliktedir ancak, yetişkinlerde, ilik kavitesi genellikle sarı renklidir ve yağ hücreleriyle doludur. Bu, yaşla birlikte kemik iliğinin kompozisyonunun değiştiğini gösterir.

Kompakt kemikte, kollajen lifler ince tabakalar halinde düzenlenir ve lamella adı verilen bu yapılar, kemiklerin çevresinde paralel olarak bulunur. Uzun kemiklerde, dış dairesel lameller periosteumun (kemik zarının) altında yer alırken, iç dairesel lameller kemik iliği boşluğunu çevreler. Kemik dokusunu çevreleyen lamellalar arasında bulunan osteonlar veya Havers sistemleri, kemik içindeki kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren kanalları çevreler (18). Her bir osteon, merkezi bir kanal veya Havers kanalı etrafında düzenlenmiş olan bir dizi konsentrik lamelden oluşur. Kompakt kemikte, bu osteonlar genellikle büyük bir bölümü oluşturur. Osteositler, bu lamellalar arasındaki lakünlerde bulunur ve birbirlerine kanaliküller aracılığıyla bağlanırlar. Bu yapı, kemik dokusunun beslenmesi, iletişimi ve iyileşmesi için önemlidir (19) (Resim 1).



Resim 1: Kompakt kemikte osteon ve lamel yerleşimleri

Kemik matriksi, canlı hücrelerin ve hücre dışı materyalin bir araya gelmesiyle oluşan kompleks bir yapıdır. Bu matriks, kıkırdaktan daha sert bir yapıya sahiptir çünkü kalsifiye veya mineralize olmuştur. Kalsifiye matriksten difüzyon zordur, bu nedenle kemik dokusunda beslenme için çok sayıda damar bulunur. Bu damarlar, kemik hücrelerine oksijen, besin maddeleri ve hormonlar gibi gerekli maddeleri sağlar, aynı zamanda atık maddelerin uzaklaştırılmasına yardımcı olur (19).

Kemik matriksi, organik ve inorganik bileşenlerden oluşur. Organik bileşenler genellikle kollajen gibi proteinlerdir. Kollajen lifleri, kemik dokusunun esnekliğini sağlar ve kemiklerin kırılmadan önce bükülmesine izin verir. Ayrıca, kollajen lifleri, kemik dokusunun yapısal bütünlüğünü korur ve

hücreler arasında iletişimi destekler. İnorganik bileşenler ise genellikle kalsiyum ve fosfatların yanı sıra sitrat ve magnezyum mineralleridir. Bu mineraller, kemik dokusuna sertlik ve dayanıklılık kazandırır. Kemik matriksi içindeki mineral kristalleri, kollajen liflerinin arasına yerleşir ve kemiklerin sertliğini artırır. Bu mineralize yapı, kemik dokusunun kırılmadan önce bükülmesini engeller ve kemiklerin yapısal bütünlüğünü sağlar. Bu bileşenlerin kombinasyonu, kemik dokusunun sağlamlığını ve esnekliğini sağlar (16,17).

Kemik matriks proteinlerinden biri olan kemik morfojenik proteini-7 (Bone Morphogenic protein-7, BMP-7) osteoblastlar tarafından salgılanarak mezenkimal hücrelerin kemiğe ve kıkırdığa dönüşümünü indükler. BMP-7 aynı zamanda kemik homeostazında rol oynar (20).

Organik bileşenler gerilme ve bükülmeye karşı dayanıklılık sağlarken, inorganik bileşenler basınca karşı direnç sağlar. Kemik matriksi, bu dengeli kombinasyonuyla kemik dokusunun sağlamlığını ve dayanıklılığını korurken, aynı zamanda esnekliğini de sağlar (19). Kemik matriksinin ana yapısal öğeleri, tip I ve daha az miktarda tip V kollajendir. Ayrıca, tip III, XI ve XIII gibi diğer kollajen tipleri de matrikste bulunabilir, ancak eser miktarlardadır. Tüm bu kollajen molekülleri, kemik matriks proteinlerinin toplam ağırlığının %90'ını oluşturur. Tip I kollajen, kemik dokusunun ana yapı taşıdır ve lifler halinde düzenlenerek kemik dokusuna dayanıklılık ve esneklik kazandırır. Tip V kollajen ise tip I kollajen liflerinin düzenlenmesini düzenleyen ve kemik dokusunun yapısal bütünlüğünü destekleyen bir rol oynar. Tip III, XI ve XIII kollajenler ise daha az miktarda bulunurlar ve kemik matriksinin yapısal çeşitliliğine ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunurlar. Bu kollajen tipleri, özellikle kemik dokusunun onarılması ve yenilenmesi süreçlerinde önemli rol oynarlar. Kollajenler, kemik matriksinin yanı sıra diğer yapısal proteinlerle birlikte çalışarak kemik dokusunun dayanıklılığını ve esnekliğini sağlarlar. Bu, kemiklerin mekanik streslere karşı direncini artırır ve kemik dokusunun sağlam bir yapıya sahip olmasını sağlar. Bu nedenle, kemik matriksindeki kollajenler, kemik dokusunun yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesinde kritik bir rol oynarlar (13,16).

2.1.1.2. Kemik dokusunun yapısı ve histolojisi

Kemik, hücreler arasında kalsifiye olan kemik matriksi içinde dizilim gösteren hücrelerden oluşur. Kemikle ilişkili çok sayıda hücre mevcut olmasına rağmen; bunların içinde kemik üretimi, yıkımı ve yapımını düzenlemede özelleşmiş olan hücre tipleri ön plana çıkmaktadır. Bunlar 5 tiptir;

- Osteositler
- Osteoblastlar
- Osteoklastlar
- Osteoprogenitör
- Kemik-döşeyen hücrelerdir (13).

Osteositler

Olgun insan iskeletinde hücrelerin %90'ından fazlasını osteositler oluşturur (21). Osteoblast tarafından üretilen kemik matrikse ile çevrelendiği matür kemik hücreleridir. Kemik matriksin devamlılığında sorumlu olan hücrelerden biri osteositlerdir. Osteositler, kemik dokusunun içinde bulunan ve kemik sağlığının korunmasında önemli bir rol oynayan özelleşmiş hücrelerdir. Bu hücrelerin rollerinden biri, kemik güçlerine verdiği yanıttır. Özellikle mekanik uyarıcılar, örneğin mekanik yük artışı gibi, osteositlerin gen ekspresyonunu düzenler ve hücrenin apoptotik mekanizmasını etkiler. Ayrıca, osteositler matriks sentezinde ve yıkımında da aktif rol alırlar. Matriks sentezindeki aktiviteleri, yeni kemik dokusunun oluşumunu ve kemik matriksinin güçlendirilmesini sağlar. Matriks yıkımındaki rolleri ise kemik dokusunun yenilenmesi ve kalsiyum dengesinin sağlanmasıyla ilişkilidir. Osteositlerin yaşamları boyunca çeşitli koşullar altında farklılaşabilirler. Travma, hücre yaşlanması veya apoptoz gibi durumlar sonucunda osteositler ölebilir ve bu durum osteoklast aktivitesi ile kemik matriksine rezorbe olmayı takip eder. Daha sonra ise kemik dokusunun onarımı veya yeniden şekillenmesi süreci osteoblast aktivitesi ile devam eder. Osteositlerin farklı tipleri vardır ve bu tipler, morfolojik ve fonksiyonel özelliklerine göre sınıflandırılabilirler.

- İnaktif osteositler; az granüllü endoplazmik retikulum ve belirgin şekilde küçülmüş golgi aygıtı sergilerler.
- Formatif osteositler; matriks birikimi kanıtları ve osteoblastlara benzeyen bazı karakteristikler gösterirler.
- Rezorbtif osteositler; ise formatif osteositlere benzer şekilde, çok sayıda endoplazmik retikulum kesiti ve iyi gelişmiş bir golgi aygıtı içerirler.

Bu farklı osteosit tipleri, kemik dokusunun yenilenmesi ve homeostazı için önemlidir ve kemik sağlığı üzerinde karmaşık bir etkiye sahiptirler (13,14,15). Osteositler kemiğin canlılığı için gerekli maddeleri salgırlar. Bu hücreler aktif olarak kemik matriksinin bakımından sorumlu olup, ölümelerini takiben matriks erimesi görülür (22).

Osteoblastlar

Osteoblastlar, mezenkimal kökenli osteoprogenitör hücrelerden farklılaşarak, kemik oluşturan ve kemik matriksini salgılayan çok yönlü hücrelerdir. Bu hücreler, fibroblast ve kondroblast gibi diğer hücre türlerinin yanı sıra kemik matriksinin oluşumunu sağlarlar. Başlıca görevleri, kemikteki ana protein olan Tip I kollajenin (%90'ını oluşturur) ve kemik matriks proteinlerinden biri olan kemik matriks protein-7 (Bone matrix protein-7, BMP-7) 'nin salgılanmasıdır. Kemik matriks proteinleri arasında kalsiyumu bağlayan osteokalsin ve osteonektin proteinleri, osteoblastlar tarafından üretilir. Ayrıca kemik siyaloproteinleri I ve II, osteopontin ve trombospondin glikoproteinlerin sentezinde ve alkalin fosfataz (ALP) üretiminde de rol alırlar. Klinik olarak, osteoblast aktivitesinin ölçümünde ALP ve osteokalsinin dolaşımdaki seviyeleri kullanılır. Osteoblastlar ayrıca kemik matriksinin kalsifikasyon sürecinden de sorumludur. Bu süreçte, osteoblastlar tarafından salgılanan ve kemik mineralizasyonunda önemli rol oynayan çeşitli proteinler ve enzimler kullanılır. Bu şekilde, osteoblastlar kemik oluşumunun ve mineralizasyonunun düzenlenmesinde kritik bir rol oynarlar, kemik dokusunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korur ve kemik sağlığını desteklerler (13,23).

Osteoblastlar, aktif ve inaktif olmak üzere iki farklı formda bulunurlar. Aktif osteoblastlar, kemik matriksinin birikimi sırasında salgı yapan hücrelerdir.

Kemik oluşturma sürecinde, bu hücreler kemik yüzeyinde yer alır ve çevrelerinde yeni kemik dokusu oluştururlar. İnaktif osteoblastlar ise kemik yüzeyinde daha yassı bir şekilde bulunur ve genellikle bir dönem aktif olmuş ancak matriks birikimi görevini tamamlamış hücrelerdir. Bu hücreler, osteoprogenitör hücelere benzer bir görünüme sahiptirler. Osteoblastlar, mekanik uyarıcılara yanıt olarak kemik büyümesini ve yeniden şekillenmesini sağlarlar. Örneğin, kemik üzerindeki mekanik yük artışı, osteoblastların aktivasyonunu teşvik edebilir ve yeni kemik dokusu oluşumunu uyarabilir. Ayrıca, osteoblastlar, kemik dokusunun homeostazını sağlamak için diğer osteoblastlar ve osteositlerle iletişim halindedirler. Bu iletişim, kemik dokusunun sağlığı ve dengesi için önemlidir. Osteoblastların sitoplazması bol granüllü endoplazmik retikulum ve serbest ribozomlarla karakterizedir. Bu yapılar, protein sentezi için gereklidir ve kemik matriksinin oluşumunda önemli bir rol oynarlar. Sitoplazmada, periyodik asit-schiff (PAS) pozitif granüller bulunur. Bu granüller, özellikle kemik matriksinin sentezinde ve mineralizasyonunda rol oynayan çeşitli proteinlerin üretiminde yer alır. Osteoblastların sitoplazması ayrıca belirgin bir bazofiliktir, yani bazık boyalara karşı afiniteleri yüksektir. Bu zellik, osteoblastların hücresele aktivitelerini belirlemeye ve kemik dokusunun oluşturulmasına katkıda bulunur (13,14,15).

Osteoklastlar

Osteoklastlar, kemik rezorbsiyonundan sorumlu çok çekirdekli büyük hücrelerdir. Kemik dokusu üzerinde bulunarak, kemik rezorbsiyonunu gerçekleştirirler ve bu süreçte, osteoklastların etkisi altında kemikte sığ bir çukur oluşur, bu çukura rezorbsiyon çukuru veya Howship laknası denir. Osteoklastlar büyük boyutlu, çok çekirdekli, belirgin asidofiliktir ve yüksek miktarda lizozom içerdiklerinden dolayı, güçlü histokimyasal reaksiyonlar gösterirler. Bu reaksiyonların arkasındaki neden, içerdikleri asit fosfatazdır. Osteoklast aktivitesini belirlemek için, yapısında demir içeren bir enzim olan tartarata dirençli asit fosfataz (TRAP) kullanılır (13).

Osteoklastlar kemik doku rezorbsiyonunu, kemik dokusunu, ekstraselüler alanın etrafına protonlar ve lizozomal hidrolazlar göndererek yapar. Hedeflenen kemik dokusunun rezorbsiyonu tamamlandığında osteoklastlar apoptoza

uğrayarak görevini tamamlar. Bu süreç, kemik remodelleşmesinde önemli bir rol oynar (13).

Osteoklast aktivitesini etkileyen hormonlardan bir tanesi de Paratiroid hormon (PTH) düzeyindeki artıştır. Buna karşın tiroid bezinin parafoliküler C hücreleri tarafından salgılanan kalsitoninin ise osteoklast aktivitesini azaltarak iki hormon arasında dengede tutulmaktadır. PTH kemikte, hem osteoblastlara hem osteoklastlara etki etmektedir. PTH bu etkiyi kemik oluşumunu direkt olarak etkileyen IGF-I'in ya da diğer kemik stimüle edici faktörlerin lokal üretimini arttırarak stimüle edebilir (13).

Osteoklastlar, mononükleer hemopoetik hücrelerin, yani granülosit/makrofaj progenitor hücrelerin (GMP, CFU-GM) birleşiminden ortaya çıkar. GMP progenitor hücrelerden salgılanan sitokinler aracılığıyla stromal hücrelerin osteoklasta veya makrofaja dönüşeceği belirlenir. Bu sitokinlerin bazıları; monosit koloni stimüle edici faktör [monocyte colony-stimulating factor (M-CSF)], TNF(Tumor nekroz faktör) ve bazı interlökinlerdir. Osteoklast prekürsörleri (yani osteoklastlara dönüşecek hücreler), iki önemli transkripsiyon faktörü olan c-fos ve NF/kB(Nuclear Factor kappa B) ile eksprese edilir. Daha sonra NF/kB'nin reseptör aktivatörü [receptor activator of nuclear κ B (RANK)] adı verilen reseptör molekülü bu hücrelerin yüzeylerinde eksprese edilir ve RANK reseptörü, stromal hücrelerle (RANKL) etkileşir. RANK-RANKL sinyal mekanizmasının amacı, hücrelerin osteoklast farklılaşmasını ve matürasyonunu sağlamaktır. Başka bir yolak ise, enflamasyon sırasında aktive olan T lenfositlerin hem membrana bağlı hem de çözünebilir RANKL molekülleri üretmesidir. Bu sebeple osteoklast-aracılı kemik rezorbsiyonunu uyarıcı etki oluşabilir. Bu yolak, RANKL için "sahte" reseptör olarak hizmet eden osteoblastlar tarafından sentezlenen osteoprotegerin (OPG) ile bloke edilebilmektedir. Uygun ligandın bulunmaması durumunda RANK-RANKL sinyal yolağını etkiler ve osteoklast oluşumunun güçlü bir inhibitörü olarak etki eder. OPG'nin görevleri arasında kemik metabolizmasını düzenleyen IL-1, TNF, TGF- β (Transforming growth faktör- β), vitamin D ve prostaglandin E2(Estradiol) gibi yapıların düzenlenmesi bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, osteoklast farklılaşmasını ve kemik rezorbsiyonunu etkileyen

maddelerin kemik iliğinde OPG/RANKL sistemi üzerinden etkilediğini göstermiştir. Hem OPG hem de RANKL kanda serbest halde tespit edilebilirler. Bu ölçümler, bazı kemik hastalıklarının tedavi sürecinin takibinde kullanılabilir (13,14,15).

Osteoprogenitör Hücreler

Kemiğin dış yüzeyi, dıştan sıkı bağ dokusu ile çevrelenmiş olan ve içerisinde osteoprogenitör hücreleri barındıran periosteum ile kaplıdır. Periosteum, kemiğin dış tabakasını oluşturur ve kemiğin büyümesini ve onarımını destekler. Kemiğin santral kavitesi ise özel, ince bir bağ dokusu olan endosteum ile örtülüdür. Endosteum, kemiğin iç yüzeyini kaplar ve tek tabakalı bir yapıya sahiptir. Bu tabaka, osteoprogenitör hücreleri ve osteoblastları içerir (14).

Embriyonik mezenkimal hücrelerden köken alan osteoprogenitör hücreler, vücuttaki çeşitli dokuların oluşumunda önemli bir rol oynarlar. Bu hücreler, çoğalma potansiyeli ve farklılaşma kapasitesine sahip olmalarıyla bilinirler. Özellikle kemik dokusunun oluşumu ve yenilenmesinde büyük öneme sahiptirler. Gerekli durumlarda hücreSEL düzenleyici mekanizmalarla osteoblastlara dönüşerek kemik dokusunun yapımına katkı sağlarlar. Aynı zamanda, düşük oksijen basıncı varlığında kondrojenik hücrelere dönüşebilme yetenekleri de bulunmaktadır, bu da kırık dokusunun oluşumu ve onarımında rol aldıklarını gösterir. Osteoprogenitör hücreler, genellikle periosteumun sellüler iç tabakasında ve Havers kanallarını çevreleyen endosteumda bulunurlar. Bu bölgelerde bulunmaları, kemik dokusunun oluşumu ve yenilenmesindeki süreçlere doğrudan katılımlarını sağlar. Bu hücreler, yaşam boyunca canlılıklarını sürdürebilirler ve kemik kırıklarının onarımı gibi durumlarda aktive olabilirler. Ayrıca, kemik dokusu dışındaki diğer hasarların onarımında da rol oynayabilirler. Osteoprogenitör hücrelerin bu çok yönlü yetenekleri, vücudun sağlıklı bir şekilde işlev görmesi ve yaralanmalara karşı kendini tamir etme yeteneğinin korunmasında önemlidir. Bu hücrelerin aktivasyonu, kemik kırıklarının yanı sıra kırık dokuları ve diğer dokuların zarar görmesi durumunda da vücudun doğal iyileşme sürecini destekler. Bu nedenle, osteoprogenitör hücreler, vücudun yapısal bütünlüğünü korumak ve sağlıklı

kalmasını sağlamak için kritik bir rol oynarlar (18,24). Osteoprogenitör hücrelerin farklılaşmasını tetikleyen anahtar faktör, merkezi bağlayıcı faktör alfa-1 (CBFA1) adı verilen bir transkripsiyon faktörüdür. Bu protein, hücre içindeki çeşitli sinyal yollarıyla aktive olur ve osteoblastların olgunlaşmasını sağlayarak kemik oluşumunu destekler. CBFA1, özellikle osteoblastların karakteristik özelliklerini kodlayan genlerin ekspresyonunu artırarak, hücrelerin kemik doku matrisi sentezini ve mineralizasyonunu kolaylaştırır (13).

Kemik-döşeyen hücreler

Aktif büyüme veya yeniden şekillenme gerçekleşmeyen kemik yüzeylerinde bulunan yassı hücreler, az stoplazmalıdır ve çoğunlukla perinükleer bölgenin ötesinde organeller bulunmaz. Bu hücreler, kemik birikiminin durduğu zamanlarda kalan osteoblastlardan türemektedir. Bu hücrelerin ana görevi, altlarında gömülü olan osteositlerin devamlılığını sağlamak ve kemik dokusunun yapısal destekleyicileri olarak hizmet etmektir. Ayrıca, kalsiyum ve fosfat gibi minerallerin kemik içine ve dışına taşınmasını düzenlemek de dahil olmak üzere mineral metabolizmasında önemli rol oynarlar. Bununla birlikte, bu hücrelerin, komşu kemiğin kanalikül kanallarına uzanan ve osteosit uzantıları ile iletişim kuran uzantılar aracılığıyla aktif olduğu gözlemlenmiştir. Bu iletişim yoluyla, kemik dokusunun yapısal bütünlüğü korunur ve mineral dengesi sağlanır. Özellikle kemik doku üzerindeki mekanik yüklerin etkisiyle, osteositlerin oluklu bağlantılar aracılığıyla hücreler arası iletişimi sürdürdüğü ve kemik dokusunun homeostazını koruduğu düşünülmektedir. Bu süreç, kemik dokusunun dayanıklılığını ve adaptasyonunu sağlayarak vücudun yapısal bütünlüğünü korur (13,15).

2.1.1.3. Kemik oluşumu ve tipleri

Kemiğin gelişimi, genellikle endokondral ve intramembranöz olmak üzere iki ana süreçte gerçekleşir. Bu sınıflandırma, kemiğin oluşumunda rol oynayan temel mekanizmaları ifade eder. Endokondral ve intramembranöz oluşum arasındaki temel fark, kıkırdak modelin kemiğin prekürsörü olarak hizmet edip etmediğidir (endokondral kemikleşme) ya da kemiğin daha basit bir yöntemle, kıkırdak prekürsörün aracılığı olmaksızın oluşup oluşmadığıdır (intramembranöz kemikleşme). Endokondral kemikleşme sürecinde, kıkırdak bir

model oluşturulur ve bu modelin içinde kemik dokusu gelişir. Bu süreç, genellikle ekstremita kemikleri ve aksiyal iskeletin ağırlık taşıyan bölümleri gibi uzun kemiklerin gelişiminde görülür. Örneğin, uzun kemiklerin diafiz bölgesinde, kıkırdak hücreleri proliferasyon ve hipertrofi yaşar, ardından kalsifikasyonla kemik dokusu oluşur. Öte yandan, intramembranöz kemikleşme sürecinde, kemik dokusu, kıkırdaksız bir zar içinde doğrudan oluşur. Bu süreç, genellikle kafa ve yüzün yassı kemikleri gibi düz kemiklerin gelişiminde görülür. Bu süreçte, mezenkimal hücrelerin doğrudan osteoblastlara dönüşmesiyle kemik dokusu oluşur. Bu nedenle, kafa ve yüzün yassı kemikleri (örneğin, mandibula ve klavikula) intramembranöz kemikleşme ile gelişirken, uzun kemikler (örneğin, humerus, femur) ve aksiyal iskeletin ağırlık taşıyan bölümleri (örneğin, vertebralar) endokondral kemikleşme ile gelişir. Bu farklı gelişim süreçleri, kemiklerin farklı yapı ve işlevlerine katkıda bulunur (13,25,26).

Intramembranöz Kemikleşme

İntramembranöz kemikleşme, genellikle kafa ve yüz kemikleri ağırlıklı olmak üzere diğer bazı kemiklerin gelişiminde rol oynar. Bu süreç, embriyonun sekizinci haftasında başlar ve genellikle kemiklerin uzunluğuna katkıda bulunan endokondral kemikleşmeden farklıdır. İntramembranöz kemikleşme sürecinde, kemik, mezenkimal hücrelerin bir araya gelmesi ve osteoblastlara farklılaşmasıyla başlar. Mezenkimal hücreler, kafatası veya yüz kemiklerinin oluşacağı belirli bir bölgede yoğunlaşır (25). Bu hücreler daha sonra osteoprogenitör hücrelere dönüşerek CBFA1 transkripsiyon faktörü eksprese ederler. Bu faktör, osteoblastların farklılaşması ve kemik oluşumunda kilit bir rol oynar. Farklılaşmış osteoblastlar, kemik matriksini oluşturan çeşitli proteinlerin sentezlenmesini sağlarlar. Bunlar arasında tip I kollajen, kemik siyaloproteinleri ve osteokalsin gibi maddeler bulunur. Bu matriks zamanla mineralleşir ve osteoblastlar, osteosit adı verilen olgunlaşmış kemik hücrelerine dönüşür. Osteositler, kemik matriksinin içinde bulunur ve birbirleriyle bağlantılı sitoplazmik uzantılar aracılığıyla iletişim kurarlar. Ayrıca, sürekli mitotik aktivite sayesinde osteoprogenitör hücrelerin sayısı korunur ve bu, kemik spiküllerinin büyümesi için sürekli bir kaynak sağlar. Bu süreç, kemik

dokusunun oluşumu, büyümesi ve onarımında önemli bir rol oynar. İntramembranöz kemikleşme sonucunda oluşan kemik, içindeki bağ dokusu ve kan damarları ile birlikte birleşerek membranöz kemik veya düz kemik olarak adlandırılır. Bu süreç, kemik oluşumunun karmaşık bir sürecidir ve kemik dokusunun yapısal bütünlüğünü sağlamak için birçok farklı hücre ve moleküler mekanizma ile birlikte çalışır (13,27).

Enkondral kemikleşme

İntramembranöz sürece benzer şekilde, enkondral kemikleşme de mezenkimal hücrelerin gelecekte kemik olacak bölgede proliferasyon ve kümelenmeleriyle başlar. Bu süreç, genellikle uzun kemiklerin ve diğer bazı kemiklerin gelişiminde görülür ve embriyolojik olarak 6.haftadan erken erişkin dönemine kadar devam eder (28). İlk olarak, kemiğin genel şeklini oluşturacak olan hiyalin kıkırdak model oluşur. Kıkırdak model oluşturulduktan sonra, interstisyel ve appozisyonel büyüme gerçekleşir. Bu büyüme süreçleri, kıkırdak modelin boyutunun artmasını ve kemik dokusunun oluşumunu sağlar. Kemikleşmenin ilk belirtisi, kıkırdak modelin çevresinde bir kemik manşetin ortaya çıkmasıdır. Bu aşamada, kıkırdak modelin orta bölgesindeki perikondrium hücreleri osteoblastlara dönüşerek kemik dokusu üretmeye başlarlar ve periost adını alırlar. Uzun kemiklerde, gelişmekte olan kemiğin diafiz bölgesindeki kıkırdak modelin çevresinde belirgin bir periosteal kemik manşeti olan kemik yaka oluşur. Kemik yaka oluşumu ile birlikte, kıkırdak modelin orta bölgesindeki kondrositler hipertrofik hale gelir ve kıkırdak matriks kalsifikasyona uğrar. Kalsifiye kıkırdak matriks, difüzyonu engeller ve içindeki kondrositlerin ölümüne neden olur. Kondrositlerin ölümüyle birlikte, komşu lakünalar birleşerek gittikçe büyüyen bir kavite oluşturur. Mezenkimal kök hücreler, büyümekte olan kan damarları ile birlikte oluşan kaviteye göç ederler ve osteoprogenitör hücrelere farklılaşırlar. Osteoprogenitör hücreler, kalsifiye kıkırdak spikülleriyle yan yana geldiklerinde osteoblastlara dönüşürler ve spikül ağının üzerine kemik matriksi (osteoid) bırakmaya başlarlar. Böylece, bu şekilde oluşan kemik, endokondral kemik olarak tanımlanır. Bu süreç, kemiklerin gelişimi ve büyümesinde kritik bir rol oynar (13,29).

2.1.2. Kırık İyileşmesi ve Tipleri

2.1.2.1. Kırık iyileşmesi

Kırığa verilen ilk yanıt, vücudun genel doku hasarı ve kanama karşısında verdiği yanıtla benzerlik gösterir. İlk olarak, kırık bölgesine nötrofiller hücum eder. Nötrofiller, hızla hasar görmüş dokuya göç ederek enfeksiyon riskini azaltmaya ve doku temizliğine yardımcı olurlar ardından, makrofajlar gelir ve hasarlı dokuyu temizlemeye başlarlar. Makrofajlar, ölü hücreleri, doku artıklarını ve yabancı maddeleri temizleyerek iyileşme sürecini başlatırlar ve daha sonra, fibroblastlar ve yeni kapiller damarlar hasar bölgesine doğru hareketlenir. Fibroblastlar, kollajen liflerinin sentezlenmesinden sorumlu hücrelerdir ve kırık bölgenin yeniden yapılanmasına katkıda bulunurlar. Yeni kapiller damarlar ise, hasarlı bölgeye kan ve besin maddeleri taşıyarak iyileşmeyi desteklerler. Bu süreçte, granülasyon dokusu adı verilen yeni bir bağ dokusu oluşur. Granülasyon dokusu, kırık bölgedeki doku iyileşmesini desteklerken, bazı bölgelerinde kıkırdak dokusu oluşabilir. Hem fibroblastlar hem de periosteal hücreler, bu süreçte önemli rol oynarlar. Periosteal hücreler, kırık kemik yüzeyinin dışında bulunan ve kemik iyileşmesine katkıda bulunan hücrelerdir. Bu süreç ilerledikçe, oluşan sıkı bağ dokusu ve kıkırdak dokusu, yumuşak bir kallus dokusu oluşturur. Bu kallus dokusu, kırılan kemik parçalarını bir arada tutar ve kemiğin yeniden yapılanmasına yardımcı olur. Kemiğin kırık parçaları, hemen yan yana olmasa bile, vücut tarafından bir kallus oluşturulur. Bu kallus, kırık bölgenin stabilize edilmesine ve kemiğin birbirine bağlanmasına yardımcı olur. Tüm bu süreçler, kırığın iyileşme sürecini başlatır ve kemiğin yeniden sağlamlaşmasını sağlar. Bu süreç genellikle birkaç hafta ila birkaç ay sürebilir ve kırığın tipine ve yerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir (5,30,31).

Kallus oluşumu sırasında, periostun osteoprogenitör hücreleri, kırığın iyileşme sürecini başlatmak için önemli bir rol oynarlar. Bu hücreler, kırık bölgeye göç eder ve burada osteoblastlara farklılaşarak yeni kemik dokusu oluşturmaya başlarlar. Yeni oluşan osteoblastlar, kırığın hemen yanında bulunan kemiğin dış yüzeyinde yeni kemik biriktirmeye başlarlar. Bu yeni kemik oluşumu, kırık bölgesindeki fibröz kıkırdak kallus üzerinde bir kılıf oluşturuncaya kadar ilerler. Yeni kemik dokusunun çıkardığı osteojenik

tomurcuklar, kallusu invaze eder ve bu sayede yeni kemik birikimi başlar. Zamanla, orijinal fibröz ve kırıkta kallus, kemik kallus ile değiştirilir. Bu süreçte, kırığın her iki ucundan merkeze doğru medullar kemik büyümeye başlar. Kırık kemiğin periosttan ve endosteumdan farklılaşan osteoblastlar tarafından sağlanan kemiksel birleşim noktası, başlangıçta spongiyöz kemikten oluşur. Ancak zamanla, bu spongiyöz kemik kompakt kemikle yer değiştirir. Bu süreç sırasında, kallus dokusu osteoklastlar tarafından ortadan kaldırılır ve aşama aşama yeniden şekillenme, kemiği orijinal haline geri döndürür. Kemik iyileşme süreci genellikle birkaç haftadan birkaç ay veya daha uzun bir süreye kadar devam edebilir ve kırığın ciddiyetine, yerine ve kişinin yaşına bağlı olarak değişir (31,32).

Sağlıklı kişilerde bu süreç, kırığın şiddetine ve kırılan kemiğe göre genellikle 6-12 hafta sürmektedir. Kırığa anatomik redüksiyon ve parçalara internal fiksasyon (plak-vida veya çivi) ile yerinde tutmak bu süreci hızlandırır. İyileşme süreci multifaktöriyeldir (13).

Kırık iyileşme sürecinde osteoblastlar tarafından direkt veya dolaylı olarak eksprese edilen bazı kırık iyileşme markerları bulunur. Bunlardan biri olan ALP, biyomineralizasyon sürecinde önemli bir enzimdir. Bu enzim, adenozin trifosfatın (ATP) hidrolizi ile üretilen hücre dışı inorganik pirofosfatı hidrolize edebilir. Bu hidroliz, lokal inorganik fosfat konsantrasyonunda bir artışa neden olur. Bu artış, kemik mineralizasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (33). ALP ve osteoblast etkisinin korelasyonunu göstermek adına, Rawadi ve ark.'ları tarafından yapılan hücre kültürü çalışmasında BMP uygulamasının; osteoblastlarda kanonik embriyonik gelişim sırasında hücre büyümesini, hareketliliğini ve farklılaşmasını düzenleyen Wnt (Wingless-related integration site) yolağını ve ALP'yi aktive ettiği gösterilmiştir (34). Benzer şekilde Kim ve ark osteoblast kültüründe yaptıkları çalışmada Kirenol uygulamasının; Wnt ve ALP aktivasyonunun artışına ve matriks kalsifikasyonuna neden olduğunu göstermiştir (36).

Kırık iyileşmesi belirteçlerinden bir diğeri olan osteokalsin ise osteoblastlarda mineral birikimini başlatan geç dönem bir osteoblastik diferansiyasyon belirtecidir (37).

Ayrıca yapılan fare deneyi çalışmalarında hem insülinin hem de IGF-1'in, öncelikle Akt(Protein Kinaz B) ve ERK(ekstracellular-signal-regulated kinase) sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla osteoblastlarda ve kemik gelişiminde anabolik ajanlar olduğu gösterilmiştir (40).

Primer ve sekonder kırık iyileşmesi olmak üzere iki adet kemik kırık iyileşme çeşidi bulunur.

2.1.2.2. Primer Kırık İyileşmesi

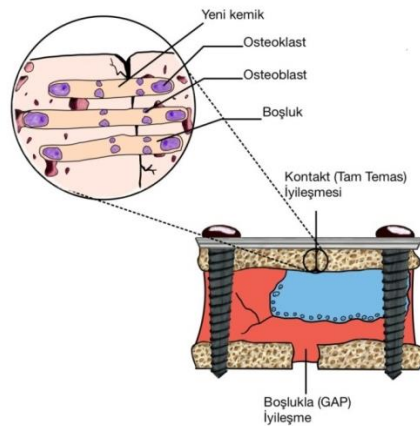
Doğrudan ve ya direkt iyileşme de denir. Kırık iyileşmesinin doğal sürecinde primer iyileşme nadiren görülür. Fragmanlar arasında hareketin olmadığı durumlarda, anatomik redükte pozisyonda doku kanlanmasında herhangi bir bozukluk yok ise, kallus dokusu oluşmadan, osteblast ve osteoklast aktivitesiyle gerçekleşen kemik iyileşmesi tipidir. Kırık, sıkı tespit ve anatomik redükte durumunda primer olarak iyileşir. Primer kırık iyileşmesi; tam temasta (kontakt) iyileşme ve minimal boşluktaki (gap) iyileşme olarak iki farklı şekilde gerçekleşebilir. Her iki şekilde de anatomik olarak düzgün, biyomekanik olarak dayanıklı lamellar kemik oluşur (5).

Tam temaslı (kontakt) iyileşme, kırık fragmanları arasındaki mesafenin 0,01 mm'den az olduğu durumlarda ve fragmanlar arası gerimin %2'den az olduğu durumlarda görülür. Bu iyileşme sürecinde, kırığa yakın bölgedeki osteonların uçlarında "cutting cone" adı verilen yapılar bulunur. Bu cutting cone üniteleri, kırık boyunca hareket ederek kemik iyileşmesini sağlarlar. Ünitenin tepe kısmındaki osteoklastlar, kırık boyunca günde 50-100 mikrometre hızla ölü kemik dokusunu rezorbe ederler. Bu süreç, arkadan gelen vaskülarizasyona ve osteoprogenitör hücrelere yol açar. Cutting cone ünitesinin arka kısmındaki osteoblastlar, kemik matriksini ve yeni Havers kanallarını oluştururlar. Havers kanallarının damarlanmasıyla birlikte, mezenkimal kök hücreler bu bölgeye taşınır. Köprüleşen osteonlar olgunlaşarak yeniden şekillenir ve lamellar kemik oluşur. Bu süreç, kemik iyileşmesinin tam temaslı olarak gerçekleştiği

durumlarda meydana gelir ve kemik dokusunun yeniden yapılanmasını sağlar. Bu sayede, kırığın güçlü bir şekilde iyileşmesi ve kemik yapısının orijinal haline dönmesi sağlanır (32,35).

Boşlukla (gap) iyileşmede, anatomik redüksiyon ve stabilite altında kırık fragmanları arasındaki mesafe 800 mikrometre ile 1 milimetre arasında ise gap iyileşmesi meydana gelir. Bu durumda, kırık hattında lamellar kemik oluşumu uzun aksa dik bir şekilde gerçekleşir. İlk aşamada, kırık hattında lamellar kemik oluşumu başlar ve bu süreçte vasküler ve osteoprogenitör hücreleri içeren osteonlar oluşur ve bu evre genellikle 3 ila 8 hafta sürer ve ardından yeniden şekillenme süreci gerçekleşir. Yeniden şekillenme süreci, enkondral kemikleşme kadar uzun olmasa da, kemiğin anatomik ve biyomekanik yeterliliğinin sağlanması için gereklidir. Bu süreçte, kemik dokusu kırık bölgesinde yeniden yapılır ve kemik yapılanması tamamlanır. Boşlukla iyileşme süreci, kırığın stabilizasyonu ve doğru hizalanmasıyla birlikte kemik iyileşmesinin başarılı olmasını sağlar. Bu sayede, kırık bölgesinin sağlamlaşması ve işlevini yeniden kazanması sağlanır (31).

Başka bir deyişle; kırık uçları arasında direkt bağlantı varsa, osteonların uzanımıyla lamellar kemik oluşumu gerçekleşebilir; buna *kontakt iyileşme* denilir. Kırık uçları arasında boşluk (<1 mm) olduğunda osteoblastlar örgü kemik oluşturur ve yeniden şekillenme ile normal lamellar kemik dokusuna dönüşüm gerçekleşir; buna *gap iyileşme* denilir (31) (Resim 2).



Resim 2: Tam temashlı (kontakt) ve gap kırık iyileşmesi

2.1.2.3. Sekonder Kırık İyileşmesi

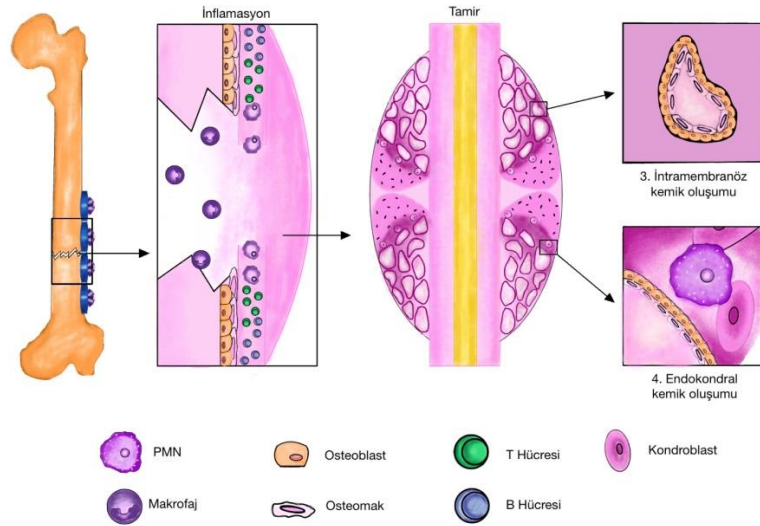
Genelde yaygın olan kırık iyileşme tipi, sekonder kırık iyileşmesidir. Sekonder iyileşmede ilk olarak yumuşak kallus, sonrasında da sert kallus oluşur. Kırık bölgesinde subperiosteal alanda intramembranöz kemikleşme ile medüller sert kallus, kırık uçlarında ve periost dışında enkondral kemikleşme ile yumuşak kallus oluşur. Sekonder kemik iyileşmesinin fazları, *İnflamasyon*, *onarım* ve *yeniden şekillenme (remodelling)* olmak üzere 3 adettir (5).

İnflamasyon Fazı

Travmanın ardından, kemikteki hasarın etkilerini hafifletmek için vücudun tepkisi olarak çevresel ve intramedüller hemorajiyle birlikte "hematom" adı verilen bir doku reaksiyonu meydana gelir. Hematom, kırık bölgesinde oluşan kan pıhtısını içerir ve bu pıhtı, onarıcı hücrelerin göçünü kolaylaştırırken aynı zamanda büyüme faktörleri gibi önemli maddelerin salınmasına da yardımcı olur. Bu nedenle, hematom, hem hematopoietik kök hücrelerin kaynağı hem de iyileşme için gerekli olan büyüme faktörlerinin bir deposudur. Kırık bölgesindeki hasarlı osteositler ve matriks dokusu, inflamatuvar mediatörlerin (TNF-alfa, TGF-β, IL-1β, IL-6, IL-17F, IL-18 ve IL-23) salınmasına neden olur. Bu mediatörler, damar genişlemesi ve inflamatuvar hücrelerin (nötrofil, makrofaj, lenfosit) kırık bölgesine göç etmesi gibi reaksiyonlara yol açar. Kısa süreli, kontrollü inflamatuvar yanıt, kırığın iyileşme sürecinde kritik bir öneme sahiptir, çünkü bu süreç, iyileşme için gerekli olan hücresel ve moleküler değişimleri başlatır. Akut inflamatuvar yanıt, travmanın hemen ardından başlar ve genellikle ilk 24 saat içinde en yüksek düzeye ulaşır. Ancak bu yanıt, iyileşme sürecinin daha uzun bir süre devam edeceğinin bir işaretidir; çünkü onarım ve yeniden şekillenme aşamaları, inflamasyon sürecinin hemen ardından gelir ve kırığın tam iyileşmesi için önemlidir (38). Başlangıç dönemi TNF alfa, IL-1, IL-6, IL-11 ve IL-18 miktarında artış belirgindir. TNF alfa ilk 24 saatte en yüksek seviyeye ulaşır ve 72. saatte tekrar normal seviyeye iner (39). İnflamatuvar ve mezenkimal hücrelerin farklılaşmasını uyarıcı etkileri, osteoblast ve osteoklastlar üzerindeki TNFR1 ve TNFR2 reseptörleri üzerinden gösterilir. TNFR2'nin sadece kırık iyileşmesi döneminde ifade edilmesi, bu reseptörün kırık iyileşmesi dönemine spesifik bir rol oynadığını düşündürmektedir. Makrofajlardan salınan IL-1,

osteoblastlardan IL-6 salınımını tetikler ve kırıkta kökenli kallus gelişimini uyarır. IL-6, sadece akut fazda salgılanır ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) salınımını arttırarak vaskülarizasyonu, yani yeni damar oluşumunu, osteoblast ve osteoklast farklılaşmasını uyarıcı etki yaratır (38).

İnflamasyon fazında, hasarlı ve nekrotik dokular inflamatuvar hücreler tarafından yok edilir ve bu süreç, anjiyogenezisi (damar oluşumu) uyarır. Kırık hattındaki kemikte bulunan mezenkimal ve osteoprogenitör hücreler, fibroblastlar ve endosteal yüzeydeki osteoblastlar çoğalarak granülasyon dokusu oluşumunu sağlar. Granülasyon dokusu, iyileşme sürecinde önemli bir adımdır çünkü kallus oluşumu için temel bir yapı sağlar ve kırığın stabilizasyonunu destekler. Bu süreçler, kırığın iyileşmesi için gereken hücresel ve moleküler değişimleri başlatır. Yeniden şekillenme ve yeniden yapılanma aşamaları, kırık bölgesindeki hasarlı dokunun yerini almak ve kemik dokusunun yeniden yapılanmasını sağlamak için önemlidir. Bu süreçler, kırığın tamamen iyileşmesini ve kemik dokusunun orijinal sağlamlığını kazanmasını sağlar (30,39) (Resim 3).



Resim 3: Sekonder kırık iyileşmesi

Onarım Fazı

Onarım fazı, kırık-dak-sert kallus oluşumu, vaskülarizasyon ve mineralizasyon aşamalarından oluşur. Onarım, hücre sayısındaki artış ve matriks üretimi ile başlar. Sekonder iyileşmede intramembranöz kemikleşme ve enkondral kemikleşme birlikte meydana gelir (Resim 3). Hematomu takiben fibrinden zengin granülasyon dokusu oluşur (32). İki kırık ucu arasında ve periostun dış kısmında enkondral kemikleşme başlar. Kırık-dak ve fibröz doku ağırlıklı yumuşak kallus dokusu meydana gelir. Bu doku zamanla kırık-dak matriksin mineralizasyonu, vaskülarizasyon, osteoprofilasyon ve enkondral kemikleşme ile sert kallusa dönüşür (41). Aynı zamanda intramembranöz kemikleşme ile de sert kallus oluşumu gerçekleşir. İntramembranöz kemikleşme ile mezenkimal kök hücreler osteoblastlara farklılaşır ve kemik dokusunu meydana getirir. Kırık-dak oluşumu ve enkondral kemikleşme TNF- β ile uyarılırken; intramembranöz kemikleşme için gerekli hücre çoğalması BMP5 ve 6 etkisi ile sağlanır (38).

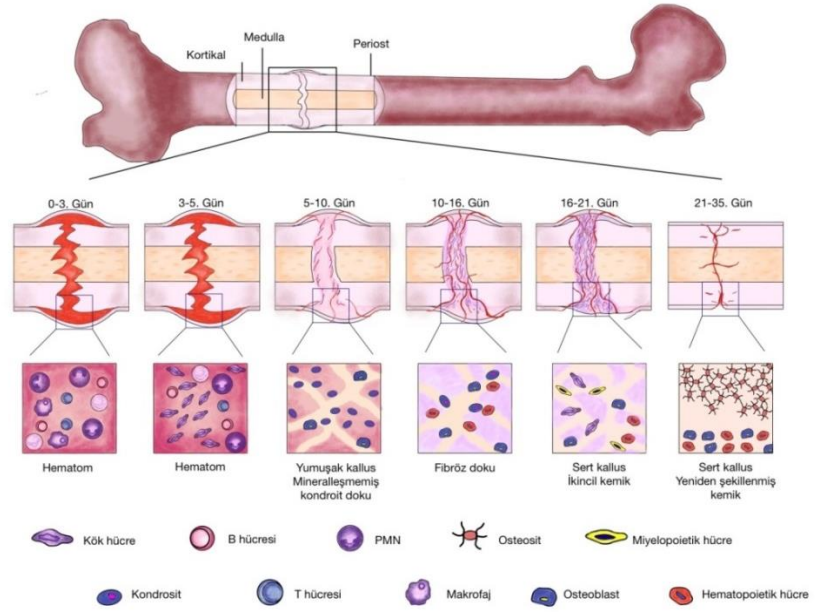
Diğer taraftan, vaskülarizasyon iyileşme sürecinde önemli bir rol oynar. Enkondral kemikleşmede, kondrosit apoptozuyla birlikte hücrelerin ve matriks dokusunun uzaklaştırılması, kan damarlarının bu bölgeye doğru ilerlemesini sağlar. Vaskülarizasyon süreci, anjiyopoietin (APO) ve VEGF gibi faktörlere bağımlı olarak iki yoldan gerçekleşir. İyileşmenin erken dönemlerinde, kan damarlarının oluşumunu ve stabilizasyonunu destekleyen APO 1 ve 2 seviyeleri yükselir (42). VEGF'nin görevi ise, endotelial ve mezenkimal hücre çoğalmasını uyarmak ve damar invazyonunu sağlayarak avasküler kırık-dak dokusunun vasküler kemik dokusuna dönüşümünü sağlamaktır. Anjiyogeneziste, kemik morfogenetik proteinler (BMP'ler) VEGF ile sinerjistik etki gösterirler. BMP'ler, yeni kemik dokusunun oluşumu ve kemik hücrelerinin farklılaşması için önemli olan sinyal molekülleridir. VEGF'nin BMP'lerle sinerjik etkileşimi, damar oluşumunu hızlandırır ve kırık-dak dokusunun kemik dokusuna dönüşümünü destekler. Bu süreç, kırığın iyileşmesi için gerekli olan kan dolaşımını ve hücrel aktiviteyi artırarak iyileşme sürecini hızlandırır (43).

Kallus dokusundaki kondrositlerin sitoplazmasından ayrıştırılan kalsiyum granülleri, ekstrasellüler matrikse taşınarak buradaki fosfat ile birleşir ve

mineralizasyon başlar. Bu süreçte, kalsiyum-fosfat depolarından oluşan apatit kristalleri gelişir. Yapılan çalışmalarda, tip 1 kollajen, osteokalsin, osteonektin ve alkalen fosfataz gibi kemik oluşumunda rol oynayan proteinlerin seviyelerine bakılarak sert kallus oluşumunun 14. günde en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Bu süreçte, kallus dokusu kırık uçlarının birleşmesini sağlar ve kortikal kemik uçlarında devamlılığı sağlayacak bir kemik köprüsü oluşturur. Onarım süreci, kemik dokusunun tekrar sağlamlaşması ve kırığın tamamen iyileşmesi için devam eder. Bu süreçte, kallus dokusundaki mineralizasyon artarak kemik dokusunun kuvvetlenmesine ve kırığın tam olarak iyileşmesine katkıda bulunur (41).

Yeniden Şekillenme (Remodelling) Fazı

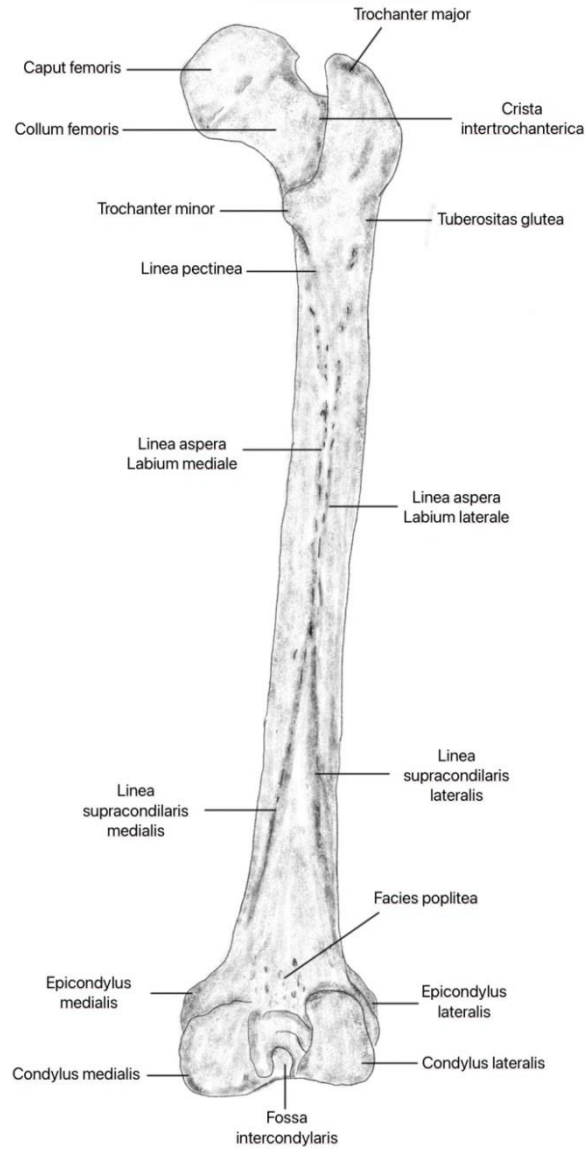
Sert kallus, onarım fazı sonrasında hala eksik biyomekanik özelliklere sahip olduğundan, tam iyileşme için lamellar kemiğe dönüşecek bir yeniden şekillenme (remodelling) sürecine ihtiyaç vardır. Bu süreçte, rezorptif fazda IL-1 ve TNF alfa düzeylerinde artış görülür. Bu sitokinler, sert kallusun rezorpsiyonunu hızlandırarak kırık bölgesinin yeniden şekillenmesini teşvik eder (44). Osteoklastların etkisiyle sert kallus rezorpsiyonu ve osteoblastların etkisiyle lamellar kemik oluşumu bir denge içinde meydana gelir. Kırık onarımı esnasında üçüncü haftadan itibaren başlayan yeniden şekillenme süreci, klinik olarak iyileşme sonrası da yıllarca devam eder. Yapılan çalışmalarda kemiğe özgü alkalen fosfataz ve osteokalsin değerlerinin yıllar boyu normale gerilemediği gösterilmiştir (45). Aksiyel yüklenmeyle birlikte, elektriksel polarite osteoklast ve osteoblast aktivitesini arttırarak kemiğin yeniden şekillenmesini uyarır. Onarım aşamasında meydana gelen örgü kemik, lamellar kemikle yer değiştirir ve iyileşme süreci tamamlanır (5) (Resim 4).



Resim 4: Kırık iyileşmesinde 0.-5. Günler inflamatuvar faz, 5.21.gün onarım fazı ve 21.-35. Gün remodelling fazı rat femurunda gösterimi

2.2. Femur Anatomisi

Vücudun ve alt ekstremitenin en uzun ve en kuvvetli kemiği olan femur, insan vücudu için hayati öneme sahiptir. Femur, genellikle vücut uzunluğunun dörtte birini oluşturur ve vücudu desteklerken hareket kabiliyetini sağlar. Bu kemik, proksimalde asetabulum ile kalça eklemi oluştururken, distalde tibia ve patella ile diz eklemine katılır. Femurun korpusu, büyük çoğunlukla silindirik bir yapıya sahiptir ve oldukça dayanıklı bir kemik dokusu içerir. Aşağı doğru indikçe, iki taraftaki femur birbirine yaklaşır, bu da vücudun dengesini ve hareketini sağlar. Femurun bu meyli, bireyler arasında farklılık gösterebilir ve kadınlarda genellikle daha fazla görülür. Femur, diğer uzun kemikler gibi iki uç ve bir gövdeye sahiptir. Proksimal ucu, baş ve boyun olarak adlandırılırken, distal ucu kondil olarak bilinir ve tibia ile temas eder. Femurun her bir bölümü, özellikle anatomik yapısı ve işlevleri açısından detaylı bir şekilde incelenir. Bu kemik, vücudun temel hareket sistemlerinden birini oluştururken, günlük aktivitelerde önemli bir rol oynar (46).



Resim 5: Femur anatomisi

Femurun üst ucunda (extremities proximalis), caput femoris (kemik başı), collum femoris (boyun), trochanter majör (büyük trokanter) ve trochanter minör (küçük trokanter) bulunur. Caput femorisin büyük kısmı eklem kıkırdağı ile kaplıdır ve küre şeklindedir. Eklem yüzünün altında, caput femorisin bağlandığı fovea capitis femoris bulunur. Collum femoris, başı gövdeye bağlayan dar bir bölümdür. Collum ile korpus arasında, genellikle ortalama 120°-130°'lik bir açı bulunur, bu açığı kollodiazifer açı denir. Bu açı, yaş ve cinsiyete bağlı olarak

değişiklik gösterebilir. Üst ucun dış tarafında büyük trokanter (trochanter majör), arka-alt tarafında ise küçük trokanter (trochanter minör) bulunur. Trochanter majörün tepesi, caput femorisin merkezi hizasındadır ve kalça eklemi pozisyonu hakkında ipuçları verebilir. Trochanter minör, küçük bir koni şeklinde ve boynun gövde ile birleştiği yerde arkada bulunur. Bu çıkıntıları arka tarafta birbirine bağlayan kalın kenara crista intertrokanterika, ön taraftan birleştiren daha az belirgin olan çizgiye ise linea intertrokanterika denir (46,47) (Resim 5).

Femurun korpusu (femur shaftı, femur cismi) hemen hemen silindirik olup uzun eksenini biraz öne doğru konvektir. Üst kısmı ortasına göre daha geniştir ve ön yüzü düzdür. Arka tarafta uzunlamasına seyreden ve cismin orta kısmında labium laterale ve labium mediale olmak üzere iki kenar şeklinde olan bir çıkıntı olan linea aspera bulunur. Linea aspera, üç uzantı şeklinde seyreder: lateral taraftaki tuberositas glutea, ortadaki linea pectinea ve en içteki üçüncü uzantı olan asıl labium mediale'nin bir devamıdır (48).

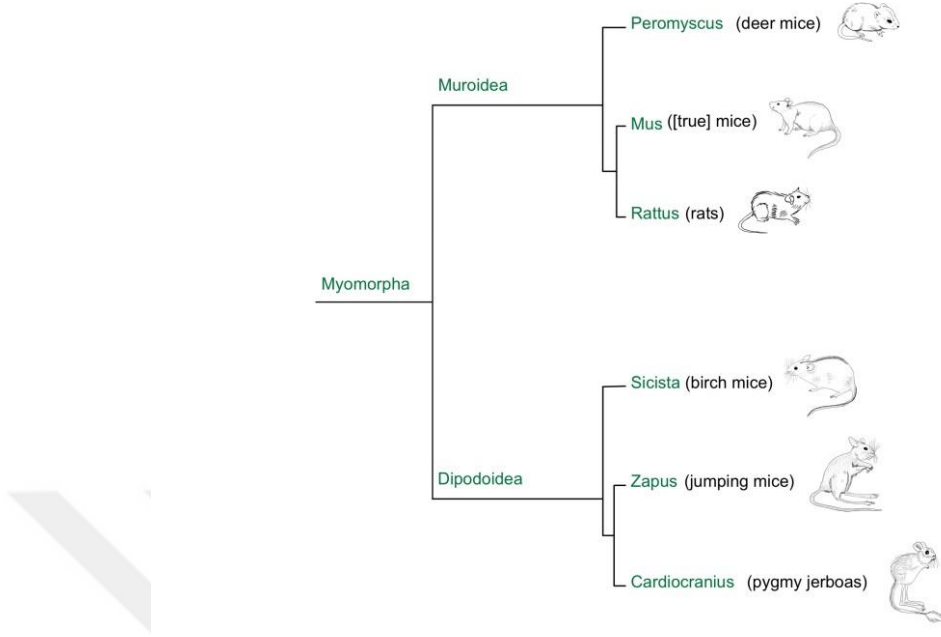
Femurun alt ucu, her iki tarafta condylus lateralis (dış kondil) ve condylus medialis (iç kondil) olarak iki parçadan oluşur. Bu kondillerin yüzleri eklem kıkırdağı ile kaplıdır ve ön tarafta facies patellaris adı verilen patellanın oturduğu bir yüzleri bulunur. Bu yüz, bir olukla ikiye ayrılmıştır ve dış taraftaki bölümü daha geniştir. Kondillerin arka tarafında ise fossa intercondylaris adı verilen bir çukur bulunur (48).

2.3. Rodentler ve Rat Anatomisi

2.3.1. Rodentler

Rodentler grubunda rat, fare, gerbil, hamster ve kobay memelileri bulunur. Ortak özellikleri sarı pulpalı açık kesici dişlerinin bulunmasıdır. Rodentler üç ana grupta incelenir; myomorflar, sciuromorflar ve hystrikomorflar.

Myomorflar grubunda fare, rat omnivor rodentler bulunur. Sciuromorf grubunda sincap benzeri, hystrikomorflar grubunda ise kobay ve şinşilla grubu bulunur (49) (Resim 6).

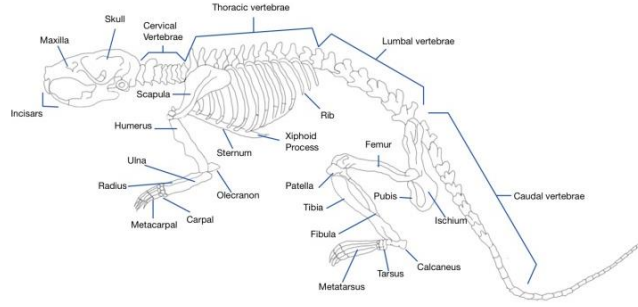


Resim 6: Myomorflar grubu şeması

2.3.2. Rat Anatomisi

Ratlar, günümüzde biyomedikal araştırmalarda en yaygın kullanılan deney hayvanlarıdır ve bilimsel literatürde *Rattus norvegicus* olarak geçerler. Bu canlılar, ortalama olarak 3 yıl yaşarlar ve ortalama vücut ağırlıkları yaklaşık 600 gramdır. Erkekler genellikle dişilere göre daha ağır olup, dişiler ise daha uzun bir yaşam süresine sahiptirler.

Ratların vücudundaki total kan hacmi yaklaşık olarak 60 cc/kg'dir. Bu hayvanlar, laboratuvar ortamlarında çeşitli deneylerde kullanılmalarının yanı sıra, tıp, farmakoloji, nörobilim ve genetik gibi pek çok alanda araştırma için tercih edilirler. Özellikle insan sağlığına dair birçok bilgiyi anlamak ve tedaviler geliştirmek için kullanılmaktadırlar. Ratların genetik yapısı, biyolojik benzerlikleri ve kolaylıkla yetiştirilmeleri gibi özellikler, onları bilimsel araştırmalar için ideal bir model haline getirmektedir (50,51) (Resim 7).



Resim 7: Rat anatomisinde kemikler

Rat femuru, ortalama 25-30 mm uzunluğundadır ve çeşitli ölçümlere ve analizlere tabi tutularak araştırma materyali, implant ve protezlerin biyomekanik testleri için de kullanılabilir. Bu testler, implantların ve protezlerin kemikle uyumunu, dayanıklılığını ve etkinliğini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilir. Rat femurları, farelerin genetik benzerliği ve kolayca elde edilebilir olmaları nedeniyle araştırmacılar tarafından tercih edilen bir modeldir. Bu kemiklerin incelenmesi, kemik hastalıklarının mekanizmalarını anlamak, tedavi yöntemlerini geliştirmek ve yeni farmasötik ürünlerin test edilmesi gibi birçok alanda önemli bilgiler sağlayabilir (49).

2.4. Kırık iyileşmesi üzerinde yüzey kaplama ve yüzey kaplama materyalleri

İnsan vücudundaki patolojilere yönelik olarak tıp dünyası birçok implant geliştirmiştir. Bu implantlar vücudun çeşitli yerlerinde, farklı özelliklerde bulunmaktadır ve vücudun içinde bulunacağından osteokondüktif, biyouyumlu, sert, dayanıklı, sürtünmeyi azaltıcı, osteointegrasyona sahip, ilaç taşıyıcı, korozyona dirençli ve aşınmaya dirençli olmaları gerekmektedir.

2.4.1. Ortopedik biyomalzemeler

İmplantların yapısı metal ve alaşımları, seramik, polimer ve karma malzemeler'den oluşabilir.

Metaller ve alaşımları içinde; paslanmaz çelikler, titanyum (Ti) ve alaşımları, kobalt-krom (Co-Cr) alaşımları ve altın, gümüş, platin gibi iyi dökümlenebilen ve yumuşak yapılı diğer metaller ve alaşımları bulunmaktadır.

Seramikler, metal olmayan, inorganik, kristal yapılı, katı ve metal, non-metal elementlerin iyonik kovalent bağlanması ile oluşan bir yapıdır. Biyomalzeme olarak kırık fiksasyonu, kompozit malzemelerin desteklenmesinde, kemik greftlerinin veya protezlerin kemiğe sabitlenmesinde kullanılabilmektedirler. Kırılgan bir yapıda olması bir dezavantajı iken biyoyumluğunun oldukça iyi olması, olağanüstü aşınma direncine sahip olması büyük avantajlarından (52).

Polimerler, çok sayıda molekülün düzenli bir şekilde kimyasal bağlarla bağlanarak oluşturdukları yüksek molekül ağırlığına sahip makromoleküllerden oluşan bileşikler olarak tanımlanır. Polimerik biyomalzemeler, metal ve seramiklere göre birçok farklı biçimde kolay üretilebilmeleri gibi yönleriyle önemli avantajlara sahiptirler. Temel olarak inert ve emilebilir olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Inert polimerlere örnek olarak, Polimetilmetakrilat (PMMA), poliamid ve naylon; emilebilir polimerlere, poliglikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA) örnek verilebilir (52,53).

Karma malzemeler, iki veya daha fazla farklı tür malzemenin, aralarında herhangi bir tepkime oluşturmaksızın fiziksel olarak birleştirilmesiyle elde edilen yeni malzemelere denir (52,53). Bu birleşme fiziksel bir birleşme olduğundan yapıdaki malzemeler kompozitlerin özelliklerini belirler. Kompozitler daha gelişmiş mekanik özellikler veya işlevsel olarak istenen özelliklerde yeni malzemelerin oluşturulması için tasarlanırlar. Örneğin polimer-seramik kompozitlerinde polimer matriks olarak, seramik ise doldurucu (destek) olarak yer alır (54).

2.4.2. Kaplamada kullanılan malzemeler

Biyomalzeme seçilmesinin ardından biyomalzemenin osteokondüksiyon, biyouyumluluk, sertlik, dayanıklılık, sürtünmeyi azaltma, osteointegrasyon, ilaç taşıyıcı, korozyon ve aşınma direnci özelliklerini artırma amaçlı olarak biyomalzeme üzerinde kaplamalar kullanılabilmektedir. Bunlara örnek olarak; hidroksiapatit, bor nitrür, tip-1 kollajen, kitosan, titanyum nitrür, nitritler, poliüretan (PU), polivinilpirolidan (PVP), politerefat (PTF), biyocamlar, titanyum oksit (TiO₂), gümüş elmas benzeri karbonlar (DLC), poli-L,D-laktik asit, fosforilkolin, kalsiyum fosfatlar, kollajenler, polilaktik koglikolik asit (PGLA) örnek gösterilebilir (55).

2.4.2.1. Hidroksiapatit

En sık ve popüler olan kaplamalardan biri hidroksiapatit'dir. Hidroksiapatit (HA); bir kalsiyum ortofosfattır (CaP) ve kalsiyum apatit ailesinin üyesidir. Genel formülü Ca₅(PO₄)₃OH olarak bilinmektedir. Kalsiyum fosfatlar ve türevleri biyoloji, tıp, kimya, jeoloji vb. birçok alanda büyük ilgi görmektedir. CaP'lar arasında HA, yapısal ve kimyasal özellikleriyle kemik fosfatlarına benzerliğiyle son derece önemlidir. Kemiklerde doğal olarak var olan apatit (fosfat mineral grubu) benzeri kimyasal bileşime ve kristal yapıya sahiptir ve bu benzerlik sayesinde çok iyi biyouyumluluğa ve osteokondüktif özelliğe sahiptir. Florohidroksiapatitten sonra en az çözünen ve en kararlı kalsiyum ortofosfattır. Aynı zamanda biyoaktif, osteogenezisi artıran ve toksik olmayan bir maddedir (56). Rutin kullanımda ise hidroksiapatit kaplı implantların kaplı olmayanlara göre ve yüzey alanı geniş (gözenekli yüzeyler) olan HA kaplı implantların, yüzey alanı az (parlak yüzeyler) olanlara daha üstün olduğu gösterilmiştir (57).

2.4.2.2. Bor nitrür

Bor nitrür (BN), kimyasal kararlılık, elektriksel yalıtkanlık, ısıl iletkenlik, kristal yapısı ve faz dönüşümlerinin bulunması özellikleri sayesinde endüstride geniş bir kullanım alanına sahiptir. Kristal yapısı karbona benzerlik gösterir (58).

Bor nitrür'ün yüzey kaplama olarak seçilmesinde mekanik dayanıklılığın artırılması ve kombine edilecek ajanların daha iyi tutunma sağlaması gibi avantajlar yer almaktadır. Ferreira ve ark.'larının yaptığı çalışmada (59) bor

nitür nanotüplerin (BNNT) glukozamin, polietilen glikol ve kitozan gibi organik hidrofilik ajanlar ile sentez edilmiştir. Boyut, dağılım ve homojeniteler foton korelasyon spektroskopisi ile, yüzey yükleri ise lazer doppler anemometrisi ile saptanmıştır. In vitro olarak yapılan çalışma göstermiştir ki, glukozamin, polietilen glikol ve kitozan gibi ajanlar BNNT bulunan yüzeylere daha iyi yapışmaktadır. Ayrıca BNNT'ün MRC-5 (akciğer dokusundan geliştirilmiş diploid hücre kültür hattı) hücrelerine karşı in vitro sitouyumlulukta 50 µg/ml'ye kadar normal hücrelerin çoğalmasını bozmadığı ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak da BNNT'lerin tedavi amaçlı güvenli bir potansiyel taşıyıcı sistem olduğu kanıtlanmıştır. Diğer bir çalışmada Xu ve ark.'ları bor nitür'ün, kompozitlerin mekanik özelliklerini arttırdığı saptanmıştır. Zirkonia (ZrO₂) seramiklerini bor nitür nanotüpleriyle güçlendirilmesini incelemiştir. BNNT'lerin ZrO₂ seramiklerine dahil edilmesinin bükülme mukavemeti, kırılma dayanıklılığı ve yoğunluk üzerinde büyük etkisi vardır. Ağırlıkça %1,0 BNNT eklenmesi bükülme mukavemetini ve kırılma dayanıklılığını sırasıyla %27,7 ve %65,4 oranında arttırdığı gözlemlenmiştir (60).

2.4.2.3. Tip I kollajen (Ct1)

Kollajenler birçok organda yumuşak ve sert dokuların temel yapı malzemesi olarak önemli göreve sahip katı ve sert proteinlerdir. Gerek dayanma gücü gerek ise temel destek yapı görevinden dolayı binalarda yük taşıyıcı olarak kullanılan çeliğe benzetilmiştir (61).

Ct1 ile yüzey modifikasyonu, osteojenik hücrelere doğrudan etki ederek daha belirgin şekilde yeni kemik oluşumunu teşvik eder. Ayrıca Ct1'in osteokondüktif özelliklerini in vivo çalışmalar da göstermiştir (62).

2.4.2.4. Kitosan (Cs)

Doğal ve bol bulunabilen bir polisakkarit olan kitosan (Cs) aslında bir kitin ürünüdür. Yüksek pozitif yüklü ve asidik ortamda çözülebilir özelliklerine ilave olarak non-toksik, biyouyumlu ve biyobozunur özellikleri kanıtlanmıştır (63). Aynı zamanda antibakteriyel ve antiviral, osteokondüktif stimulan özelliktedir (64).

2.4.2.5. Titanyum nitrür

Titanyumun aşınma direncini arttırmaya yarayan ve aynı zamanda sert doku uyumluluğunu artırmayı amaçlayan bir diğer işlem titanyum nitrür kaplama işlemidir. Titanyum-nitrür, güçlü sertlik (2000 kg/mm²) , yüksek ayrışma sıcaklığı (2949 Co), oda sıcaklığında kimyasal stabilite ve süper iletkenlik gibi özelliklere sahiptir. Titanyum yüzeyinde ince titanyum nitrür tabakası oluşturma yöntemi, kemik levhaları, diş implantları ve yapay kalça eklemlerinde ticari olarak kullanılmaktadır. Prachar ve ark.'larının yaptığı çalışmada 4 farklı subtrata (saf titanyum, titanyum alaşımı Sınıf V (Ti6Al4V), beta-titanyum alaşımı (Ti35Nb6Ta) ve krom-kobalt alaşımı (CrCoMo)) üzerine 2 farklı kaplama yöntemiyle (CAE yöntemi (Katodik Ark Buharlaştırması) ve PVD (Fiziksel Buhar Biriktirme)) iki farklı kaplamayı (titanyum nitrür ve zirkonyum nitrür) denemişler ve 48 saatlik ekimden sonra hücre hattının test edilen materyallerin yüzeyinde kolonizasyon kapasitesini karşılaştırmışlardır. TiN kaplama grubunda en iyi malzeme cilalanmış titanyum Grade V alaşımı, en kötü malzeme ise kumlanmış krom kobalt alaşımıydı. ZrN kaplama grubunda ise parlatılmış modifikasyonlu betatitanyum alaşımı en iyi, kumlanmış yüzeydeki krom kobalt alaşımı ise en kötü olarak değerlendirildi. Diğer önemli bulgu, hücre kolonizasyonunda kumlanmış yüzeye karşı cilalı yüzey lehine farklılık ve ZrN kaplamalı numunelerle karşılaştırıldığında TiN kaplamalı numunelerde daha yüksek hücre kolonizasyonu.

Ruud ve ark.'larının hazırladığı yeniden inceleme yazısında (65) 1947-2015 yılları arası veritabanlarını araştırmış ve prelinik-klinik çalışmaları değerlendirmiştir. Sonucunda titanyum nitrür kaplamalarının implant yüzeylerinin biyouyumluluğu üzerinde olumlu etkisinin genel görüş olduğu belirtilmiştir. Fakat kalça implantları üzerindeki kobalt-kromiyummolibdenum (CoCrMo)'nun üzerinde TiN kaplamasının yapışma başarısızlığı ve ultrahigh molecular weight polyethylene (UHMWPE) aşınmasının artışı raporları da mevcuttur. Sonuç olarak TiN kaplama işleminin optimize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

2.4.2.6. Gümüş

Gümüş, beyaz, parlak bir metal elementtir. İsmi latince Argentum kelimesinden gelir ve periyodik cetvelde Ag simgesi ile gösterilir. Özağırlığı 10,5 g/cm³ erime noktası yaklaşık 961, 9 °C, kaynama noktası 1950 °C olup çoğu kez + 1 değerlikli olarak bileşiklerinde yer alır (66).

Gümüşten uzun süredir antibakteriyel özelliğinden dolayı faydalanılmaktadır. Son yıllarda, gümüşün fiziksel özelliklerinden çok, onun antibakteriyel ve antifungal etkilerinden faydalanılmak üzere çeşitli biyoteknolojik çalışmalar kendisine yer bulmaktadır ve bunlardan biri otopedik kaplamalardır. Hardes ve ark.'ları başka bir 51 hastalık prospektif çalışma serisinde (67) hastalar gümüş kaplamalı proksimal femur yada proksimal tibia tümör protez replasmanı uygulanmıştır. 5 yıllık takipler sonucunda Ag kullanılan tümör endoprotezlerindeki enfeksiyon oranı %5.9 iken aynı kurumdaki geçmiş kontrollerde gümüş kaplama bulunmayan tümör endoprotezlerinde enfeksiyon oranı %17.6 olarak belirlenmiştir. Bu protezlerin enfeksiyon durumunda ise kaplama bulunmayan gruptaki hastaların %38.5'inin en sonunda amputasyon ile tedavi edilmek zorunda kaldığı, gümüş kaplı implantı olan hastalarda ilse tüm enfeksiyonların amputasyona gerek kalmadan başarılı bir şekilde tedavi edilebildiği belirtilmiştir. Yine Hardes ve ark.'larının yaptığı ilk prospektif vaka çalışmalarında (68) 20 hasta, ortalama 0.91gr miktarında gümüş kaplı tümör endoprotezleri ile tedavi edilmiştir. Lokal veya sistemik bir toksik etki raporlanmamıştır. Ayrıca kan gümüş seviyeleri 0.056 µg/ml dozunu aşmamıştır ve karaciğer böbrek laboratuvar parametrelerinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Wafa ve ark.'ları (69) Agluna gümüş kaplaması methodunu kullanmışlardır. Bu methodda aen fazla 6 mg gümüş kullanılmakta ve anodizasyon yoluyla titanyum alaşım yüzeyine iyonik gümüş işlenir. Bu retrospektif çalışmada, 2006-2011 yılları arasında gümüş kaplı tümör protezleri ile tedavi edilen 85 hastadan oluşan bir grup, 2001-2011 yılları arasında herhangi bir kaplaması bulunmayan tümör protezleri ile tedavi edilen bir grupta kıyaslanmıştır. Enfeksiyon oranında gümüş kaplı protezler lehine %22,4 (ortalama post-op enfeksiyon oranı)'den %11,8'e bir gerileme

saptanmıştır. Böylece yazar, gümüş kaplamaların da enfeksiyon önlenmesinde olumlu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varmıştır.

2.4.3. Kaplama yöntemleri

Ortopedik implantların tutunması,

- başlangıç tespitinin sağlamlığına ve mikrohareketlerin olmamasına,
- doğrudan canlı kemik dokusu ile implant yüzeyinin temasına,
- protez yüzeyi ile kemik arasında olan biyolojik bütünleşmeye ve
- gözenekli yüzeye (poroz) doğru olan kemik ilerlemesine bağlıdır.

Poroz kaplama son 30 yıldır çok ilerleme kaydeden ve çimentosuz implantların başarısında bir mihenk taşı olmuştur. İmplantlara gözenekli bir yapı sağlanması ve sonuç olarak yüzey alanının arttırılması mekaniğine dayanır (70). İmplantların yüzeyinde porozitenin oluşturulması için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Kobalt-krom materyali için küçük taneciklerin ya da tozların yüksek ısıda yapıştırılması (sinterleme), titanyum mesh'lerin difüzyonla bağlanma sistemi ve plazma sprej ile yapıştırılması yöntemi kullanılmaktadır. Bu işlemler ile hem yeni kemik gelişimini arttıracak pürüzlü yüzeyler sağlanmış olur hem de kemik ile temas eden yüzey alan 3 ila 7 kat arttırılmış olur.

Malzeme mühendisliği ve biyomedikal mühendisliği ile birlikte konuya ilişkili farklı disiplinlerin katkılarıyla geliştirilen birçok kaplama yöntemi mevcuttur.

Bunlar içinde;

- Plazma püskürtme,
- Termal püskürtme,
- Buhar depolama,
- Sıcak izostatik baskılama (HIP),
- Sol-gel kaplama,
- Biyomimetik çökeltme,
- Sıçratma püskürtümlü,
- Elektroforetik depolama (EPD),

- Darbeli lazer depolama (PLD),
- Daldırma,
- Matriks destekli darbeli lazer buharlaştırma (MAPLE)
- Anodik oksidasyon bulunmaktadır (71,72).

2.5. Bor, Borik Asit ve Bor Nitrür

2.5.1. Bor

Bor elementi periyodik cetvelde ‘‘B’’ simgesiyle 3A grubunun ilk sırasında yer almaktadır. Atom numarası 5, atom ağırlığı 10,81g, erime noktası 2200 °C ve yoğunluğu 2,84 gr/cm³ ‘dür. Yarı iletken özelliği bulunmaktadır (73).

Dünyada bor rezervinin en büyük olduğu üç bölge; Güney-Orta Asya orojenik kemeri, Amerika Mojave Çölü civarı ve Güney Amerika And Dağları’dır. (Tablo 1)

Tablo 1: Dünya bor madeni rezervleri (milyon ton B₂O₃)(74)

Ülke	Görünür rezervler	Muhtemel mümkün rezervler	Toplam rezervler	Toplam Rezerv içindeki payı (%)	Yaşam süresi (Yıl)**
Türkiye*	227	624	851	72,2	389
Rusya	40	60	100	8,5	69
ABD	40	40	80	6,8	55
Şili	8	33	41	3,5	28
Çin	27	9	36	3,1	25
Kazakistan	14	1	15	1,3	10
Peru	4	18	22	1,9	15

(*Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü rezerv bilgileri kullanılmıştır. **EIE (Turkey General Directorate of Electrical Power Resources Survey and Development),2003. Hydrogen and boron www.iea.org/dbtw-wpd/textbase/work/2003/)

Bor doğada tek başına bulunmamaktadır. Oksijenle çok farklı formlarda bileşik olarak bulunur (75). Bor insan metabolizmasında eser miktarda bulunmasına rağmen vücutta metabolik fonksiyonlarda da görev almaktadır (76). Borun düşük molekül ağırlığına sahip olması ve cis-hidroksil(-OH) grubu içeren bileşikler (adenozin-5-fosft, riboflavin, piridoksin, polisakkartler) ile reaksiyon kabiliyeti bunu düşündürmektedir (77). Aynı zamanda bor bileşikleri medikal olarak Multiple Miyeloma tedavisinde ‘‘Bortezomib’’ formuyla, lens solüsyonları, gargara ve merhemlerde antiseptik formuyla kullanılmaktadır. Bor elementinin büyük bir miktarı da ülkemizde bulunmaktadır (76).

2.5.2. Borik Asit

Bor’un okside hali olan borik asit’in kimyasal bileşimi %56,3 B_2O_3 ve %43,7 H_2O ‘dan oluşur. Bor’un (B) molekül ağırlığı 10,811 g/modür. 2075 ile 2175 °C arasında ergir. Bor katı yakıt olarak kullanılabilir. Yanma sonucu oluşan enerji karbon için 94 kcal/ mol iken bor için 308 kcal/ mol’dür. İnce amorf bor tozları oda sıcaklığında okside olur ve ısıya duyarlıdır. Hidrojen borat, ortoborik asit veya boranik asit olarak isimlendirilir. Kimyasal formülü ‘‘ H_3BO_3 ’’ veya ‘‘ $B(OH)_3$ ’’dür (78). Kimyasal yapısı itibariyle birçok molekül ile kompleks oluşturmakta ve bunların farklı kullanım alanları mevcuttur. Sağlık sektörü tarım, cam, temizlik, nükleer enerji, bilgisayar ve kozmetik gibi alanlarda kullanılmaktadır (75). Osteoporoz’da kemik kaybının borik asit uygulaması nedeni Ca metabolizması hızını arttırıp kemik mineralizasyonunda artış sağlayarak önlenebileceği bildirilmiştir. Başka bir ispatı; borik asit eksikliği durumunda idrarda Ca atılımının artması gösterilmiştir (79). Ek olarak, borik asit osteoblast aktivasyonunu arttırdığı belirlenmiştir (80). Ayrıca borik asit alımının fazla olduğu durumlarda renal atılım ile borik asit düzeyleri dengelenmektedir (81). Borik asitin protein yapısı ve kollajenler üzerine etkisi olduğu ve böylece yara iyileşmesine pozitif katkı yaptığı bildirilmiştir (82).

2.5.3. Bor Nitrür

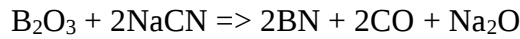
Bor nitrür (BN), kimyasal kararlılık, elektriksel yalıtkanlık, ısı iletkenlik, kristal yapısı ve faz dönüşümlerinin bulunması gibi özellikleri sayesinde endüstride geniş bir kullanım alanına sahiptir. Kristal yapısı karbona benzerlik gösterir (58).

Bor nitrür'ün üç farklı kristal formu bulunmaktadır. Hekzagonal, kübik ve piriliktik bor nitrür'dür. Bor nitrür, sp^2 ve sp^3 bağı fazları bulunur. sp^3 bağlanma sonucunda kübik yapılar oluşurken, sp^2 bağlanma sonucunda hekzagonal yapılar oluşur (83). Monolitik bor nitrür'ler çok kolay işlenebilir ve toksik değildirler (84).

Bor nitrür ile ilgili deneysel çalışmalarda, bor nitrür'ün ortopedik uygulamalarda uygunluk ve biyogüvenlik açısından umut verici olduğu raporlanmıştır (85,86). Ayrıca birçok çalışma bor nitrür'ün hidroksiapatit, skafold gibi polimerlerin biyomekanik özelliklerini geliştirdiğini göstermiştir (87). Ayrıca Shuai ve ark.'larının yaptığı çalışmada (88) BNNT'lerin umblikal kord mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını etkili bir şekilde desteklediğini gösteren ilk çalışmadır. Özetle, BNNT, biyoseramik iskelelerin yalnızca mekanik özelliklerini güçlendirmekle kalmayıp aynı zamanda osteoindüktivitesini de geliştirerek kemik dokusu mühendisliği için umut verici bir biyomateryal olabileceğini göstermiştir.

Hekzagonal Bor Nitrür

“Beyaz grafit” de denmektedir. Yüksek sıcaklığa dayanıklı oksidasyon direnci yüksek bir malzemedir. Üretimi toz olarak meydana gelmekte ve yağlama malzemesi olarak kullanılmaktadır.



Teorik yoğunluğu $2,27 \text{ g/cm}^3$ 'dür (89).

Kübik Bor Nitrür

Diğer adıyla “suni elmas” 5-10 nanometre boyutlarında olan kübik bor nitrür'ün teorik yoğunluğu $3,48 \text{ g/cm}^3$ 'dür (89) (Tablo 2).

Kübik bor nitrür (c-BN), birinci sıra geçiş metalleri, seramikler, yarı iletkenler ve diğer birçok endüstriyel uygulama için önemli bir malzemedir. Kübik bor nitrür, genellikle c-BN olarak kısaltılır ve çoğunlukla elmasın yapısına benzer kristal yapıya sahiptir.

Kübik bor nitrür, bor ve azot elementlerinden oluşur. B-N-B ve B-N-B gibi dörtlü bağlar içeren bir kristal yapıya sahiptir. Bu yapı, kübik kristal yapının karakteristik özelliğidir ve malzemenin sertlik, termal iletkenlik ve kimyasal direnç gibi özelliklerini belirler. Yüksek sıcaklık ve basınç altında stabilitesini koruyabilen bir malzemedir. Bu özelliği nedeniyle kesici takımlar, termal yalıtım malzemeleri ve yüksek sıcaklık uygulamaları için kullanılır. Ayrıca endüstriyel aşındırıcılar ve kesici takımlar için elmasın bir alternatifi olarak kullanılabilir.

Kübik bor nitrür genellikle inert bir malzeme olarak kabul edilir ve insan sağlığına zararlı değildir. Ancak, toz halinde solunması veya cildin uzun süre teması bazı sağlık risklerine neden olabilir (89,90).

Tablo 2: hBN ve cBN'ün kimyasal değerleri(91)

Özellikler	k-BN	h-BN
Yoğunluk	3,48	2,27
Termal iletkenlik, 25°C (W/m.K)	1300	55
Erime Sıcaklığı (°C)	2973	2700
Oksitlenme Sıcaklığı (°C)	1200	980

Bor nitrür (BN) üzerine yapılan deneysel çalışmalar ortopedik uygulamalar için biyouyumluluk ve biyogüvenlik açısından umut verici sonuçlar bildirdi (86).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Özel Nesa Deney Hayvanları Labarotuarında, 2023/4-1 karar, 0024 protokol numaralı İstanbul Medeniyet Üniversitesi Yerel etik kurul onayı (Ek 1) protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Tüm ratlar (n=24) tür olarak Wistar Albino türü ve ağırlıkları 300gr $\pm$ 25 gr, yaşları 12 haftalık ratlar seçilmiştir. Rat grupları 3 kontrol grubu ve 3 deney grubu olmak üzere 6 grup olarak belirlendi. Her grupta 4 rat olacak şekilde 24 Wistar albino rat randomize olarak gruplara dağıtıldı ve sağ femurlar seçildi.

Bu çalışma, kontrol ve deney grubundaki ratlara aynı gün, aynı cerrah tarafından, sterilite koşullarına uyarak aynı setler ile seçilen kırık modeline uygun olarak kırık oluşturulmasını takiben, kırığa plak vida sistemini uygulandıktan sonra 10., 20. ve 30. günlerde ratlar sakrifiye edilerek radyolojik, biyokimyasal ve histolojik değerlendirmeye tabi tutulmuştur.

3.1. Bor nitrür ve borik asit kompozitli plakların elde edilmesi

Kompozitin yapısında A1, B1 ve C1* ana bileşikleri ile Ca içeren hexagonal bor nitrür esterleri, bor bileşikleri ve borik asit belirli oranlarda birleştirilerek deney grubu için kullanılacak plaklar (Resim 8) Gazi Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü'nde daldırma yöntemi(71,72) ile kaplanmıştır.

(*Kaplama içeriği ve yönteminin, patent ve ticari içeri olduğundan içindekiler kodlanmıştır.)



Resim 8: 15mmx3mmx1mm boyutlarındaki standart plak ve bor nitrür-borik asit kompoziti kaplı plak

3.2. Çalışma Grupları

Kontrol grubunda 12 adet, deney grubunda 12 adet olmak üzere 24 adet Wistar Albino soylu rat kullanılmıştır. Ratların tümü dişi, eşit ağırlık, eşit yaş (12 haftalık) ve gebe olmayanlardan seçilmiştir. Deney grubunda 10.günde sakrifiye edilen ratlar D-1, D-2, D-3, D-4, 20. günde sakrifiye edilen ratlar D-5, D-6, D-7, D-8, 30. günde sakrifiye edilen ratlar D-9, D-10, D-11, D-12 olarak kodlanmıştır. Kontrol grubundaki 10. günde sakrifiye edilen ratlar K-1, K-2, K-3, K-4, 20. günde sakrifiye edilen ratlar K-5, K-6, K-7, K-8 ve 30. günde sakrifiye edilen ratlar K-9, K-10, K-11, K-12 olarak kodlanmıştır. İstatistiksel olarak non-parametrik testler kullanılarak daha çok anlam sağlanabilmesi adına deney ve kontrol grupları 3 gruba (her grupta 4 adet rat olacak şekilde) ayrılmıştır (Tablo 3). Ratlar gruplara randomize olarak ayrılmıştır.

Tablo 3: Sakrifikasyon periyotları ve toplam rat sayıları

Sakrifikasyon periyotları ve toplam rat sayıları	10.Gün	20.Gün	30.Gün	Toplam Sayı
Kontrol	4	4	4	12
Deney	4	4	4	12

Kontrol gruplarındaki kırığa standart titanyum plak vida sistemi, deney gruplarındaki kırığa ise bor nitrür-borik asit kompoziti ile kaplı titanyum plak vida sistemi kırığa uygulanmıştır.

Ratlarda kırık iyileşmesi göz önüne alındığında (Resim 4) her 10. , 20. ve 30. günlerde deney grubundan 4 ve kontrol grubundan 4 adet rat sakrifiye edilerek radyolojik, biyokimyasal ve histolojik incelemelere tabi tutulmuştur.

3.3. Hayvanların Hazırlanması, Kırık modeli ve Cerrahi

Rat türü olarak Wistar Ablino türü ve ağırlıkları 300gr $\pm$ 25 gr, yaşları 12 haftalık ratlar seçilmiştir. Rat grupları 3 kontrol ve 3 deney olmak üzere 6 grup olarak belirlendi. Her grupta 4 rat olacak şekilde 24 Wistar albino rat randomize olarak gruplara dağıtıldı ve sağ femurlar seçildi. Ratların anestezisi öncesinde 40 mg/kg (Iespor ® im, I.E.Ulagay, Turkey) uygulandı. Anestezisinde ise Ketamin (Keta-Control®, Doğa İlaç, Turkey) 50 mg/kg kas içi uygulandı. Anestezinin ardından öncelikle insizyon alanı tıraş edildi(Resim 9).



Resim 9: İnsizyon alanının tıraş edilmiş hali

Cerrahi alan sterilizasyonun povidone-iodine (Isosol®, Central Lab., Türkiye) ile sağlanmasının ardından rat uyluk lateralinden 2 cm'lik insizyon cilt altına geçildi ve femur shaftına ulaşıldı. Ratlarda cerrahi kırık oluşturma yöntemi olarak Savaridas ve ark.'larının kırık yöntemi (92) belirlenmiştir. Bu yöntem gereği; Femura 4 adet 1 mm'lik drill yuvaları açıldı (Resim 10).



Resim 10: Savaridas ve ark.'larının methoduna uygun kırık modeli oluşturulması

Bu yuvalar üzerinden 0.1mmlik gigli ile osteotomi yapılarak kırık oluşturuldu.

Kırık oluşturulmasının ardından 1 adet 4 delikli plak femura yerleştirilerek kırık hattının distaline 2 adet, proksimaline 2 adet olacak şekilde 4 adet kilitli vida ile fikse edildi (Resim 11). Kontrol gruplarındaki plak seçimi kaplamasız, deney gruplarındaki plak seçimi bor nitrür-borik asit kompoziti ile kaplı plaklar olmuştur.



Resim 11: Plak vida uygulamasının ardından intra-op görünümü

Takiben cilt altı 4/0 rapid, cilt ise 3/0 rapid suture ile anatomiye uygun olarak kapatılarak (Resim 12) operasyon sonlandırıldı.



Resim 12: Cilt sutureasyonu sonrası görünümü

Kalça destekli uzun bacak abeslang atele alınarak mobilizasyonları kısıtlandı (Resim 13). Atelin gevşeme veya çıkması durumunda ateller yenilendi.



Resim 13: Kalça destekli uzun bacak atel uygulanması

Post op dönemde 40 mg/kg (Iespor ® im, I.E.Ulagay, Turkey) sabah ve akşam olacak şekilde (2x1) uygulanmıştır. Ratlar tekli kafeslerde tutuldu. Postop 1. günde tüm ratların çevreye ilgileri normaldi ve genel durumları iyiydi. Tüm deney hayvanlarına 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde standart oda koşulları sağlandı. Oda sıcaklığı 18-20 °C arasında tutuldu. Beslenme rutinine ve ortam şartlarına müdahale edilmedi. Hayvanlarda ilk günde hareket kısıtlılığı görülürken sonrasında normale döndü. Hayvanlarda iştahsızlık veya enfeksiyon bulguları görülmedi. Deneklerin kuyruklarına numaraları yazıldı ve takiplerde numaralarda silinme durumunda yenilendi.

3.4. Radyoloji

Radyolojik olarak; tüm ratlar genel anestezi altında iki yönlü (AP, lateral) sağ femur direkt grafi görüntülemesi yapıldı. Röntgen görüntülemeleri Maestro RX-7 Yeni Nesil Portatif İntraoral X-Ray ile yapıldı (Resim 14,15).



Resim 14: Maestro RX-7 Yeni Nesil Portatif İntaoral X-Ray



Resim 15: Post-op 0.gündeki kontrol grubunda bir ratın AP ve lateral sağ femur direkt grafi görüntülemeleri

Sakrifikasyon yöntemi olarak genel anestezi altında intrakardiyal kan alımı ile hipovolemik şok yöntemi tercih edildi (Resim 16).



Resim 16: İntrakardiyak kan alınarak uygulanan sakrifikasyon yöntemi

Deney ve kontrol gruplarının çekilen radyolojik görüntüleri, Modifiye Lane ve Sandhu Radyolojik Skorlama Sistemi kullanılarak skorlandı (93). (Tablo 4) En az 0, en fazla 8 puan olacak şekilde kemikleşme, kaynama ve remodelling puanlamaları üzerinden gerçekleştirilen bir skorlama sistemidir. Sistemdeki kemikleşme skorlamasında; kemikleşme yok ise 0 puan, defektin %25'i dolmuş ise 1 puan, defektin %50'si dolmuş ise 2 puan, defektin %75'i dolmuş ise 3 puan ve defektin tamamı kemikleşmiş ise 4 puan almaktadır. Kaynama skorlamasında kaynama yok ise 0 puan, kaynama başlangıç döneminde ise 1 puan ve tam kaynama mevcutsa 2 puan almaktadır. Son olarak remodelling kısmında remodelling bulgusu yok ise 0 puan, intramedüller remodelling var ise 1 puan ve korteks remodelling var ise 2 puan almaktadır.

Tablo 4: Modifiye Lane ve Sandhu Radyolojik Skorlama Sistemi(93)

Kemikleşme	Skor
Kemikleşme yok	0
Defektin %25'i dolmuş	1
Defektin %50'si dolmuş	2
Defektin %75'i dolmuş	3
Defektin tamamı kemikleşmiş	4
Kaynama	
Kaynama yok	0
Kaynama başlangıcı	1
Tam kaynama	2
Remodelling	
Remodelling bulgusu yok	0
Intramedüller remodelling	1
Korteks remodelling	2

Sonrasında ratın femuru eksize edilerek yüksek çözünürlüklü mikro-ct'de (Skyscan 1275; Bruker-mikro-CT, Kontich, Belgium) (Resim 17) kallus dokusu değerlendirildi. İlgili bölgeler (The region of interest, ROI) plak vida sisteminin tam ortası olacak şekilde belirlendi ve görüntülemeler sagittal, aksiyel ve koronal planda değerlendirildi.

Ölçümler sonucu toplam kemik volümü (Bone volume,BV,mm³), yeni kortikal kemik(mm³) ve yeni kortikal kemik oranı(%) değerlendirildi.



Resim 17: Bruker Skyscan 1275 Mikro-CT

3.5. Biyokimya

Ratlardan sakrifikasyon sırasında alınan kanlar sarı kapaklı tüplere(Jelli serum ayırma tüpü) alınıp 3500 rpm de 5 dk. santrifüj edildikten sonra (Medwelt 800 D Santrifüj Cihazı 6'lı, İzmir, Türkiye)(Resim 18) serumlar, saklama koşullarını optimize edebilmek için fraksiyonlar halinde bölünerek (alikitlanarak) -80 °C'de çalışılacağı güne kadar muhafaza edildi. Analizlere başlamadan önce dondurulmuş örnekler oda sıcaklığında aşamalı olarak çözündürüldü, tekrar çözme-dondurma işlemlerinden kaçınıldı. Biyokimya analizi İstanbul Medeniyet Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman bakanlığı 01.04.2021 yayın tarihli numune gönderme kılavuzuna uygun şekilde taşınmıştır. Tüm numuneler ve kullanılan kitler çalışmaya başlamadan önce oda sıcaklığına (18-26°C) getirildi.



Resim 18: Medwelt 800 D Santrifüj Cihazı 6'lı

Serum örneklerindeki ALP, Osteokalsin ve IGF-1 miktarı, rat-ALP, rat-OT/BGP, rat-IGF-1 ELISA kitleri kullanılarak tayin edildi (SunRed, 201-11-0346, 201-11-0271, 201-11-0710). Bu kit Sandviç-Elisa prensibini kullanır. Standartlar ve örnekler biyokimyasal parametreye özgü spesifik antikör kaplı kuyulara eklendi. Sonra protokol takip edilip, inkübasyon ve yıkama işlemlerinden sonra oluşan renk değişimi stop solüsyon ile durdurulup, 450 nm de spektrofotometrik okundu. Numunelerdeki biyokimyasal parametrenin konsantrasyonu, standartların absorbans- konsantrasyon grafiği, 4 parametrik lojistik seçilerek çizildi ve elde edilen formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, ng/mL olarak ifade edildi. Bu işlem 10., 20. ve 30. gündeki kontrol ve deney gruplarındaki tüm ratlara ayrı ayrı uygulandı.

3.6. Histoloji

Histolojik inceleme Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Doç. Dr. Nihat YUMUŞAK tarafından gerçekleştirilmiştir. Histolojik inceleme, %10'luk formaldehitte tespit edilen doku örnekleri akarsuda yıkandıktan sonra 2 hafta süre ile günlük değiştirilen DeCastroR solüsyonunda (300 cc absolute ethanol, 50 gr kloral hidrat, 670 cc distile su, 30 cc %70 nitrik asit) dekalsife edildi. Daha sonra dokular bir gece %10'luk formaldehitte bekletildi. Ardından rutin patolojik doku takibine alınarak dereceli alkol (50%, 75%, 96%, 100%) ve ksilol serilerinden geçirildi ve parafinde bloklandı. Hazırlanan bloklardan 5 µ kalınlığında kesitler Leica RM 2125 RT ile ilk üç kesit ve her onuncu kesitler

lamalara alındı. Hazırlanan preparatlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek hematoksilin eozin (HE) ile boyandı. Tüm örnekler yüksek çözünürlüklü ışık mikroskopunda (Olympus DP-73 camera, Olympus BX53-DIC microscope; Tokyo, Japan) incelendi. İncelenen dokular Huo ve ark.'larının tanımladığı histolojik puanlama sistemine (94) göre puanlandı (Tablo 5).

Tablo-5: Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde Huo ve ark.'larının puanlama sistemi(94)

Skor	Kırık bölgesi histolojik bulguları
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz doku ve az miktarda kıkırdak doku
3	Eşit miktarda fibröz ve kıkırdak doku
4	Ağırlıklı kıkırdak az miktarda fibröz doku
5	Kıkırdak doku
6	Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda olgunlaşmamış kemik doku
7	Eşit oranlarda kıkırdak ve olgunlaşmamış kemik doku
8	Ağırlıklı olarak olgunlaşmamış kemik ve az oranda kıkırdak doku
9	Tamamen olgunlaşmamış kemik doku
10	Olgun (lamellar) kemik doku

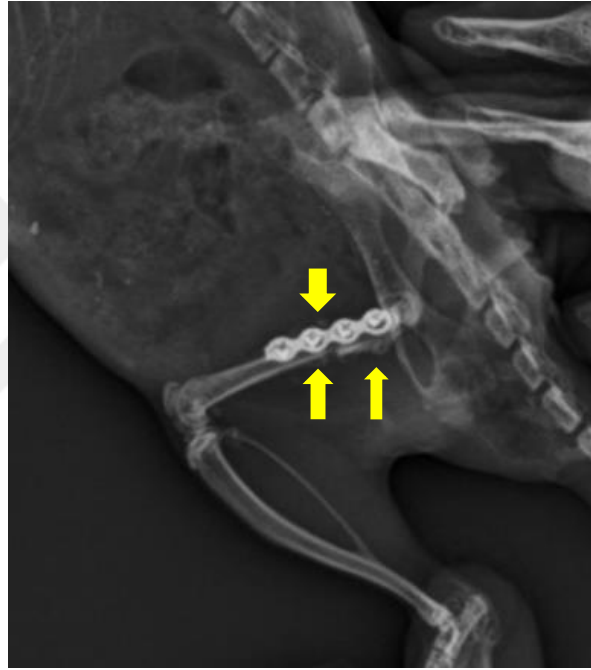
3.7. İstatistiksel Analiz

Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse medyan (25th-75th) olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümlerin iki grup arasında karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı (95) kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

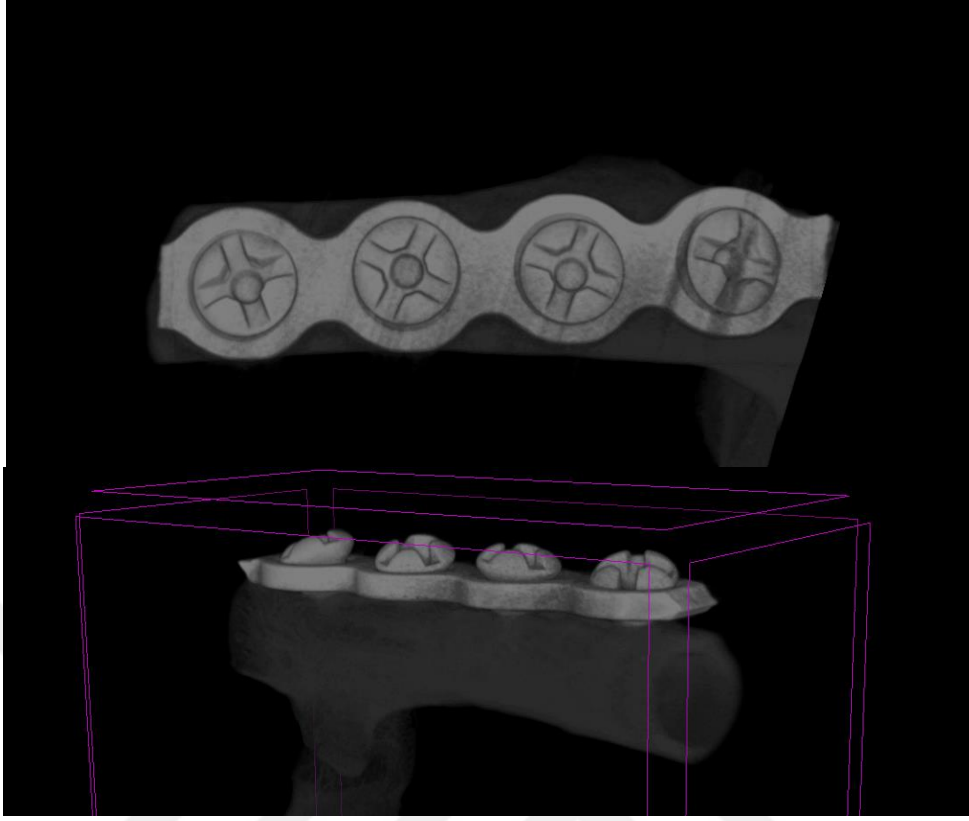
4.1 Radyoloji

Radyolojik yöntemlerde; ratlarda kırık iyileşmesi göz önüne alındığında (Resim 4) her 10., 20. ve 30. günlerde 4 deney ve 4 kontrol ratına röntgen görüntülemeleri yapıldı (Resim 19). Değerlendirme bir radyoloji uzmanı tarafından, gruplar bilinmeden yapılmıştır.

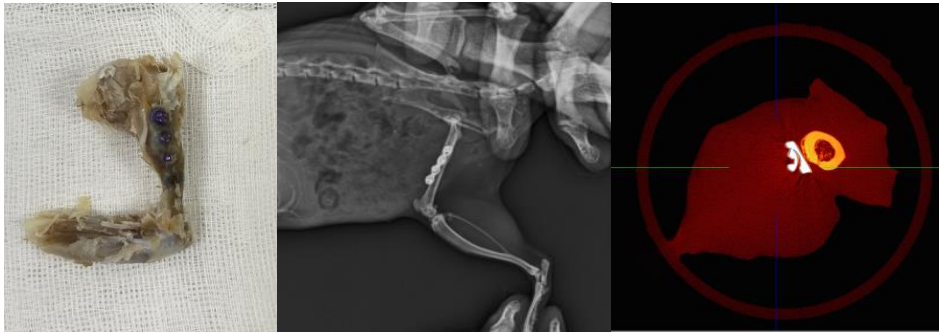


Resim 19: Post op 30.gündeki deney grubundaki bir ratın röntgen örneği ve kallus dokuları(ok ile gösterilen)

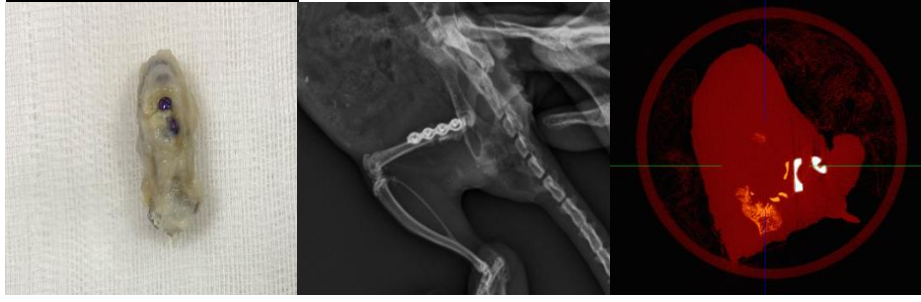
Ratlarda kırık iyileşmesi göz önüne alındığında her 10., 20. ve 30. günlerde bir deney ve bir kontrol grubu sakrifiye edilerek femuru eksize edilmiş ve mikro-ct değerlendirilmesine tabi tutulmuştur (Resim 20,21,22). Mikro-CT ölçümlerinde toplam kemik volümü (Bone volume, BV, mm³), yeni kortikal kemik(mm³) ve yeni kortikal kemik oranı(%) değerlendirildi (Tablo 6,7,8).



Resim 20: Post op 30.gündeki deney grubundaki bir ratın mikro-ct örnekleri



Resim 21: Post op 30.gün kontrol örneği makroskopi, röntgen ve Mikro-CT görüntüleri



Resim 22: Post op 30.gün deney örneği makroskopi, röntgen ve Mikro-CT görüntüleri

Tablo 6: Post op 10.gündeki 1. Kontrol grubu ile 1. Deney grubu Lane-Sandhu skoru ve mikro-CT değerleri

Ratlar	Lane-Sandhu skoru (Röntgen)	Mikro-CT (Toplam kemik volümü, Bone volüme, BV, mm ³)	Mikro-CT (Yeni kortikal kemik,mm ³)	Mikro-CT (Yeni kortikal kemik oranı,%)
D-1	3	197,0525598	10,93518996	5,54937727
D-2	3	202,1786056	14,48996815	7,16691467
D-3	1	141,7474250	13,00119324	9,17208424
D-4	2	166,2875024	14,13130256	8,49811462
K-1	1	145,0032046	12,12603987	8,36260129
K-2	1	137,7980614	13,51004206	9,80423231
K-3	2	162,2911032	10,77689024	6,64046890
K-4	2	170,5571116	11,11427503	6,51645359

Tablo 7: Post op 20.gündeki 2. Kontrol grubu ile 2. Deney grubu Lane-Sandhu skoru ve mikro-CT değerleri

Ratlar	Lane-Sandhu skoru (Röntgen)	Mikro-CT (Toplam kemik volümü, Bone volüme, BV, mm ³)	Mikro-CT (Yeni kortikal kemik, mm ³)	Mikro-CT (Yeni kortikal kemik oranı, %)
D-5	6	307,8247881	10,67818681	3,46891713
D-6	5	222,1103064	11,75430072	5,29210053
D-7	5	266,8897036	13,26787912	4,97129673
D-8	5	214,7109408	14,27053978	6,64639618
K-5	5	201,288467	13,18796102	6,55177180
K-6	4	241,5234072	12,24676468	5,07063262
K-7	5	299,7582477	11,31999046	3,77637330
K-8	5	218,4215904	12,93054236	5,91999277

Tablo 8: Post op 30.gündeki 3. Kontrol grubu ile 3. Deney grubu Lane-Sandhu skoru ve mikro-CT değerleri

Ratlar	Lane-Sandhu skoru (Röntgen)	Mikro-CT (Toplam kemik volümü, Bone volüme, BV, mm ³)	Mikro-CT (Yeni kortikal kemik, mm ³)	Mikro-CT (Yeni kortikal kemik oranı, %)
D-9	8	307,2150487	18,28675144	5,95242697
D-10	8	330,2800024	19,22870336	5,82193993
D-11	5	198,1982021	11,02396690	5,56209228
D-12	8	322,1450236	15,96302758	4,95523022
K-9	6	272,6140932	18,92570436	6,94230593
K-10	7	284,4560089	14,36210780	5,04897325
K-11	8	328,9998096	11,55263792	3,51144212
K-12	7	288,2236971	10,11023648	3,50777419

Tablo 9: Grupların mikro-ct ölçümlerinin medyan (25th,75th) değerleri (10. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Mikro-ct toplam kemik volumü (mm³)	153,65 (139,60-168,49)	181,67 (147,88-200,90)	0,343
Mikro ct yeni kortikal kemik oranı %	7,50 (6,55-9,44)	7,83 (5,95-9,00)	>0,999
Mikro ct yeni kortikal kemik (mm³)	11,62 (10,86-13,16)	13,57 (11,45-14,40)	0,343

Post-op 10.gün kontrol grubundaki mikro-ct toplam kemik volumü medyanı 153,65 mm³ iken deney grubunda 181,67 mm³ olarak bulunmuştur (p=0,343). 10.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla miktarda toplam kemik volumü saptanmıştır.

Post-op 10.gün kontrol grubundaki mikro-ct yeni kortikal kemik oranı medyanı %7,50 iken deney grubunda %7,83 olarak bulunmuştur (p>0,999). 10. Günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla oranla yeni kortikal kemik oranı saptanmıştır.

Post-op 10.gün kontrol grubundaki mikro-ct yeni kortikal kemik miktarı medyanı 11,62 mm³ iken deney grubunda 13,57 mm³ olarak bulunmuştur (p=0,343). 10.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla oranla yeni kortikal kemik miktarı saptanmıştır (Tablo 9).

Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 10: Grupların mikro-ct ölçümlerinin medyan (25th,75th) değerleri (20. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Mikro-ct toplam kemik volümü (mm³)	229,97 (205,57-285,20)	244,50(216,56-297,59)	0,686
Mikro-ct yeni kortikal kemik oranı (%)	5,50 (4,10-6,39)	5,13 (3,84-6,31)	0,886
Mikro-ct yeni kortikal kemik (mm³)	12,58 (11,55-13,12)	12,51 (10,95-14,02)	>0,999

Post-op 20.gün kontrol grubundaki mikro-ct toplam kemik volümü medyanı 229,97 mm³ iken deney grubunda 244,50 mm³ olarak bulunmuştur (p=0,686). 20.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla miktarda toplam kemik volümü saptanmıştır.

Post-op 20.gün kontrol grubundaki mikro-ct yeni kortikal kemik oranı medyanı %5,50 iken deney grubunda %5,13 olarak bulunmuştur (p=0,886). 20.günde deney grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha fazla oranla yeni kortikal kemik oranı saptanmıştır.

Post-op 20.gün kontrol grubundaki mikro-ct yeni kortikal kemik miktarı medyanı 12,58 mm³ iken deney grubunda 12,51 mm³ olarak bulunmuştur (p>0,999) (Tablo 10).

Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır

Tablo 11: Grupların mikro-ct ölçümlerinin medyan (25th,75th) değerleri (30. Gün)

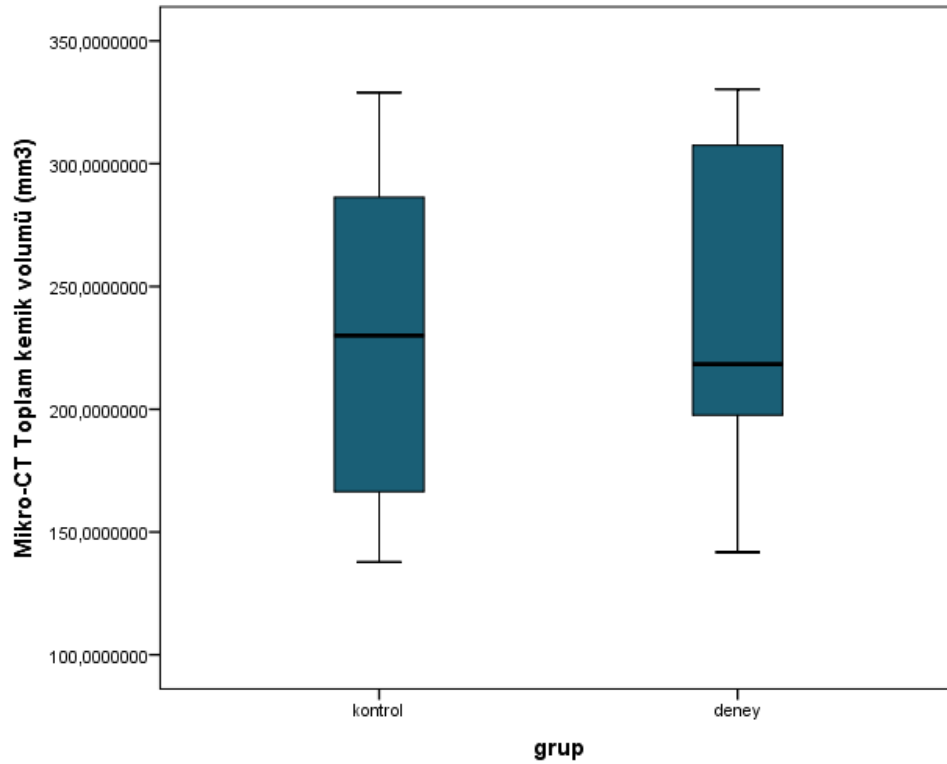
	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Mikro-ct toplam kemik volümü (mm³)	286,34 (275,57-318,81)	314,68 (225,45-328,25)	0,686
Mikro-ct yeni kortikal kemik oranı (%)	4,28 (3,51-6,47)	5,69 (5,11-5,92)	0,486
Mikro-ct yenikortikal kemik (mm³)	12,96 (10,47-17,78)	17,12 (12,26-18,76)	0,486

Post-op 30.gün kontrol grubundaki mikro-ct toplam kemik volumü medyanı 286,34 mm³ iken deney grubunda 314,68 mm³ olarak bulunmuştur (p=0,686). 30.günde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla miktarda toplam kemik volumü saptanmıştır.

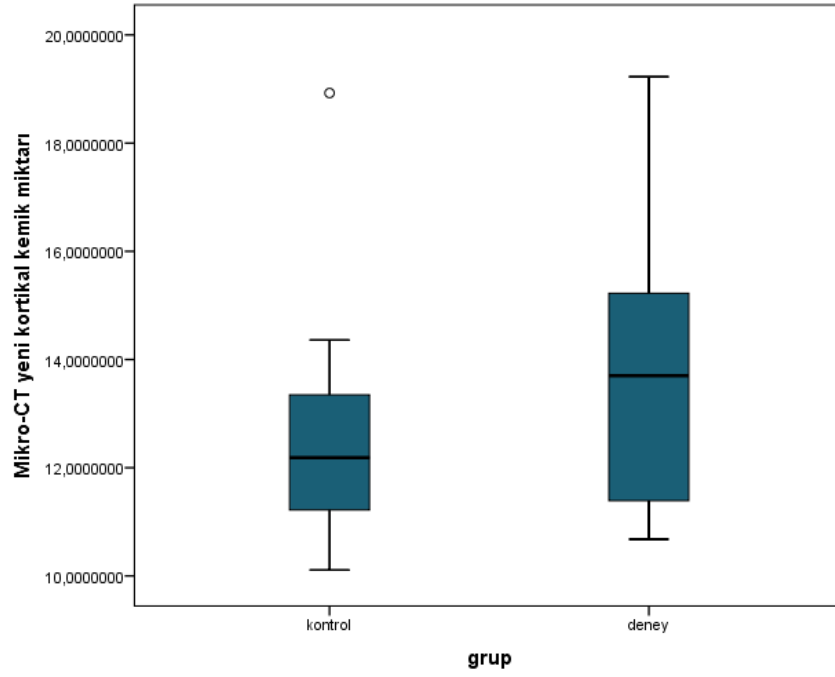
Post-op 30.gün kontrol grubundaki mikro-ct yeni kortikal kemik oranı medyanı %4,28 iken deney grubunda %5,69 olarak bulunmuştur (p=0,486). 30.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla oranla yeni kortikal kemik oranı saptanmıştır.

Post-op 30.gün kontrol grubundaki mikro-ct yeni kortikal kemik miktarı medyanı 12,96 mm³ iken deney grubunda 17,12 mm³ olarak bulunmuştur (p=0,486). 30.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla oranla yeni kortikal kemik miktarı saptanmıştır (Tablo 11).

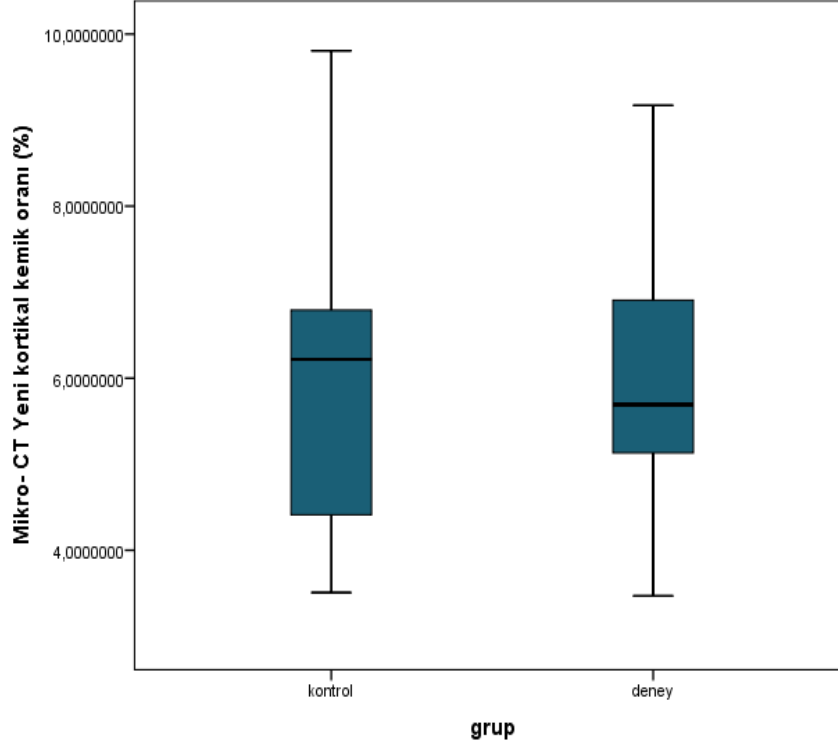
Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Grafik 1,2,3).



Grafik 1: Kontrol ve deney gruplarının ortalama Mikro-CT toplam kemik volümü(mm3) grafiği



Grafik 2: Kontrol ve deney gruplarının ortalama Mikro-CT yeni kortikal kemik miktarı (mm3) grafiği



Grafik 3: Kontrol ve deney gruplarının ortalama Mikro-CT yeni kortikal kemik oranı (%) grafiği

Tablo 12: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25th,75th) değerleri (10. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Lane-Sandhu skoru	1,5 (1-2)	2,5 (1,25-3,00)	0,343

Post-op 10.gün kontrol grubundaki Lane-Sandhu skoru medyanı 1,5 iken deney grubunda 2,5 olarak bulunmuştur (p=0,343). 10.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda Lane-Sandhu skorunun daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 12).

Tablo 13: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25th,75th) değerleri (20. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Lane-Sandhu skoru	5 (4,25-5,00)	5 (5,00-5,75)	0,343

Post-op 20.gün kontrol ve deney grubundaki Lane-Sandhu skoru medyanı 5 olarak bulunmuştur (p=0,343). 20.günde kontrol ile deney grubu karşılaştırıldığında bir fark bulunamamıştır (Tablo 13).

Tablo 14: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25th,75th) değerleri (30. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Lane-Sandhu skoru	7 (6,25-7,75)	8 (5,75-8,00)	0,486

Post-op 30.gün kontrol grubundaki Lane-Sandhu skoru medyanı 7 iken deney grubunda 8 olarak bulunmuştur (p=0,486). 30.günde kontrol grubu ile

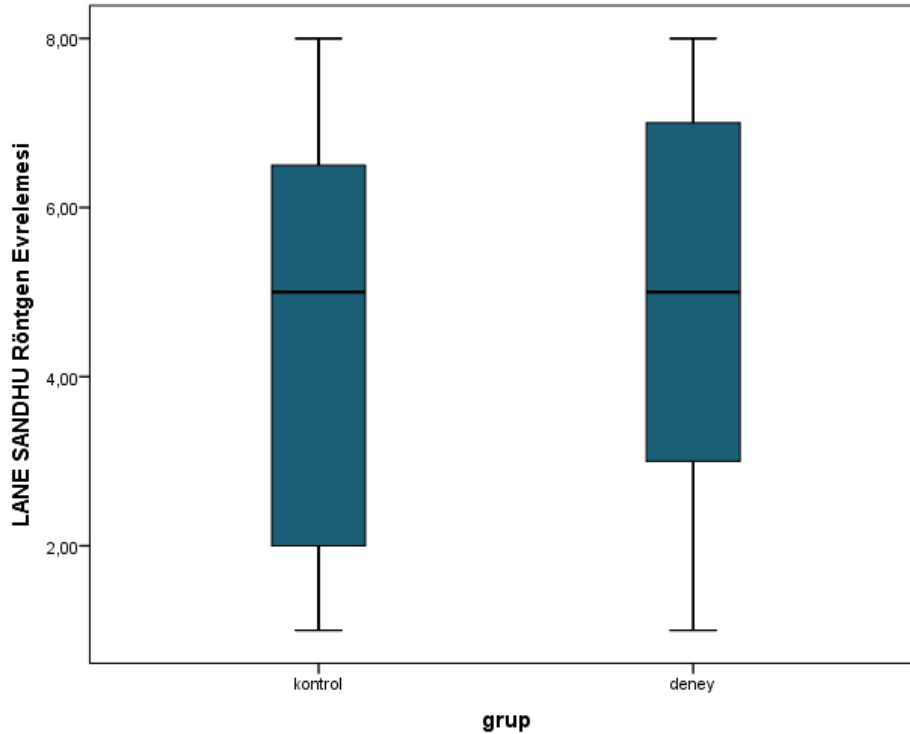
karşılaştırıldığında deney grubunda Lane-Sandhu skorunun daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 14).

Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 15: Grupların Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyan (25th,75th) değerleri

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
Lane-Sandhu skoru	5,00 (2-6,75)	5,00 (3-7,5)	0,630

Post-op gün bağımsız kontrol grubu Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyanı 5,00 ve deney grubu Lane-Sandhu röntgen skorlaması medyanı 5,00 olarak bulunmuştur (Tablo 15). Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p=0,630) (Grafik 4).



Grafik 4: Kontrol ve deney gruplarının Lane-Sandhu Röntgen evreleme ortalaması grafiği

4.2 Biyokimya

Post-op 10., 20. ve 30.günde sakrifiye edilen deney ve kontrol gruplarındaki ratlardan alınan kan örneklerinde ALP, Osteokalsin ve IGF analizleri yapılmıştır (Tablo 16,17,18).

Tablo 16: Post op 10.günde sakrifiye edilen kontrol grubu ile deney grubu biyokimya değerleri

Rat	ALP	Osteokalsin	IGF
D-1	43,3	8,3	71,2
D-2	43,9	7,6	73,5
D-3	39,6	8,0	107,4
D-4	50,7	7,2	80,2
K-1	32,9	8,0	81,4
K-2	50,0	8,9	74,3
K-3	41,7	8,1	75,7
K-4	42,6	8,4	76,6

Tablo 17: Post op 20.günde sakrifiye edilen kontrol grubu ile deney grubu biyokimya değerleri

Rat	ALP	Osteokalsin	IGF
D-5	33,6	7,6	71,3
D-6	33,8	8,2	68,6
D-7	43,1	7,8	72,6
D-8	44,5	7,2	73,3
K-5	41,1	7,7	85,4
K-6	40,6	7,7	107,5
K-7	33,1	8,2	68,8
K-8	32,6	8,4	77,5

Tablo 18: Post op 30.günde sakrifiye edilen kontrol grubu ile deney grubu biyokimya değerleri

Rat	ALP	Osteokalsin	IGF
D-9	45,4	7,0	68,3
D-10	48,1	7,2	139,8
D-11	34,0	8,2	64,7
D-12	43,4	7,9	91,0
K-9	49,7	7,7	82,6
K-10	43,0	8,0	95,0
K-11	45,4	9,3	150,5
K-12	32,5	8,0	59,1

Tablo 19: Grupların biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25th,75th) değerleri (10. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
ALP	42,15 (35,10-48,15)	43,60 (40,53-49,0)	0,468
Osteokalsin	8,25 (8,03-8,78)	7,80 (7,30-8,23)	0,114
IGF	76,15 (74,65-80,20)	76,85 (71,78-100,60)	0,886

Post-op 10.gün kontrol grubundaki ALP medyanı 42,15 iken deney grubunda 43,60 olarak bulunmuştur ($p=0,468$). 10.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla miktarda ALP saptanmıştır.

Post-op 10.gün kontrol grubundaki Osteokalsin medyanı 8,25 iken deney grubunda 7,80 olarak bulunmuştur ($p=0,114$). 10.günde deney grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha fazla oranla Osteokalsin saptanmıştır.

Post-op 10.gün kontrol grubundaki IGF medyanı 76,15 iken deney grubunda 76,85 olarak bulunmuştur ($p=0,886$). 10.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla oranla IGF saptanmıştır (Tablo 19).

Tablo 20: Grupların biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25th,75th) değerleri (20. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
ALP	36,85 (32,73-40,98)	38,45 (33,65-44,15)	0,343
Osteokalsin	7,95 (7,70-8,35)	7,70 (7,30-8,10)	0,343
IGF	81,45 (70,98-101,98)	71,95 (69,28-73,13)	0,200

Post-op 20.gün kontrol grubundaki ALP medyanı 36,85 iken deney grubunda 38,45 olarak bulunmuştur ($p=0,343$). 20.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla miktarda ALP saptanmıştır.

Post-op 20.gün kontrol grubundaki Osteokalsin medyanı 7,95 iken deney grubunda 7,70 olarak bulunmuştur ($p=0,343$). 20.günde deney grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha fazla oranla Osteokalsin saptanmıştır.

Post-op 20.gün kontrol grubundaki IGF medyanı 81,45 iken deney grubunda 71,95 olarak bulunmuştur ($p=0,200$). 20.günde deney grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha fazla oranla IGF saptanmıştır (Tablo 20).

Tablo 21: Grupların biyokimyasal ölçümlerinin medyan (25th,75th) değerleri (30. Gün)

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
ALP	44,20 (35,13-48,63)	44,40 (36,35-47,43)	>0,999
Osteokalsin	8,00 (7,78-8,98)	7,55 (7,20-8,13)	0,343
IGF	88,80 (64,98-136,63)	79,65 (65,60-127,60)	0,886

Post-op 30.gün kontrol grubundaki ALP medyanı 44,20 iken deney grubunda 44,40 olarak bulunmuştur ($p>0,999$). 30.günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda daha fazla miktarda ALP saptanmıştır.

Post-op 30.gün kontrol grubundaki Osteokalsin medyanı 8,00 iken deney grubunda 7,55 olarak bulunmuştur ($p=0,343$). 30.günde deney grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha fazla oranla Osteokalsin saptanmıştır.

Post-op 30.gün kontrol grubundaki IGF medyanı 88,80 iken deney grubunda 79,65 olarak bulunmuştur ($p=0,886$). 30.günde deney grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha fazla oranla IGF saptanmıştır (Tablo 21).

Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

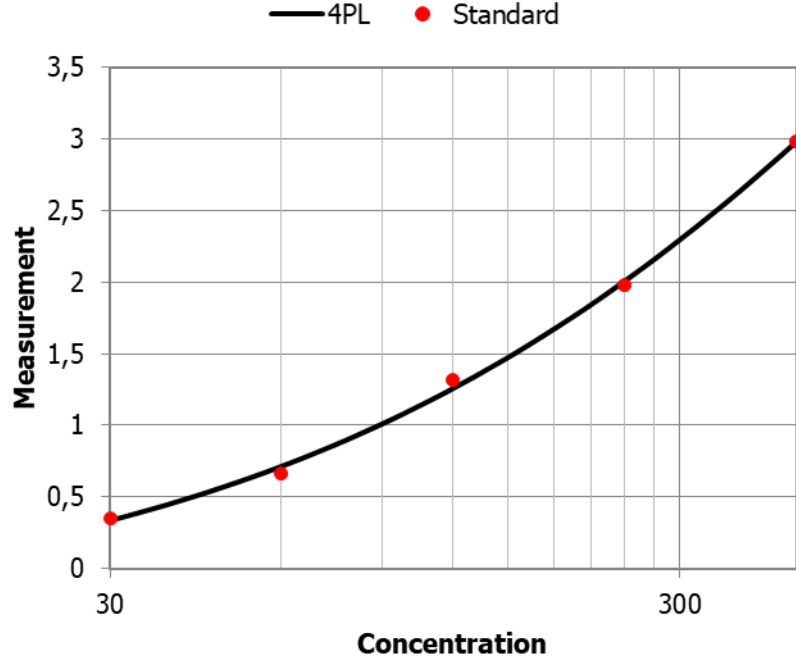
**Tablo 22: Grupların post-op gün bağımsız biyokimyasal ölçümlerinin
medyan (25th,75th) ortalama değerleri**

	Kontrol Medyan (25th-75th)	Deney Medyan (25th-75th)	p
ALP	41,40(32,95-44,80)	43,35(35,40-45,17)	0,242
Osteokalsin	8,05(7,78-8,40)	7,70(7,20-8,15)	0,024
IGF	79,45(74,65-92,60)	72,95(69,25-88,30)	0,198

Post-op günden bağımsız olarak kontrol grubundaki ALP medyanı 41,40 iken deney grubunda 43,35 ($p=0,242$), kontrol grubundaki IGF medyanı 79,45 iken deney grubunda 72,95 olarak bulunmuştur($p=0,886$) (Tablo 22) (Grafik 6,8).

Bu grupların medyanları arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Kontrol grubunda Osteokalsin medyanı 8,05 iken deney grubunda Osteokalsin medyanı 7,70 olarak bulunmuştur. Deney grubundaki osteokalsin medyanı kontrole göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0,024$) (Grafik 10).

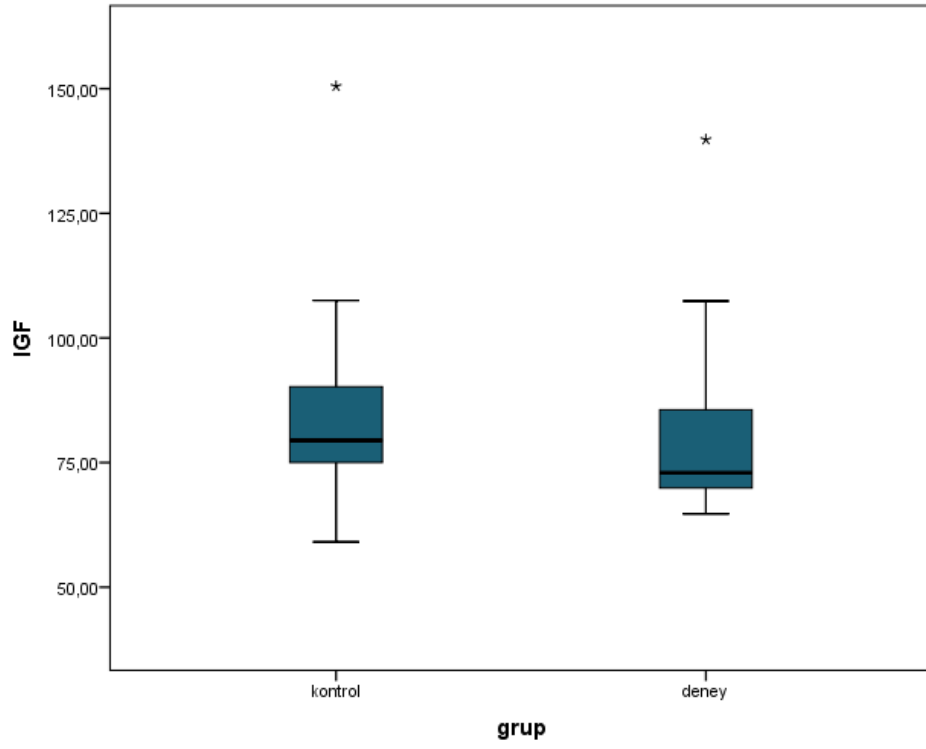


Grafik 5: IGF-1 düzeyi ölçümünde X eksen Standartların konsantrasyonu, Y eksen Absorbans değerleri

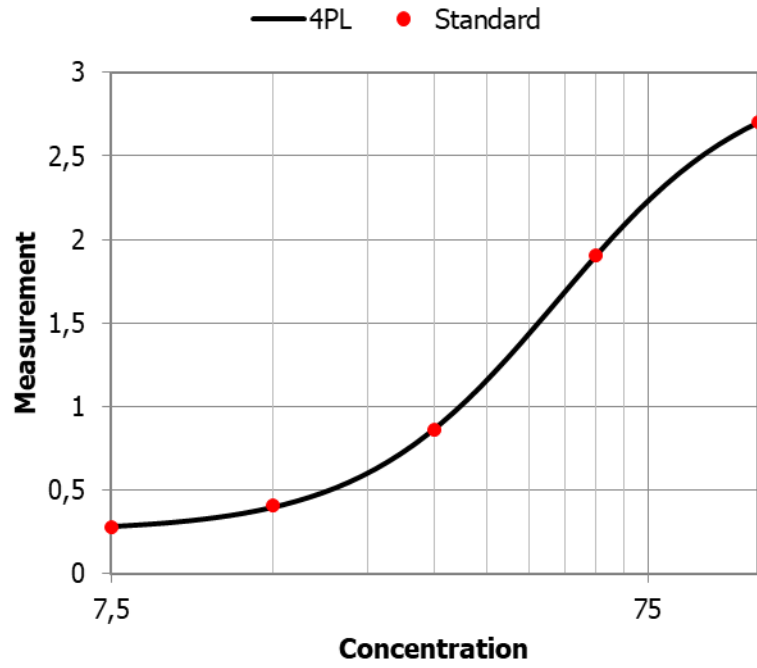
a	-0,3989
b	0,6518
c	1870
d	11,18
MSE	0,001332
R ²	0,9985
SS	0,00666
SYX	0,08161

	Calibrator	Conc.	Well	Raw	Backfit	Recovery %
●	Standard1	30	A1	0,353	31,19	104
●	Standard2	60	B1	0,663	55,43	92,38
●	Standard3	120	C1	1,31	127,2	106
●	Standard4	240	D1	1,98	234,9	97,86
●	Standard5	480	E1	2,99	481,6	100,3

Tablo 23,24: IGF-1 biyokimyasal ölçüm standardizasyon tabloları



Grafik 6: Kontrol ve deney gruplarının IGF ölçümleri ortalaması grafiği

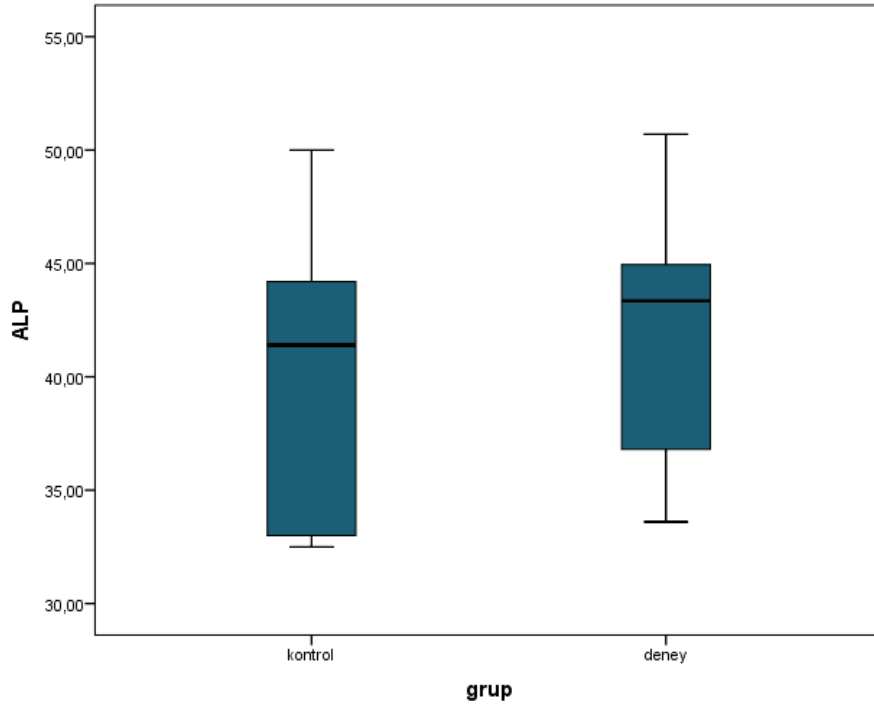


Grafik 7: ALP düzeyi ölçümünde X eksen Standartların konsantrasyonu, Y eksen Absorbans değerleri

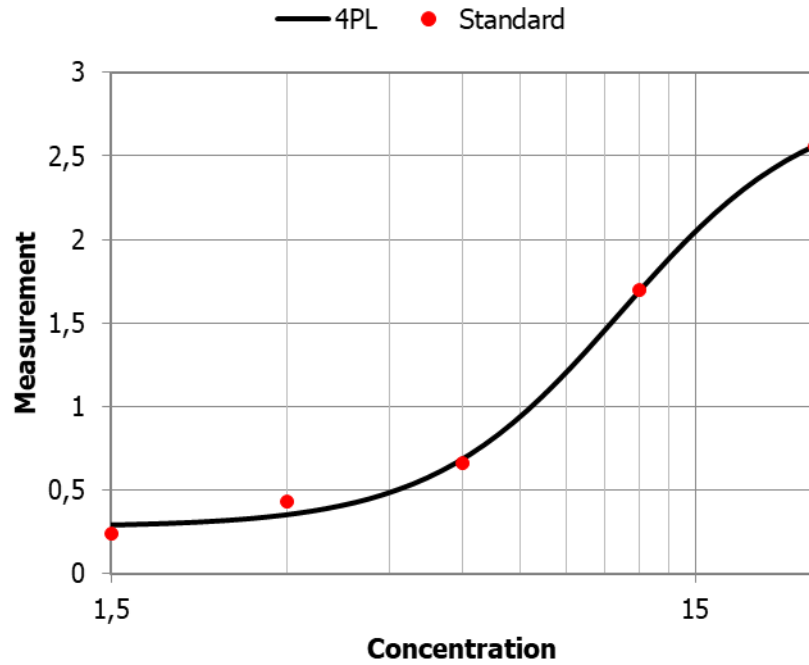
a	0,2527
b	2,383
c	50,75
d	3,015
MSE	0,00002326
R ²	1
SS	0,0001163
SYX	0,01078

	Calibrator	Well	Conc.	Raw	Backfit	Recovery %
●	Standard1	A1	7,5	0,276	6,874	91,65
●	Standard2	B1	15	0,404	15,38	102,5
●	Standard3	C1	30	0,862	29,89	99,64
●	Standard4	D1	60	1,91	60,06	100,1
●	Standard5	E1	120	2,7	119,9	99,92

Tablo 25,26: ALP biyokimyasal ölçüm standardizasyon tabloları



Grafik 8: Kontrol ve deney gruplarının ALP ölçümleri ortalaması grafiği

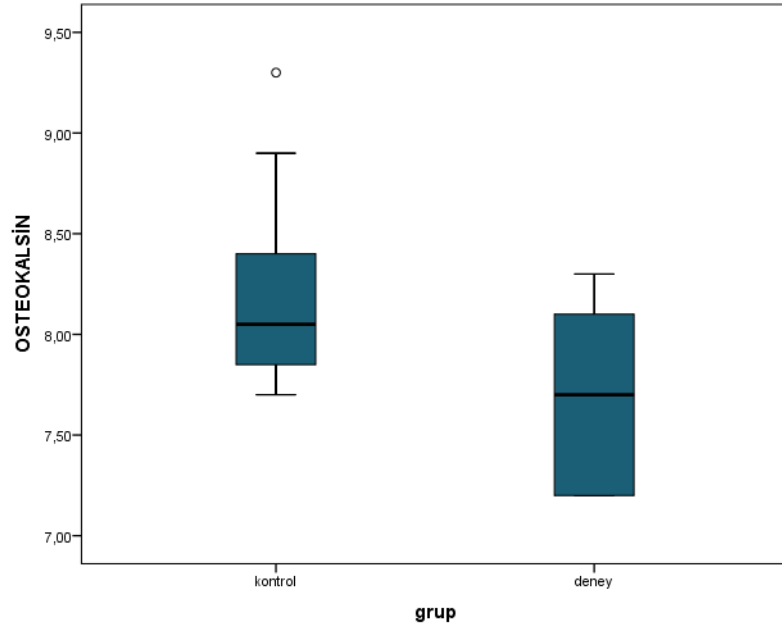


Grafik 9: Osteokalsin düzeyi ölçümünde X eksen Standartların konsantrasyonu, Y eksen Absorbans değerleri

a	0,2786
b	2,681
c	11,18
d	2,857
MSE	0,001956
R ²	0,9975
SS	0,009778
SYX	0,09889

	Calibrator	Conc.	Well	Raw	Backfit	Recovery %
●	Standard1	1,5	A1	0,236	< Curve	-
●	Standard2	3	B1	0,429	3,963	132,1
●	Standard3	6	C1	0,659	5,814	96,9
●	Standard4	12	D1	1,7	12,06	100,5
●	Standard5	24	E1	2,56	23,92	99,65

Tablo 27,28: Osteokalsin biyokimyasal ölçüm standardizasyon tabloları



Grafik 10: Kontrol ve deney gruplarının Osteokalsin ölçümleri ortalaması grafiği

4.3 Histoloji

Kontrol grubu 10.gün ratında 1 adet lokal inflamasyon ve 30.gün ratlarında 1 adet non-union, 1 kaynama gecikmesi saptanmıştır. Deney grubundaki 20.gün ratında 1 adet lokal inflamasyon bulgusu belirlenmiştir.

Hem deney hem kontrol grubunda ratlarda deney sürecinde ölüm olmamıştır.

Tablo 29: Post op 10.gündeki 1. Kontrol grubu ile 1. Deney grubu histolojik Huo skorlaması

Rat	Huo skorlaması
D-1	1
D-2	2
D-3	3
D-4	2
K-1	2
K-2	4
K-3	2
K-4	1

Post-op 10.gün ratlarının Huo skorlamasında, deney grubunda 1 adet 1 puan, 2 adet 2 puan ve 1 adet 3 puan bulunmaktadır. Kontrol gruplarında ise 1 adet 1 puan, 2 adet 2 puan ve 1 adet 4 puan bulunmaktadır (Tablo 29).

Tablo 30: Post op 20.gündeki 2. Kontrol grubu ile 2. Deney grubu histolojik Huo skorlaması

Rat	Huo skorlaması
D-5	3
D-6	5
D-7	5
D-8	6
K-5	5
K-6	5
K-7	5
K-8	4

Post-op 20.gün ratlarının Huo skorlamasında, deney grubunda 1 adet 3 puan, 2 adet 5 puan ve 1 adet 6 puan bulunmaktadır. Kontrol gruplarında ise 1 adet 4 puan ve 3 adet 5 puan bulunmaktadır (Tablo 30).

Tablo 31: Post op 30.gündeki 3. Kontrol grubu ile 3. Deney grubu histolojik Huo skorlaması

Rat	Huo skorlaması
D-9	9
D-10	9
D-11	10
D-12	8
K-9	10
K-10	9
K-11	8
K-12	8

Post-op 30.gün ratlarının Huo skorlamasında, deney grubunda 1 adet 8 puan, 2 adet 9 puan ve 1 adet 10 puan bulunmaktadır. Kontrol gruplarında ise 2 adet 8 puan, 1adet 9 puan ve 1 adet 10 puan bulunmaktadır (Tablo 31).

Tablo 32: Grupların Huo skorlaması karşılaştırılması (10. Gün)

	Alınan skorlar	Kontrol n (%)	Deney n (%)	p
Huo skoru	1	1 (25,0)	1 (25,0)	0,428
	2	2 (50,0)	2 (50,0)	
	3	0 (0,0)	1 (25,0)	
	4	1 (25,0)	0 (0,0)	

10.gün kontrol grubunda Huo skoru ortalaması yüksek olmasına rağmen bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Tablo 32).

Tablo 33: Grupların Huo skorlarının karşılaştırılması (20. Gün)

	Alınan skorlar	Kontrol n (%)	Deney n (%)	p
Huo skoru	3	0 (0,0)	1 (25,0)	0,225
	4	1 (25,0)	0 (0,0)	
	5	3 (75,0)	2 (50,0)	
	6	0 (0,0)	1 (25,0)	

20.gün kontrol grubunda Huo skoru ortalaması arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 33).

Tablo 34: Grupların Huo skorlarının karşılaştırılması (30. Gün)

	Alınan skorlar	Kontrol n (%)	Deney n (%)	p
Huo skoru	8	2 (50,0)	1 (25,0)	0,712
	9	1 (25,0)	2 (50,0)	
	10	1 (25,0)	1 (25,0)	

30.gün deney grubunda Huo skoru ortalaması kontrol grubuna oranla daha yüksek olmasına rağmen bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Tablo 34).

4.4. Makroskopik değerlendirme

Makroskopik değerlendirmede deney gruplarındaki kallus dokusunun görece kontrol grubuna göre daha hacimli olduğu görülmüştür. Femurlar çevre yumuşak dokudan temizlenip ortaya çıkarıldığında plak vida sistemi ve kallus formasyonları görüldü. Kontrol grubundaki 10.gün ratında 1 adet lokal inflamasyon (Resim 23) ve 30.gün ratında 1 adet non-union, 1 kaynama gecikmesi saptanmıştır. Deney grubundaki 20.gün ratında ise 1 adet lokal inflamasyon bulgusu belirlenmiştir.



Resim 23: Kontrol ve deney grubundan sakrifiye edilmiş deneklerin 10., 20. ve 30. günlerde sağ femurların makroskopik görüntüsü

(a: 10.gün kontrol grubu(lokal inflamasyon görülmektedir), b: 20.gün kontrol grubu, c: 30.gün kontrol grubu, d: 10.gün deney grubu, e: 20.gün deney grubu, f: 30.gün deney grubu)

5. TARTIŞMA

Günümüzde ortopedik cerrahi ve diğer çoğu cerrahi branşta implant kaplama teknolojileri sıklıkla kullanılmakta, her gün gelişmekte ve yeni methodlar denenmektedir. Kırık iyileşmesinde de bulunabilecek her yeni yöntem literatüre katkı sağlayacaktır. Çalışmamızda deney grubunda kontrol grubuna oranla artmış kallus dokusu, düşük osteokalsin ve IGF düzeyleri, görece yüksek ALP düzeyleri saptanmıştır. Kontrol grubu 10.gün ratında 1 adet lokal inflamasyon ve 30.gün ratlarında 1 adet non-union, 1 kaynama gecikmesi saptanmıştır. Deney grubundaki 20.gün ratında 1 adet lokal inflamasyon bulgusu belirlenmiştir. Hem deney hem kontrol grubunda ratlarda deney sürecinde ölüm olmamıştır.

Raphel ve ark.'larının yaptığı yeniden inceleme yazısında (12) implant başarısızlıklarının son dönemde yüksek bir artış gösterdiğini ve en önemli iki sebebin, aseptik gevşeme ve enfeksiyon olduğunu ifade etmiştir. İdeal ortopedik implant kaplaması muhtemelen hem mikrobiyal enfeksiyonu engellerken aynı zamanda osseointegrasyonu teşvik etmek için farklı teknolojileri birleştiren çok işlevli bir kaplama olacağını belirtmiştir. Bu doğrultuda implantlarımızdaki kaplama yöntemi tek bir bileşikten oluşmayıp kompozit bir yapıdadır ve tüm deney grubunda lokal inflamasyon harici enfeksiyon ile ilgili bir bulgu saptanmamıştır.

Plak kaplaması olarak kullanılan bileşikler ile ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur. Bunlardan biri, Türkiye'den Uysal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (96) diyetle bor desteğinin kemik mineralizasyonunda, osteoblast sayısında artış ve fibrozis miktarında azalma meydana getirdiğini raporlamıştır. Ying ve ark.'larının in vitro çalışması (97) bor'un insan kemik iliği stromal hücrelerinin osteojenik farklılaşması üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. 10 ve 100 ng/ml B tedavi gruplarında kontrol grubuna göre ALP, Tip-1 kollajen ve kemik morfogenetik proteini-7 (BMP-7) haberci RNA ekspresyonunun da arttığını tespit etmişlerdir ve bor'un insan kemik iliği stromal hücrelerinde proliferasyon ve farklılaşma fazı sırasında osteojenik farklılaşmaya bağlı işaretleyici gen sentezini uyararak osteojenik etkiyi arttırabildiğini ve hücre bazlı yapının osteojenik kapasitesini arttırmak için umut verici bir yaklaşım olabileceği ifade edilmiştir. Kemik dokusu mühendisliğinde gelecekteki

çalışmaların, bor'un osteojenik rolünü açıklığa kavuşturmak için bu osteojenik farklılaşma ile ilişkili işaretleyici genlerin bor tarafından nasıl ve nerede modüle edildiğine odaklanması gerektiği vurgulanmıştır. Yine bor nitrür için, Shuai ve ark.'larının yaptığı çalışmada (88) bor nitrür nanotüp (BNNT)'lerin umblikal kord mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını etkili bir şekilde desteklediğini göstermiştir. Ayrıca Gorustovich ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada (98) boron-zenginleştirilmiş 45S5 BG partiküllerin kemik doku rejenerasyonunu 45S5 camdan daha fazla arttırdığını histolojik, histomorfolojik ve biyokimyasal (Ca:P oranı 45S5 BG'de görece yüksek) olarak saptamışlardır. Bu çalışmalarla paralel olarak çalışmamızda bor nitrür ve borik asit kompoziti içeren deney grubunda, mikro-ct'de yeni kemik oranının daha fazla olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada, bor nitrür seçmemizin bir diğer nedeni de mekanik dayanıklılık oluşturmaktır. Lahiri ve ark.'larının 2010 yılında yaptığı hücre kültürü çalışmasında (99) ise bor nitrür nanotüp (BNNT) takviyeli hidroksiapatit (HA) kaplamalı ortopedik implantları değerlendirilmiştir. Çalışmada BNNT'yi HA'nin mekanik ve tribolojik özelliklerini iyileştirme açısından potansiyel bir takviye olarak değerlendirmiştir. HA-BNNT kompozitinin elastik modulünde %120'lik önemli bir artış elde edilmiştir. BNNT, kompozit yapının sertliğinin (%129) ve kırılma tokluğunun (%86) eş zamanlı olarak artmasına yardımcı olur. Matrsten yüksek BNNT çekilme enerjisi, kırılma dayanıklılığının artırılmasına yardımcı olur. HA-BNNT'nin aşınma direncindeki %75'lik artış, elastik modül, sertlik ve kırılma tokluğundaki iyileşmeye bağlanmıştır. HA'da BNNT'lerin varlığı, osteoblast proliferasyonunu ve canlılığını olumsuz yönde etkilememiştir. Xu ve ark.'larının 2012 yılında yaptığı çalışmada (60) zirkonia (ZrO_2) seramiklerini bor nitrür nanotüpleriyle güçlendirilmesini incelemiştir. BNNT'lerin ZrO_2 seramiklerine dahil edilmesinin bükülme mukavemeti, kırılma dayanıklılığı ve yoğunluk üzerinde büyük etkisi vardır. Ağırlıkça %1,0 BNNT eklenmesi bükülme mukavemetini ve kırılma dayanıklılığını sırasıyla %27,7 ve %65,4 oranında arttırdığı gözlemlenmiştir. Böylece bor nitrür'ün, kompozitlerin mekanik özelliklerini arttırdığı saptanmıştır. Bir diğer mekanik dayanıklılık örneği çalışmayı Shuai ve ark.'ları gerçekleştirmiştir (88). Bu çalışma,

BNNT'lerin trikalsiyum fosfat(TCP) yapı iskelelerinde takviye maddesi olarak potansiyelini göstermektedir. TCP4BNNT'nin elastik modülü, sertliği, kırılma dayanıklılığı ve basınç dayanımı sırasıyla %46, %39, %35 ve %109 oranında artırıldı. BNNT'lere yük aktarımında faydalı olduğu bulundu ve bu mekanizmalar, gelişmiş mekanik özelliklere yol açtı. Üstelik bu çalışma, BNNT katkılı -TCP iskelelerinin Umblikal kord mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını etkili bir şekilde desteklediğini gösteren ilk çalışmadır; bu da kemik iskelelerinin iyi bir osteoindüktiviteye sahip olduğunu gösterir. Özetle, BNNT, biyoseramik iskelelerin yalnızca mekanik özelliklerini güçlendirmekle kalmayıp aynı zamanda osteoindüktivitesini de geliştirerek kemik dokusu mühendisliği için umut verici bir biyomateryal olabileceğini göstermiştir. Bu durum, plaklarımızda bor nitrür kaplama seçiminizin mekanik avantajlarını göstermektedir.

Ferreira ve ark.'larının yaptığı çalışmada (59) BNNT'ler glukozamin, polietilen glikol ve kitozan gibi organik hidrofilik ajanlar ile sentez edilmiştir. Boyut, dağılım ve homojeniteler foton korelasyon spektroskopisi ile, yüzey yükleri ise lazer doppler anemometrisi ile saptanmıştır. In vitro olarak yapılan çalışma göstermiştir ki, glukozamin, polietilen glikol ve kitozan gibi ajanlar BNNT bulunan yüzeylere daha iyi yapışmaktadır. Ayrıca BNNT'ün MCR-5 (akciğer dokusundan geliştirilmiş diploid hücre kültür hattı) hücrelerine karşı in vitro sitouyumlulukta 50 µg/ml'ye kadar normal hücrelerin çoğalmasını bozmadığı ortaya çıkmıştır ve böylece BNNT'lerin tedavi amaçlı güvenli bir potansiyel taşıyıcı sistem olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmamızda da bor nitrür ile borik asiti kompozit olarak kullanma sebebimiz, bor nitrür'ün potansiyel taşıyıcı sistem özelliğindendir.

Atila ve ark.'larının 2016 yılında yaptığı çalışmada ise (86) hegzagonal bor nitrür ve hidroksiapatit karışımı incelenmiştir. Bor nitrür ve hidroksiapatit farklı oranlarda karıştırılarak oluşturulan kompozitlerin denendiği 5 deney grubu ve 1 kontrol grubu ile kıyaslama yapılmıştır. hBN-HA kompozitinin ne kısa süreli ne de uzun süreli implantasyonunun serum bor düzeylerinde artışa yol açmadığını gösterilmiştir. Ayrıca kompozitli materyaldeki hBN konsantrasyonunun artırılması serum bor düzeylerinde bir farklılığa neden olmamıştır.

Çalışmamızda da takipler boyunca deney grubunda bir ölüm olmaması bor nitrür'ün güvenilirliğini desteklemektedir.

Özmeriç ve ark.'larının yaptığı çalışmada (100) ratlardaki femur kırıklarına yönelik 3 grupta intramedüller çivi uygulanmıştır. Kaplaması bulunmayan, hegzagonal bor nitrür kaplı ve kübik bor nitrür kaplı çiviler kullanılmıştır ve gruplar 28.günde total olarak değerlendirilmiştir. Kırık tedavisinde tek yöntemin intramedüller çivi olmadığı göz önünde bulundurulursa plak vida uygulamasının da değerlendirilmesi gerektiği kanaatindeyiz. Eklemek gerekirse bahsedilen çalışmadan farklı olarak, çalışmamızdaki deney grubunda plak yüzeylerindeki kaplama sadece hegzagonal bor nitrür değil, belirli oranlarda bor nitrür ve borik asit kompoziti ile kaplı plak kullanılmıştır. Ayrıca çalışmamız bahsi geçen çalışmadan farklı olarak, kontrol ve deney gruplarını 10., 20. ve 30. günlerde ayrı ayrı biyokimyasal, histolojik ve radyolojik değerlendirmeye tabi tutarak kırık iyileşmesinin farklı zamanlarındaki aktüel değerleri göz önüne koymuştur ve kırık iyileşmesine daha yakın bir takip ve inceleme fırsatı getirmiştir. Bu vesile ile çalışmamıza benzer bir çalışma literatürde bulunmamıştır. Ayrıca radyolojik yöntem olarak direkt grafler de kullanılarak çalışmamız konvansiyonel yöntemleri de kapsamıştır.

Bor nitrür ve kırık iyileşmesi ilişkisinin, radyolojik yöntemlerinden biri olan mikro-CT ile incelenmesinde de sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Özmeriç ve ark.'larının yaptığı çalışmada (100) mikro-CT ile değerlendirme yapılmış ve kübik bor nitrür'ü üstün bulmuştur ancak çalışmamızda deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Bor nitrür'ün biyokimyasal olarak serum ALP düzeyleri üzerine olan etkisinin incelendiği yayın sayısı da sınırlıdır. ALP, biyomineralizasyon sürecinde önemli bir enzimdir ve osteogeneziste erken dönem belirteçidir. Bu enzim, ATP hidrolizi ile üretilen hücre dışı inorganik pirofosfatı hidrolize edebilir. Bu hidroliz, lokal inorganik fosfat konsantrasyonunda bir artışa neden olur. Bu artış, kemik mineralizasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (33). Ayrıca ALP seviyelerindeki dalgalanma genellikle karaciğer fonksiyon bozukluğu, kemik hastalığı, tıkanma sarılığı, kalp yetmezliği ve kanser gibi

çeşitli fizyolojik hastalıklarla ilişkilidir. Özmeriç ve ark.'ları bor nitrür'ün ALP düzeylerinde artış meydana getirdiğini ifade etmiştir (100). Çalışmamızda da buna paralel olarak post-op 10.gün kontrol grubundaki ALP medyanı 42,15 iken deney grubunda 43,60, post-op 20.gün kontrol grubundaki ALP medyanı 36,85 iken deney grubunda 38,45, post-op 30.gün kontrol grubundaki ALP medyanı 44,20 iken deney grubunda 44,40 olarak bulunmuştur.

Bor nitrür'ün moleküler düzeyde serum osteokalsin düzeylerine üzerine olan etkisinin incelendiği sınırlı sayıda yayın vardır. Osteokalsin, bir geç dönem osteoblast farklılaşmasını gösteren belirteçtir (37). Shuai ve ark.'ları(88) kırık sonrası osteokalsinin en yüksek düzeyine 14.günde ulaştığını ve sonrasında düştüğünü belirtmişlerdir. Bundan dolayı, çalışmamızda kan serumları kontrol ve deney gruplarında kırık sonrası 10., 20. ve 30. günlerde değerlendirilerek çalışmamızı korelasyonu daha yüksek bir çalışma yapmaktadır. Çalışmamızda özellikle 30.gün kontrol ve deney grupları kıyaslandığında deney gruplarında osteokalsin düzeylerinin görece düşük olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda Osteokalsin medyanı 8,05 iken deney grubunda Osteokalsin medyanı 7,70 olarak bulunmuştur. Deney grubundaki osteokalsin medyanı kontrole göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0,024$).

Zhang ve ark.'larının yaptığı fare deneyi çalışmalarında (40) IGF'nin biyokimyasal olarak Akt(Protein Kinaz B) ve ERK(ekstracelluler-signal-regulated kinase) sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla osteoblastlarda ve kemik gelişiminde anabolik ajanlar olduğu gösterilmiştir. Bundan dolayı çalışmamız her iki grupta üç farklı zamanda IGF değerlerini de değerlendirmiştir. Bor nitrür'ün IGF üzerine olan etkisini inceleyen bir yayına ise rastlanmamıştır. Post-op 10.gün kontrol grubundaki IGF medyanı 76,15 iken deney grubunda 76,85 olarak bulunmuştur ($p=0,886$). Post-op 20.gün kontrol grubundaki IGF medyanı 81,45 iken deney grubunda 71,95 olarak bulunmuştur ($p=0,200$). Post-op 30.gün kontrol grubundaki IGF medyanı 88,80 iken deney grubunda 79,65 olarak bulunmuştur ($p=0,886$).

Xie ve ark.'larının deney hayvanları üzerinde yaptığı çalışmada (101) parçalanabilir ve biyoaktif borat camının etkinliği, vankomisin taşıyıcısı olarak

tavşanlarda osteomyelit tedavisinde klinik olarak kullanılan kalsiyum sülfatla karşılaştırılmıştır. Tavşanlar 4 tedavi grubuna ayrılmıştır. 1.grup sadece debritleme, 2.grup debritleme ve saf borat camı (BG) implantasyonu, 3.grup tedavisinde debritleme ve vankomisin yüklü kalsiyum sülfat (VCS) boncuklarının implantasyonu ve 4.grupta debritleme sonrası vankomisin yüklü borat camı (VBG) topları implante edilmiştir. 8 hafta sonra tedavinin etkinliği radyografik, bakteriyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Sonuçlar, tavşanlarda MRSA incelemesinin negatif oranlarının grup 1 ile 4 için sırasıyla %36,36, %18,18, %73,33 ve %81,25 olduğunu gösterdi ve tedavinin en iyi sonucu grup 4'de görüldü. VBG'nin mükemmel biyouyumluluğa sahip olduğu ve osteomyeliti ortadan kaldırmada ve aynı zamanda kemik yenilenmesini uyarmada çok etkili olduğu ve VCS'nin dezavantajlarını ortadan kaldırdığı kanıtlandı.

Durusoy'un yaptığı çalışmada (103) ise ibandronat'ın metal implantlar üzerinde osteointegrasyona belirgin olumlu etki yaptığı gösterilmiştir.

Kırık iyileşmesinin etkilerini sadece implant veya kaplama methodları ile değil, başka yollarla da arttırmak mümkündür. Olçar'ın yaptığı çalışmada (104) non-union alanına kök hücre tedavisinin radyolojik ve histolojik incelemeler sonucunda olumlu olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın, deney hayvanı olması ve etik kaygı nedeniyle gruplardaki denek sayılarının düşük olması sonucu çalışmanın istatistiksel gücünü düşürmesi, plak vida uygulamasında cerrahi alanın sınırlı olduğundan cerrahi beceri gerektirmesi ve 30.güne kadar aktüel takiplerin yapılmasına rağmen uzun dönem sonuçlarının bilinmemesi nedeniyle kısıtlılıkları mevcuttur. Gelecekte daha çok sayıda denek örneği ile daha uzun süre takip edilebilecek şartlarda ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bor nitrür ve borik asit kompozitinin kırık kaynaması üzerindeki etkisini değerlendirmeye amaçladığımız çalışmamızda; kontrol ve deney grupları kırığın tedavisini takiben post-op 10., 20. ve 30.günlerde biyokimyasal, histolojik ve radyolojik değerlendirmelere tabi tutuldu. Deney gruplarında kontrol grubuna oranla ALP düzeyi ve Mikro-CT yeni kortikal kemik oranının (%) daha fazla olduğu, osteokalsin ve IGF düzeylerinin daha düşük olduğu izlendi ve röntgen evrelemesinde eşit medyan değerler saptandı ancak belirteçlerin medyan değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı saptandı. Post-op gün bağımsız olarak Osteokalsin medyan ortalamalarında deney grubunda anlamlı olarak daha düşük düzeyler saptandı ($p=0,024$). Osteokalsin kırık iyileşmesinin osteoblastlarda mineral birikimini başlatan geç dönem bir osteoblastik diferansiyasyon belirteci olduğundan (37) yeni bor nitrür-borik asit kompozitli plağın kırık iyileşmesini hızlandırdığı düşünülebilir.

Bor nitrür ve borik asit'in ayrı ayrı osteoblast ve kemik iyileşmesi üzerine pozitif etkileri literatürde kanıtlanmış bir gerçektir. Çalışmamızdaki mikro-ct taramalarında ölçülen yeni kortikal kemik oranındaki (%) yükseklik bunu destekler niteliktedir. Çalışmamızın gösterdikleriyle bor nitrür ve borik asit kompoziti ile kaplı plakların ortopedi dünyasında implantlara yeni bir kaplama çeşidi olarak düşünülmesi gerektiği kanaatindeyiz.

7. ÖZET

Amaç: Bor nitrür ve borik asit kaplı kompozitlerin kırık iyileşmesi üzerindeki etkisini incelenmesidir.

Materyal ve Method: Çalışmamızda, 24 Wistar albino rat 3 kontrol grubu ve 3 deney grubu olmak üzere 6 gruba randomize olarak gruplara dağıtıldı. Kontrol grubundaki kırıklar, klasik titanyum plak vida sistemi ile deney grubundaki kırıklar ise, bor nitrür-borik asit kompoziti ile kaplı plak vida sistemi ile tedavi edildi. Post-op 10., 20., ve 30. günlerde intrakardiyak kan alımları ile sakrifikasyon yapılarak röntgen, biyokimya, mikro-CT ve histolojik değerlendirmeler yapıldı.

Bulgular: Deney gruplarında kontrol grubuna oranla alkalen fosfataz düzeyi ve Mikro-CT yeni kortikal kemik oranında (%) daha fazla olduğu, osteokalsin ve İnsülin benzeri büyüme faktörü düzeylerinin daha düşük olduğu izlendi ve röntgen evrelemesinde eşit medyan değerler saptandı ancak belirteçlerin medyan değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı saptandı. Post-op gün bağımsız olarak Osteokalsin medyan ortalamalarında deney grubunda daha düşük düzeyler saptandı ($p=0,024$).

Sonuç: Bor nitrür ve borik asit kompoziti ile kaplı plakların kırık iyileşmesinde pozitif etkili olduğu saptanmıştır ve bu plakların ortopedi dünyasında implantlara yeni bir kaplama çeşidi olarak düşünülmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Bor nitrür, Borik asit, kırık iyileşmesi, rat

Yozgat Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı, 66100 Merkez / Yozgat

8. ABSTRACT

Purpose: To examine the effect of boron nitride and boric acid coated composites on fracture healing.

Material and Method: In this study, 24 Wistar albino rats were randomly distributed into 6 groups: 3 control groups and 3 experimental groups. Fractures in the control group were treated with the classical titanium plate and screw system, and fractures in the experimental group were treated with the plate and screw system coated with boron nitride-boric acid composite. On the 10th, 20th and 30th post-operative days, intracardiac blood collection and sacrifice were performed, and X-ray, biochemistry, micro-CT and histological evaluations were performed.

Results: Alkaline phosphatase level and Micro-CT new cortical bone rate (%) were higher, osteocalcin and Insulin-like growth factor levels were lower in the experimental groups compared to the control group, and equal median values were detected in x-ray staging, but the median values of the markers were not statistically significant. It was found that there was no difference. Regardless of the post-operative day, lower median levels of Osteocalcin were detected in the experimental group ($p = 0.024$).

Conclusion: Plates coated with boron nitride and boric acid composite have been found to have a positive effect on fracture healing, and we believe that these plates should be considered as a new type of coating for implants in the world of orthopedics.

Key Words: Boron nitride, Boric acid, fracture healing, rat

Yozgat Bozok University Faculty of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, 66100 Center / Yozgat

9. KAYNAKLAR

1. CDC. National estimates of the ten leading causes of nonfatal injuries, Centers for Disease Control and Prevention 2004. www.cdc.gov/injury/wisqars.html 24.05. 2010
2. Court-Brown CM, Caesar B. Epidemiology of adult fractures: a review. *Injury* 2006; 37: 691–97.
3. Pike C, Birnbaum HG, Schiller M, Sharma H, Burge R, Edgell ET. Direct and indirect costs of non-vertebral fracture patients with osteoporosis in the US. *Pharmacoeconomics* 2010; 28: 395–409.
4. Global, regional, and national burden of bone fractures in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019 *Lancet Healthy Longev* 2021; 2: e580–92 Published Online August 20, 2021 [https://doi.org/10.1016/S2666-7568\(21\)00172-0](https://doi.org/10.1016/S2666-7568(21)00172-0)
5. Perren SM, Claes L. Kırık tedavisinde biyoloji ve biyomekanik. İçinde: Rüedi TP, Murphy WM, Colton CL, Dell’Oca AF, Holz U, Kellam JF, Ochsner PE, editörler (Ağuş H, çeviri ed.). *Kırık Tedavisinde AO Kuralları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006. s.7–30
6. Stiffler KS. Internal fracture fixation. *Clin Tech Small Anim Pract*. 2004 Aug;19(3):105-13. doi: 10.1053/j.ctsap.2004.09.002. PMID: 15712456.
7. Gautier E, Sommer C. Guidelines for the clinical application of the LCP. *Injury* 2003;34 Suppl 2:B63-76.
8. Rouhi, Gholamreza & Amani Hamedani, Mohsen. A brief introduction into orthopaedic implants: screws, plates, and nails (2012).
9. Postoperative infection – removal of screws and plates Mikko Ovaska, MD, Jan Linahl, MD, Tatu Mäkinen, MD, Rami Madanat, MD, Lea Pulliainen, MD, Veikko Kiljunen, MD, Eero Hirvensalo, MD, Erkki Tukiainen, MD Helsinki University Central Hospital, Finland

10. Gristina AG, Naylor PT, Myrvik QN: Mechanisms of muscu-loskeletal sepsis. *Orrthop Clin North Am.* 1991;22:363-371.
11. Sundfeldt M, Carlsson LV, Johansson CB, Thomsen P, Gretzer C. Aseptic loosening, not only a question of wear: a review of different theories. *Acta Orthop.* 2006; 77:177. [PubMed: 16752278])
12. Raphael J, Holodniy M, Goodman SB, Heilshorn SC. Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. *Biomaterials.* 2016 Apr;84:301-314. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.01.016. Epub 2016 Jan 18. PMID: 26851394; PMCID: PMC4883578.
13. Ross M. H., Pawlina W., Bone, Baykal B., *Histoloji: Konu Anlatımı ve Atlas, İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile*, 6. Baskı, Ankara, Palme Yayınevi, 2014, s. 218-237.
14. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology.* (2. Nd edition) 1997 s.132- 152
15. Brinker MR, O'Connor DP. Basic sciences. In: Miller MD, editor. *Review of orthopaedics.* 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. p. 1-132.
16. Miller JD, McCreadie BR, Alford AI, Hankenson KD, Goldstein SA. Form and function of bone. In: Einhorn TA, O'Keefe RJ, Buckwalter JA, editors. *Orthopaedic basic science. Foundations of clinical practice.* 3rd ed. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2007. p. 129-59.
17. Tunçay Ekin Ö. (2013) *Biyomimetik Yöntemle Bor Katkılı Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Kemik Doku Mühendisliğindeki Etkinliklerinin Araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. S. 4-7, Ankara.
18. Kemik dokusu. Erişim:
<http://www.akademik.adu.edu.tr/fakulte/med/webfolders/File/2012-2013EgitimOgretimRehberi/KEM%C4%B0K%20Dokusu.pptx> Erişim tarihi:19.12.2016

19. Eroschenko V. (2008) Dıfiore Histoloji Atlası Fonksiyonel ilişkileriyle (Demir R., Çev.) Baltimore, A.B.D Lippincott Williams Orijinal eserin yayın tarihi 1957
20. Chen D, Zhao M, Mundy GR (December 2004). "Bone morphogenetic proteins". Growth Factors. 22 (4): 233–41.
21. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR and Recker R: Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. J Bone Joint Surg Am. 77:, 1995. S 1256-1275
22. Junqueira LC and Carneiro J: Temel Histoloji (Çev. Aytekin Y ve Solakoğlu S). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006, s.141-159.
23. Schmitz MR, DeHart MM, Qazi Z, Shuler FD. Orthopaedic Tissues. In: Miller MD, Thompson SR, editors. Miller Review of Orthopaedics, 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. pp.1–83.
24. Kierszenbaum AL: Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Çev. Demir R). Genel Histoloji. 2. Baskı, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul Palme yayıncılık, Ankara, 2006 Eşrefoğlu M. 2016, s.118-145.
25. Yang YQ, Tan YY2, Wong R, Wenden A, Zhang LK, Rabie AB. (2012) The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Ossification. International Journal of Oral Science. 4: 64–68
26. Kemik Bilimi. Erişim: <http://acikders.ankara.edu.tr/mod/resource/view.php?id=740&redirect=1>
Erişim tarihi: 20.12.2016
27. Kemik Doku Histolojisi. Erişim :<https://www.inonu.edu.tr> Erişim tarihi: 20. 12. 2016.
28. T. W. Sadler: Medical Embryology, 12th edition, Lippincott Williams & Wilkins (2012) p.133-135.
29. Osteogenezis üzerinde etkisi olan faktörler.
(<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/gidader/article/viewFile/5000097345/5000090669>). Erişim tarihi:21.12.2016

30. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res* 2001;16(6):1004–14
31. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury* 2011;42(6):551–5.
32. Rahn, BA. Bone healing: histologic and physiologic concepts. In: Fackelman GE, editor. *Bone in Clinical Orthopedics*. Stuttgart, NY. Thieme; 2002. pp.287–326.
33. Ansari S, Ito K, Hofmann S. Alkaline Phosphatase Activity of Serum Affects Osteogenic Differentiation Cultures. *ACS Omega*. 2022 Apr 4;7(15):12724-12733. doi: 10.1021/acsomega.1c07225. PMID: 35474849; PMCID: PMC9026015.
34. Rawadi G1, Vayssi re B, Dunn F, Baron R, Roman-Roman S. BMP-2 controls alkaline phosphatase expression and osteoblast mineralization by a Wnt autocrine loop. *J Bone Miner Res* 2003;18(10):1842-53.
35. Shapiro F. Cortical bone repair. The relationship of the lacunar-canalicular system and intercellular gap junctions to the repair process. *J Bone Joint Surg Am* 1988;70(7):1067–81.
36. Kim MB, Song Y, Hwang, JK. Kirenol stimulates osteoblast differentiation through activation of the BMP and Wnt/ β -catenin signaling pathways in MC3T3-E1 cells. *Fitoterapia* 2014;98:59-65.
37. Danti S, Ciofani G, Moscato S, D’Alessandro D, Ciabatti E, Nesti C (2013) Boron nitride nanotubes and primary human osteoblasts: in vitro compatibility and biological interactions under low frequency ultrasound stimulation. *Nanotechnology* 24(46):465102
38. Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. *J Bone Miner Res* 2002;17(3):513–20.

39. Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem* 2003;88(5):873–84.
40. Zhang W, Shen X, Wan C, Zhao Q, Zhang L, Zhou Q, Deng L. Effects of insulin and insulin-like growth factor 1 on osteoblast proliferation and differentiation: differential signalling via Akt and ERK. *Cell Biochem Funct*. 2012 Jun;30(4):297-302. doi: 10.1002/cbf.2801. Epub 2012 Jan 17. PMID: 22249904.
41. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998;(355 Suppl):S7–21.
42. Lehmann W, Edgar CM, Wang K, Cho TJ, Barnes GL, Kakar S, Graves DT, Rueger JM, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) coordinately regulates the expression of specific matrix metalloproteinases (MMPS) and angiogenic factors during fracture healing. *Bone* 2005;36(2):300–10.
43. Kanczler JM, Oreffo RO. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater* 2008;15:100–14
44. Mountziaris PM, Mikos AG. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev* 2008;14(2):179–86.
45. Yu-Yahiro JA, Michael RH, Dubin NH, Fox KM, Sachs M, Hawkes WG, Hebel JR, Zimmerman SI, Shapiro J, Magaziner J. Serum and urine markers of bone metabolism during the year after hip fracture. *J Am Geriatr Soc* 2001;49(7):877–83.
46. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. *Gray's Anatomy*, 37th ed. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone; 1989. p.552.
47. DeLee JC. Fractures and dislocations of the hip. In: Rockwood CA, Green DP, Bucholz RW, et al., editors. *Fractures in Adults*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1996. p.1666–7.
48. Arıncı K., Elhan A. *Anatomi 1*. Cilt Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri, 2016

49. Aspinall V, O'Reilly M (2004). Introduction to Veterinary Anatomy and Physiology. Edinburgh, Butterworth-Heinemann.
50. LeBlanc A, Schneider V, Spector E, Evans H, Rowe R, Lane H, et al. Calcium absorption, endogenous excretion, and endocrine changes during and after long-term bed rest. *Bone* 1995; 16: 301S-304S.
51. Knox M, Fluckey JD, Bennett P, Peterson CA, Dupont-Versteegden EE. Hindlimb unloading in adult rats using an alternative tail harness design. *Aviat Space Environ Med* 2004; 75: 692-696.
52. Poitout DG. Biomechanics and Biomaterials in Orthopedics, Springer, 2004.
53. Mahyudin F, Hermawan H. Biomaterials and Medical Devices: A Perspective from an Emerging Country, Springer, 2016.
54. Chawla KK. Composite Materials: Science and Engineering, Springer Science & Business Media, 2012.
55. Güner, A. T., & Meran, C. (2020). Ortopedik implantlarda kullanılan biyomalzemeler. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 26(1), 54-67.
56. Haider A, Haider S, Han SS, Kang I-K. Recent Advances in the Synthesis, Functionalization and Biomedical Applications of Hydroxyapatite: A Review. *RSC Adv.*, 2017, 7(13):7442-7458.
57. Dunn MG, Maxian SH. Hydroxyapatite-coated orthopedic implants. *J Long Term Eff Med Implants* 1991;1:193-203.
58. TMMOB, Bor Raporu, www.kimyamuhendisi.org, 01.05.2016
59. Ferreira TH, Soares DC, Moreira LM, da Silva PR, dos Santos RG, de Sousa EM. Boron nitride nanotubes coated with organic hydrophilic agents: stability and cytocompatibility studies. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013 Dec 1;33(8):4616-23. doi: 10.1016/j.msec.2013.07.024. Epub 2013 Jul 25. PMID: 24094168.
60. Xu, J.-J., Bai, Y.-J., Wang, W.-L., Wang, S.-R., Han, F.-D., Qi, Y.-X., & Bi, J.-Q. (2012). Toughening and reinforcing zirconia ceramics by introducing

- boron nitride nanotubes. *Materials Science and Engineering: A*, 546, 301–306.
61. Fung YC. *Biomechanics: Motion, Flow, Stress, and Growth*, Springer New York, 2013.
 62. Lindsey WH, Ogle RC, Morgan RF, Cantrell RW, Sweeney TM. Nasal Reconstruction Using an Osteoconductive Collagen Gel Matrix. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 1996, 122(1):37-40
 63. Kean T, Thanou M. Biodegradation, Biodistribution and Toxicity of Chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, 62(1):3-11.
 64. Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford DS, Frondoza CG. Chitosan Supports the Expression of Extracellular Matrix Proteins in Human Osteoblasts and Chondrocytes. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000, 51(4):586-595.
 65. van Hove RP, Sierevelt IN, van Royen BJ, Nolte PA. Titanium-Nitride Coating of Orthopaedic Implants: A Review of the Literature. *Biomed Res Int*. 2015;2015:485975. doi: 10.1155/2015/485975. Epub 2015 Oct 25. PMID: 26583113; PMCID: PMC4637053.
 66. Grammaticos PC, Diamantis A (2008). "Useful known and unknown views of the father of modern medicine, Hippocrates and his teacher Democritus". *Hellenic Journal of Nuclear Medicine* 11 (1): 2–4. PMID 18392218.
 67. Harges J, von Eiff C, Streitbuerger A, Balke M, Budny T, Henrichs MP, Hauschild G, Ahrens H. Reduction of periprosthetic infection with silver-coated megaprotheses in patients with bone sarcoma. *J Surg Oncol*. 2010;101:389- 95.
 68. Harges J, Ahrens H, Gebert C, Streitbuerger A, Buerger H, Erren M, Gunsell A, Wedemeyer C, Saxler G, Winkelmann W, Gosheger G. Lack of toxicological sideeffects in silver-coated megaprotheses in humans. *Biomaterials* 2007;28:2869–75.
 69. Wafa H, Grimer RJ, Reddy K, Jeys L, Abudu A, Carter SR, Tillman RM. Retrospective evaluation of the incidence of early periprosthetic infection

- with silver-treated endoprostheses in high-risk patients: case-control study. Bone Joint J. 2015;97-B:252-7.
70. Matassi F, Botti A, Sirleo L, Carulli C, Innocenti M. Porous metal for orthopedics implants. Clin Cases Miner Bone Metab. 2013 May;10(2):111-5. PMID: 24133527; PMCID: PMC3796997.
71. Ramaswamy Y, Wu C, Zreiqat H. Orthopedic Coating Materials: Considerations and Applications. Expert review of medical devices, 2009, 6(4):423-430.
72. Junker R, Dimakis A, Thoneick M, Jansen JA. Effects of Implant Surface Coatings and Composition on Bone Integration: A Systematic Review. Clinical oral implants research, 2009, 20(s4):185-206
73. Yılmaz, A., 2002. Her Derde Deva Hazinemiz Bor, TUBİTAK-Bilim ve Teknik Dergisi, Ankara.
74. Roskill, 2002; Industrial Minerals March, 2001; Eti Maden, 2001; <http://minerals.usgs.gov>,2005
75. Zer Y, Karabacak FN, Büyüktaş Manay A. Borik asitin dezenfektan etkinliğinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2022; 79(1): 145 – 152
76. Yakıncı ZD, Kök M. Borun sağlık alanında kullanımı. İnönü Üni Sağlık Hiz Meslek Yük Okul Derg, 2016; 4: 36-44.
77. Kabu M. Akosman MS. Biological effects of boron. Rev Environ Contam Toxicol, 2013; 225: 57-75.
78. Hilal, C., Onal M. Bazı ester kompleks sentezlerinde kullanılacak borik asit, monoetilen glikol ve gliserol moleküllerinin kuramsal ve deneysel olarak incelenmesi, Bor Dergisi, 2021, BORON 6 (2), 298 – 308
79. Samman, S., Naghii, M. R., Lyons Wall, P. M., Verus, A. P (1998). The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. Biological trace element research, 66(1-3)., 227–235.
80. Hakki, S. S., Bozkurt, B. S., Hakki, E. E (2010).. Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1).. Journal

of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)., 24(4)., 243–250.

81. Sutherland, B., Strong, P., King, J. C (1998).. Determining human dietary requirements for boron. *Biological trace element research*, 66(1-3)., 193–204.
82. Benderdour, M., Hess, K., Dzondo-Gadet, M., Nabet, P., Belleville, F., Dousset, B (1998). Boron modulates extracellular matrix and TNF alpha synthesis in human fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*, 246(3)., 746–751
83. Roskill Raporu: The Economics of Boron, Roskill Information Service Ltd, 1999
84. Kawasaki Steel Corporation, (1987). Hexagonal boron nitride having a reduced content of water soluble boron- containing impurities, and process for its production, European Patent Application,7: 1- 14.
85. Ciofani G, Danti S, D’Alessandro D, Moscato S, Menciassi A (2010) Assessing cytotoxicity of boron nitride nanotubes: interference with the MTT assay. *Biochemical and biophysical research communications* 394(2):405-11
86. Atila A, Halici Z, Cadirci E, Karakus E, Palabiyik SS, Ay N, Bakan F, Yilmaz S. Study of the boron levels in serum after implantation of different ratios nano-hexagonal boron nitride-hydroxy apatite in rat femurs. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Jan 1;58:1082-9. doi: 10.1016/j.msec.2015.09.041. Epub 2015 Sep 11. PMID: 26478407.
87. Lahiri D, Rouzaud F, Richard T, Keshri AK, Bakshi SR, Kos L (2010) Boron nitride nanotube reinforced polylactide–polycaprolactone copolymer composite: mechanical properties and cytocompatibility with osteoblasts and macrophages in vitro. *Acta biomaterialia* 6(9):3524-33
88. Shuai C, Gao C, Feng P, Xiao T, Yu K, Deng Y, Peng S. Boron Nitride Nanotubes Reinforce Tricalcium Phosphate Scaffolds and Promote the Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *J Biomed*

Nanotechnol. 2016 May;12(5):934-47. doi: 10.1166/jbn.2016.2224. PMID: 27305816.

89. Hawthorne, F.C., Burns, P.C. and GRICE, J.D. (1996); “The Crystal Chemistry of Boron” Boron Mineralogy, Petrology and Geology içinde, (E.S. Grew and L.M. Anovitz, eds.) Vol.33, Ch.2, pp.41-116, Mineral Society American, MSA Reviews in Mineralogy
90. Azaroff, L. V. (1960). Introduction to Solids. McGraw-Hill. Lewis, M. H., & Gere, J. M. (2003). Hexagonal Boron Nitride: Fabrication, Properties and Applications. Materials Science and Engineering: R: Reports, 43(2), 45–102.
91. I. Bello, Y.M. Chong, K.M. Leung, C.Y. Chan, K.L. Ma, W.J. Zhang, S.T. Lee, A. Layyous, Diamond and Related Materials, 14 (2005), 1784-1790
92. Savaridas T, Wallace RJ, Muir AY, et al. The development of a novel model of direct fracture healing in the rat. Bone joint Res. 2012;1(11):289-96.
93. Lane, Joseph M.; Sandhu, H. S. Current approaches to experimental bone grafting. The Orthopedic clinics of North America, 1987; 18.2: 213-225.
94. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, Friedlaender GE. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. J Orthop Res. 1991; 9: 383-90.
95. SPSS referansı : IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0 Armonk, NY: IBM Corp.
96. Uysal T, Ustdal A, Sonmez MF, Ozturk F (2009) Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. The Angle Orthodontist 79(5):984-90
97. Ying X, Cheng S, Wang W, Lin Z, Chen Q, Zhang W, Kou D, Shen Y, Cheng X, Rompis FA, Peng L, Zhu Lu C. Effect of boron on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. Biol Trace Elem Res. 2011 Dec;144(1-3):306-15. doi: 10.1007/s12011-011-9094-x. Epub 2011 May 31. PMID: 21625915.

98. Gorustovich, A. A., López, J. M. P., Guglielmotti, M. B., & Cabrini, R. L. 2006. Biological performance of boron-modified bioactive glass particles implanted in rat tibia bone marrow. *Biomedical Materials*, 1(3), 100–105.
99. Lahiri D, Singh V, Benaduce AP, Seal S, Kos L, Agarwal A. Boron nitride nanotube reinforced hydroxyapatite composite: mechanical and tribological performance and in-vitro biocompatibility to osteoblasts. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2011 Jan;4(1):44-56. doi: 10.1016/j.jmbbm.2010.09.005. Epub 2010 Sep 21. PMID: 21094479.
100. Özmeriç A, Tanoğlu O, Ocak M, Çelik HH, Fırat A, Kaymaz FF, Koca G, Şenes M, Alemdaroğlu KB, İltar S, Hacaloğlu T, Kaftanoğlu B. Intramedullary implants coated with cubic boron nitride enhance bone fracture healing in a rat model. *J Trace Elem Med Biol*. 2020 Dec;62:126599. doi: 10.1016/j.jtemb.2020.126599. Epub 2020 Jun 23. PMID: 32629303.
101. Xie Z, Liu X, Jia W, Zhang C, Huang W, Wang J. Treatment of osteomyelitis and repair of bone defect by degradable bioactive borate glass releasing vancomycin. *J Control Release*. 2009 Oct 15;139(2):118-26. doi: 10.1016/j.jconrel.2009.06.012. Epub 2009 Jun 21. PMID: 19545593.
102. L. E. Toth, *Transition Metal Carbides and Nitrides*, Academic Press, New York, NY, USA, 1971.
103. Durusoy, S., İbandronik asit ve kalsiyum-d vitamini tedavisinin osteointegrasyon üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması, uzmanlık tezi, Kırıkkale, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji A.D., 2014.
104. Olçar HA, Halıcı M, Kafadar İH, Karaman İ, Lekesizcan A, Gönen ZB. Can injection of adipose stem cells to non-union zone increase bone union? Experimental rat study. *Jt Dis Relat Surg*. 2020;31(1):20-7. doi: 10.5606/ehc.2020.71270. PMID: 32160489; PMCID: PMC7489139.

10. EKLER

Ek 1. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (IMU-HADYEK) karar formu



EK 1.



İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (İMÜ-HADYEK) KARAR FORMU

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Murat KORKMAZ
---	-------------------------

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bor Nütrü ve Borik Asit Kompoziti ile Kaplı Plakların Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisi: Histopatolojik, Moleküler ve Radyolojik İnceleme
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL NO	0024

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2023/4-1	Karar Tarihi: 08.09.2023
Yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmanın gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.		

İMÜ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU								
Unvanı/Adı/So yadı	Görevi	Bölümü	Kuruma	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Elif OĞUZ	HADYEK Başkanı	Tıbbi Farmakoloji	İMÜ Tıp Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Prof. Dr. Korhan ÖZKAN	HADYEK Başkan Vekili	Ortopedi ve Travmatoloji	İMÜ Tıp Fakültesi	☐	☒	☐	☒	
Öğr. Gör. Dr. Andaç KILIÇKAP	DEHAL Sorumlu Veteriner Hekim	Veteriner hekim	İMÜ- BİLTAM DEHAL	☐	☒	☒	☐	
Doç. Dr. Kurtuluş AÇIKSARI	Üye	Acil Tıp	İMÜ Tıp Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Doç. Dr. Barış YÜCEL	Üye	Tıbbi Biyoloji	İMÜ Tıp Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Dr. Öğr. Üyesi Elif GELENLİ DOLANBAY	Üye	Histoloji ve Embriyoloji	İMÜ Tıp Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Prof. Dr. Seda ÖZTURAN	Üye	Periodontoloji	Galata Üni. Diş Hekimliği Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Dr. Öğr. Üyesi Ümmühan DEMİR	Üye	Moleküler Biyoloji ve Genetik	İMÜ Müh. ve Doğa Bilimleri Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Öğr. Gör. Dr. Zeynep ARDIÇ	Üye	Hukuk	İMÜ Hukuk Fakültesi	☐	☒	☒	☐	
Dr. Öğr. Üyesi Ali Çihan TAŞKIN	Üye (STK)	Laboratuvar Hayvanları Bilimi	İÜ Aziz Sancar Deneyel Tıp Araştırma Enstitüsü	☐	☒	☒	☐	
Refik KOÇ	Sivil Üye			☐	☒	☒	☐	

*:Toplantıda Bulunma