

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM
DALI

KEMİK KIRIK İYİLEŞMESİNDE *Dolichousnea longissima* (Ach.)
Articus. LİKEN TÜRÜNDEN ELDE EDİLEN USNİK ASİDİN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ. (RAT MODELLERİNDE DENEYSEL
ÇALIŞMA)

Dr. Hamdi Çolak

Tez Yöneticisi
Doç.Dr. Ömer Selim Yıldırım

Uzmanlık Tezi
Erzurum, 2009

TEŞEKKÜR

Uzun yorucu fakat her günüyle heyecanını kaybetmediğim uzmanlık eğitimim boyunca sabırla ve özveriyle yetiştirilmemde katkıları çok büyük olan değerli klinik hocalarım Prof.Dr. Ali Okur'a, Prof.Dr. Orhan Karsan'a, Doç.Dr. Davut Keskin'e, Tez Hocam Doç.Dr. Ömer Selim Yıldırım'a ve Doç.Dr.Naci Ezirmik hocama sonsuz teşekkürlerimi meslek hayatım boyunca her gün sunacağım.

Ayrıca tez çalışmam sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, Doç Dr Ali Aslan, Doç, Dr Ahmet Çakır, Doç Dr Zekai Halıcı, Doç Dr Akgün Alsaran, Doç Dr Armağan Hayırlı, Doç Dr Nesrin Gürsan, Yrd Doç Dr Bedri Seven hocalarımıza sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ailem olarak kabul ettiğim, yetişmemiz esnasında bizleri her zaman destekleyen hemşire personel, sekreter ve diğer tüm çalışanlarına, özveriyle çalışan asistan arkadaşlarıma

Sabırla ve manevi desteğiyle uzmanlık eğitimimde hep yanımda olan sevgili eşime sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Saygılarımla.

Dr Hamdi Çolak

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	I
TABLULARIN DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLERİN DİZİNİ	VI
RESİMLERİN DİZİNİ	VII
KISALTMALAR	IX
ONAY	X
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER	4
II.1. Kemik dokusunun histolojisi ve yapısı	4
II.1.1. Periosteum ve endosteum	8
II.1.2. Kemik matriksi	10
II.2. Kemik hücreleri.....	12
II.2.1. Farklaşmamış mezenşimal hücreler	13
II.2.2. Osteoblastlar	13
II.2.3. Osteositler	14
II.2.4. Osteoklastlar	16
II.3. Kemiklerin kanlanması	18
II.4. Kemik oluşmu	21
II.4.1. İntramembranöz kemikleşme	21
II.4.2. Enkondral kemikleşme	23
II.4.3. İkincil kemikleşme merkezleri ve epifiz büyüme plağı	24
II.4.4. Apositional kemik oluşumu	25
II.4.5. Kemikte şekillenme ve yeniden şekillenme	25
II.5. Kemik kırıkları	26
II.5.1. Kemik kırık tipleri	27
II.6. Kırık iyileşmesi	29
II.6.1. Primer kemik iyileşmesi.....	30
II.6.2. Sekonder kemik iyileşmesi	31
II.6.3. İnflamasyon dönemi	31
III.6.4. Onarım dönemi	32

II.6.5. Remodelasyon dönemi	34
II.7. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler.....	35
II.7.1. Travmanın derecesi ve etkisi.....	35
II.7.2. Kan akımının zarar görmesi	35
II.7.3. Kırığın karakteri	35
II.7.4. Kırığın tedavisi ile ilgili faktörler	36
II.7.5. Kemiğin yapısına ait faktörler.....	36
II.7.6. Primer veya sekonder kemik patolojileri	36
II.7.7. Yaş.....	37
II.7.8. Eşlik eden hastalıklar	37
II.7.9. Beslenme	37
II.7.10. Dışarıdan alınan ilaçlar ve kimyasallar	37
II.7.11. Mekanik uyarının etkileri	38
II.7.12. Elektriksel uyarı	38
II.7.13. Ultrasound	39
II.7.14. Kemik grefti	39
II.7.15. Diğer bazı etkenler	39
II.8. Likenler	40
II.8.1 Dolichousnea longissima (Ach.) Articus	46
II.8. Karboksimetil Selüloz	47
III. MATERYAL VE METOT	49
III.1. Deney Bitkilerinin Temini ve Teşhisi.....	49
III.2. Usnik asidin hazırlanması	49
III.3. Denekler ve Anestezi.....	51
III.4. Cerrahi işlem	51
III.5. İlaç uygulaması.....	55
III.5.1. Birinci grup.....	55
III.5.2. İkinci grup	56
III.5.3. Üçüncü grup	56
III.5.4. Dördüncü grup.....	56
III.5.5. Beşinci grup.....	56
III.6. Radyolojik değerlendirme	56

III.7. Histolojik değerlendirme	57
III.8. Mekanik inceleme	59
III.9. Dansitometrik inceleme.....	62
III.10. İstatistiksel inceleme	63
IV. BULGULAR.....	64
IV.1. Radyolojik bulgular	64
IV.2. Histolojik bulgular	73
IV.3. Kırık kallusunun BMD, BMC bulguları	81
IV.4. Mekanik bulgular	81
V. TARTIŞMA	86
VI. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	95
VII.ÖZET	97
VIII.SUMMARY	99
IX.KAYNAKÇA.....	101

TABLULARIN DİZİNİ

Tablo 1: Lane-sandhu radyolojik skora sistemi.
Tablo 2: 5 dereceli (grade) histolojik skora sistemi.
Tablo 3: Grup ve örneklere göre postoperatif dönemlerin radyolojik skor değerleri.
Tablo 4: Gruplara ve örneklere göre histolojik derecelendirme (grade) değerleri.
Tablo 5: Grup ve postoperatif dönemlere göre radyografi verilerin ortalamaları.
Tablo 6: Gruplara göre histolojik verilerin ortalamaları.
Tablo 7: Gruplara ve örneklere göre BMD (Kemik Mineral Dansitesi) ve BMC (Kemik Mineral Kütlesi) sonuçları.
Tablo 8: Gruplara ve örneklere göre mekanik test ölçüm değerleri.
Tablo 9: Gruplara göre kemik dansitometri ve mekanik testi sonuçlarının ortalama değerleri.
Tablo 10: Grup ve postoperatif dönemlere göre Lane-Sandhu skorundaki değişim.
Tablo 11: Gruplara göre histolojik grade.

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Şekil 1: Kemiğe ait lamelleri gösteren uzun kemik diafiz duvarının şematik çizimi.

Şekil 2: Osteoklastların yapısı.

Şekil 3: Uzun kemiğin gelişimini gösteren diagram.

Şekil 4: Likenlerin simbiyont yapıları.

Şekil 5: Usnik asidin kimyasal yapısı.

Şekil 6: Mekanik test verilerine göre usnik asit verilen grup ve kontrol gruba ait uzama kuvvet eğrisi.

RESİMLERİN DİZİNİ

Resim1: Kompakt kemik ile süngerimsi kemiğin trabeküler kafes yapısını gösteren kemik kesiti.

Resim2: *Dolichousnea longissima* (Ach.) Articus.

Resim3: Usnik asit ve karboksimetil selüloz un sulandırılmadan önceki görünümü.

Resim4: Operasyon sırasında sağ tibianın osteotomi sonrası görünümü.

Resim5: Operasyon sırasında sağ tibianın intramedüller kirschner teli ile tespit sonrası görünümü.

Resim6: Sağ taraf osteotomize tibianın tespitinin ardından kas ve fasyanın kapatılmasından sonraki görünümü.

Resim7: Sağ taraf cildin kapatılmasından sonraki görünüm.

Resim8: Operasyon sonrasında kontrol skopi görünümü.

Resim9: Three-point bending testini uygulamasına ait görünüm.

Resim 10: Herhangi bir ilaç verilmeyen gruba ait haftalık örnek radyografiler (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta).

Resim 11: 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen gruba ait haftalık örnek radyografi (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta).

Resim 12: 50 mg/kg usnik asit verilen gruba ait örnek radyografiler(A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta).

Resim 13: 100 mg/kg usnik asit verilen gruba ait örnek radyografiler (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta).

Resim 14: 200 mg/kg usnik asit verilen gruba ait örnek radyografiler (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta).

Resim 15: 1. gruba (Herhangi bir ilaç verilmeyen) ait örnek histolojik kesit (20x ve40x büyütme).

VIII

Resim 16: 2. gruba (50 mg/kg usnik asit) ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x büyütme).

Resim 17: 3. gruba (100mg/kg usnik asit) ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x büyütme).

Resim 18: 4. (200mg/kg usnik asit) gruba ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x büyütme).

Resim 19: 5. gruba (2ml %3 lük karboksimetil selüloz) ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x).

KISALTMALAR

WHO	:Dünya Sağlık Örgütü.
BMP	:Bone Morfogenetic Protein.
TGF- beta	:Transforming Growth factor beta.
FGF	:Fibroblast Growth Factor.
PDGF	:Platelet-derived Growth Factor.
CMC	:Karboksimetil Selüloz.
BMD	:Kemik Mineral Dansitesi.
BMC	:Kemik Mineral Kütlesi.
Cbfa1	:Kora Bağlanan Faktör Ailesi.

ONAY

Ratlar da yapılan bu deneysel çalışma 12.02.2009 tarihli Atatürk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Hayvan deneyleri yerel etik kurulunun B.30.2.ATA.0.23.85.- 7 sayılı izin ile Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma için herhangi bir projeden destek sağlanmamış olup tamamen kendi imkânlarımızla yürütülmüştür. Çalışmaya Tıp Fakültenin Farmakoloji ve Patoloji Anabilim dalları ile Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji bölümü, Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü, Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı bölümlerinin katkıları olmuştur.

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik dokusu önemli organların korunmasında görev alan, kalsiyum ve fosfat gibi iyonları depolayan, kemik iliği içeren önemli bir destek dokusudur. İskeletin mekanik ve metabolik olarak desteklenmesinde önemlidir(1). Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemik dokusunda olan ayrılmaya, başka bir deyişle kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Kırığı oluşturan zorlama veya kırılan kemiğin uçlarına bağlı çevredeki cilt, kas, tendon, ligament, damar, sinir veya organlara zarar verebilir. Kırığı oluşturan neden, kent ve hastane özelliklerine göre değişmektedir. Sanayi bölgelerinde iş ve trafik kazaları büyük kentlerde trafik kazaları, kırsal kesimde düşmeler kırığa daha çok neden olmaktadır. Bazı yörelerde ateşli silahlarla olan açık kırıklar çoktur(2).

Kırık iyileşmesi karmaşık bir süreçtir. Bilinmeyen birçok faktörler aktive olur, redüksiyon stabil olsa bile bazen kırıklar kaynamayabilir. Düşük kemik kalitesi, zayıf hasta direnci, implant seçimi suçlansa da her zaman geçerli sebep değildir(3). Kırık iyileşmesinin bozulmasına bağlı gelişen komplikasyonlar beraberinde tedavide zorlukları oluşturmakta ve çoğunlukla hastalar için kronik fonksiyonel ve fizyolojik bozukluklar, artan hasta morbiditesi, stres ve ekonomik kayıp meydana gelmektedir(4). Kırık iyileşmesini hızlandırabilen etkili güvenilir ve ucuz maliyetli ajanların geliştirilmesi kırık tedavisinde yeni yollar açabilir(3). Bu durum bize kırık sağaltımının en hızlı ve en kolay yöntemlerle gerçekleştirilmesinin ne derece önemli olduğunu düşündürmektedir.

Kırık iyileşmesi o bölgeye ait yumuşak doku, periost, kemik iliği ve birçok hücrelerin olaya katıldığı uzun ve karmaşık birçok hücresel ve biyokimyasal süreçler içermektedir(5).

Bu süreçlerin oluşu ve etkileyen faktörlerle ilgili birçok araştırmalar yapılmıştır. Buda kırık tedavisi ile ilgili yaklaşımlarda zaman zaman değişikliklere neden olmuştur(6-19).

Likenler tanım olarak, bir mikobiyont olarak anılan fungal ortak ile bir ya da daha fazla sayıda alg ya da siyanobakteri olabilen ve fotobiyont olarak anılan fotosentetik ortak ile oluşan simbiyotik organizmalardır(20). Likenler, Dñnyanın hemen her yerinde yayılış gösterirler. Yeterli nemin bulunduğu kızgın çöllerde, Arktik ve Antartik bölgeler ile yüksek dağların dondurucu soğuklarında diğer bitkilerin yaşayamadığı taşlar, verimsiz topraklar, kuru ağaç kabukları ve kiremitler üzerinde dahi yetişebilmektedirler(20,21). Günümüzde 17000 den fazla türe sahip olduğu bilinen likenlerin, ÷lkemizdeki florası henüz tamamlanmamış olup bölgemiz ile ilgili yapılan çalışmalar ise şimdilik sınırlı olmasına karşın gün be gün artmaktadır(22,23,24). Diğer taraftan likenlerin boya ve kozmetik sanayisinde ham madde olarak ve hava kirliliğini belirlemek amacıyla kullanıldıkları da kaydedilmiştir(25,26,27).

Likenler, dñnyada ve ÷lkemizde çok eski zamanlardan beri halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Dñnya Sağlık Örgütñnñn (WHO) birçok ÷lkedeki yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, dñnyada tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam tür sayısı 20.000 civarındadır(22,23,24).

Son yıllardaki araştırmalar, liken metabolitleri ve onların antimikrobiyal etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır. Araştırmalar sonucunda 800'ün üzerinde liken metabolitinin yapısı aydınlatılmıştır(28,29,30). Likenlerin tıbbi önemleri bilim adamlarının ilgisini çekmekte ve likenlerin tıbbi kullanım alanları, araştırmacıların likenler üzerinde yoğunlaşmasını sağlamaktadır.

Likenlerin üstün yaşam mukavemeti kendi bünyelerinde ürettikleri çok özel moleküllerden ileri gelmekte ve yapılan biyolojik aktivite ölçümlerinde liken metabolitlerinin her geçen gün yeni özellikleri keşfedilmekte ve ilaç özelliklerinin araştırılmasında önemli yer tutmaktadır(29).

Usnik asit *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken türünde bol miktarda bulunun bir maddedir(31). *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken türü, Kuzey Anadolu da insanlar tarafından kırık vakaları, kanser, ülser, tüberküloz gibi bazı hastalıklarda geleneksel olarak kullanıldığı ifade edilmektedir(32). *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* elde edilen usnik asidin antibakterial, antiviral, antiprotozoal, gastroprotektif etkileri olduğu bazı çalışmalarda ispatlanmaya çalışılmıştır(31,33,34,35). Ayrıca “ethnobotanical notes on three Indian lichens” adlı çalışmada *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* benzer türlerinin yardımcı maddelerle birlikte kırık sağaltımında kullanıldığına dair notlar mevcuttur.

Yaptığımız literatür taramalarında, *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken türünden elde edilen usnik asidin kırık iyileşmesi üzerine etkileriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bizim bu çalışmada amacımız bir liken türü olan *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* dan elde edeceğimiz usnik asidin ratlar da kırık iyileşmesi üzerine etkisini incelemektir.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Kemik dokusunun histolojisi ve yapısı

Kemik; hücreler arası kireçlenmiş materyal olan kemik matriksi ve 3 tür hücreden; matriks içinde laküna adı verilen boşluklarda bulunan osteositler, matriksin organik kısımlarının sentezini yapan osteoblastlar, kemiği eriterek emilmesi ve yeniden modellenmesi ile ilgili, çok çekirdekli dev hücreler olan osteoklastlardan, yapılı özel bir bağ dokusudur. Kemik düzenli bir vasküler sisteme sahiptir. Bütün kemiklerin iç ve dış yüzeyleri, kemik yapan ve tamir eden iç yüzeyde endoestum, dış yüzeyde periost denilen doku tabakaları ile kaplıdır(36).

Kemik dokusu kimyasal ve fiziksel özellikleriyle benzersiz bir yapıya sahiptir. Sert ve dayanıklı yapısı ekstremite için kullanışlı olmasını sağlar. Ekstremitenin kullanılması ilginç olarak kemiğin sert ve dayanıklılığını sürdürmektedir; Eğer belli bir zaman diliminde ekstremitenin immobilize edilmesi kemiklerin X-ray ve kimyasal analizlerinde kemik kütlelerinde azalma (kullanmama atrofisi veya osteoporoz) ve buna bağlı olarak mekanik dayanıklılıkta da azalma olacaktır(37). Kemik de diğer bağ dokuları gibi; hücreler, lifler ve matriks den oluşur. Matriks de mineral birikimi olduğu için kemik ağırlık taşıyabilir, vücut için rijit bir iskelet olarak görev yapar, kaslar ve organlar için tutunma yeri oluşturur. Kemikler ayrıca, kafatası içindeki beyin, toraks içindeki kalp ve akciğerler ile pelvis kemikleri arasındaki boşaltım ve üreme organlarını da korur. Kemikler hemopoez de (kan hücreleri yapımı) görev yapar, kalsiyum, fosfat ve diğer mineraller için depo olarak hizmet verir. Vücuttaki kalsiyumun hemen hemen tümü (%99) kemiklerde depolanır ve vücut günlük kalsiyum gereksiniminin bir bölümünü bu kaynaktan karşılar(38).

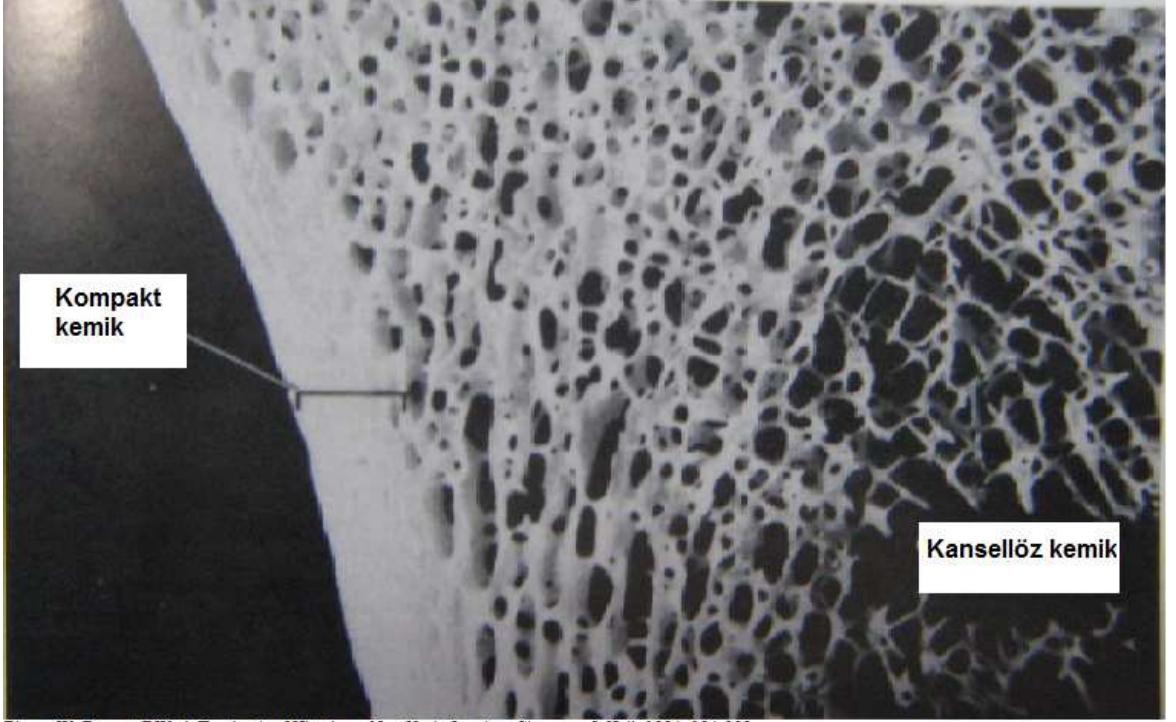
Kemik şekil ve boyut olarak çok fazla çeşitliliğe sahiptir. Kulak kemiklerinden bacak kemiklerine kadar boyut olarak bu farklılığı görebiliriz. Şekil olarak bu çeşitlilik kemiklerin üç gruba ayrılmasına neden olur(39).

- 1) Uzun kemikler femur, tibia ve humerus da olduğu gibi kalın duvarlı tübüler yapıda olan diafiz ve diafizin her iki tarafında bulunan geniş yapıda metafiz ve epifiz bulunur. Diafizin kalın kortikal duvarı metafize doğru incelik ve genişler(39).
- 2) Kısa kemikler (tarsal kemikler, karpal kemikler, vertebra) yaklaşık olarak aynı boyutlara sahiptirler(39).
- 3) Yassı kemikler (skapula, iliak kanatlar) diğerlerinden daha kısa olup tek boyuta sahiptirler(39).

Kemik dokusu makroskopik olarak iki forma ayrılır(40):

- 1) Kortikal kemik
- 2) Spongioz kemik

Kortikal ve spongioz kemik aynı matriks bileşenlerine ve yapıya sahiptir. Ancak kortikal kemiğin, kemik kitlesi, birim hacme düşen kemik ünitesine, yani kortikal kemik spongioz kemikten daha yoğun dansiteye ve daha az gözeneğe (kortikal kemikte yaklaşık % 10, spongioz kemikte % 50-90) sahiptir. Kemiğin kompresyona dayanıklılığı kemik dansitesinin karesi ile orantılıdır. Aynı volümlere sahip kortikal kemiğin elastikiyet miktarı ve nihai kompresif dayanıklılığı muhtemelen spongioz kemikten on kez daha fazladır. Kortikal kemik, olgunluğunu tamamlamış iskeletin yaklaşık % 80 ini oluşturur ve kemik iliği ile spongioz kemiğin çevresini sarar(40).



Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology. New York, London: Chapman & Hall, 1994: 194-233

Resim 1: Kompakt kemik ile süngerimsi kemiğin trabeküler kafes yapısını gösteren kemik kesiti

Kemikler mikroskopik yapılarına göre iki gruba ayrılır(41).

- 1) İmmatür (woven) kemik
- 2) Matür (lamellar) kemik

İmmatür kemik embriyolojik hayatta ve hayatın ilk 3-4 yılındaki iskeleti oluşturur. 4-5 yaş civarında yerini tamamen matür kemiğe bırakır. Ayrıca tendon ve ligaman yapışma yerlerinde büyüme plaklarında, implantların osteointegrasyon sahasında, kırık iyileşmesi esnasında oluşan kallus yapısında, kemik yapımını uyarıcı medikal tedavilerde ve bazı metabolik hastalıklarda (Paget hastalığı, Osteogenezis imperfekta vs) da immatür kemik dokusu bulunur. İmmatür kemik dokusu lamellar kemik dokusuna göre daha esnek, daha kolay deforme olabilen ve daha güçsüz yapıdadırlar(41).

Lamellar kemik doğumdan sonra görülmeye başlar ve gelişme ile beraber immatür kemiğin yerini alır. Lamellar kemikte 3-5 milimikron genişlikte tabakalar halinde paralel dizilimli yoğun kollajen fibrilleri sıkı bağlantı sağlar ve kemik dayanıklılığını artırır(41).

Lamellar kemik de, içinde kan damarları sinirler ve gevşek bağ dokusu içeren bir kanalalın (havers kanalları) etrafını saran dairesel kemik kanalcıklarından oluşan havers sistemi ya da osteon adı verilen karmaşık bir yapı bulunur(36). Havers sistemleri arasında değişik büyüklükte, düzensiz şekilli ve köşeli lamelli kemik alanları vardır. Bu alanlara ara lamel sistemi (interstisyel sistem) adı verilir. Havers sistemi ve ara lamel sisteminin sınırları yapıştırıcı çizdi (cement line) denilen keskin bir hat ile birbirinden ayrılır. Havers kanalı, havers sisteminin merkezinde uzunlamasına yer alan kanaldır. Çapı 20-110 mikron arasında değişir ve kapiller, postkapiller venül nadiren arterioller içerir. Havers kanalları dikey veya eğri yönde seyreden volkmann kanalları aracılığıyla birbiriyle sürekli ilişki içerisindedir. Volkman kanalları kemiğin periosteumundan endosteumuna kadar uzanır. Nadiren kör uç şeklinde sonlanır. Periosteum ve endosteumdan gelen kan damarları volkmann kanalları aracılığıyla havers sistemi ile ilişki kurar. Süngerimsi kemik dokusu da lamellerden oluşur. Ancak ince trabeküler yapıda olduğundan havers ve volkman kanalları dolayısıyla damarlar bulunmaz. Buradaki kemik hücreleri besin maddelerini kanaliküller aracılığıyla endosteumdan temin ederler(42).

Havers sisteminin bir parçası olan dairesel kemik kanalları arasında ve nadiren içlerinde, osteosit içeren lakünalar bulunur(36). Lakunalar şekilsel olarak lentiküler yapıdadır. Lakunalardan ışınal tarzda her yöne doğru uzanan ince dallar şeklinde kanalikuli denilen yapılar bulunur. Bu yapılar interstisyel alanda ilerler lamellalardan

geçebilir ve diğer lakunaların kanalikuli ile anastomoz yapar. Böylece lakunalar arasında belli mesafeler olmasına rağmen bunlar birbirleri ve havers kanalı ile bu ince kanallar aracılığıyla ilişkilidir. Bu ince kanallar kemik hücresinin beslenmesi için zaruridir. Bu kanallar hücreler arasında ve hücrelerle perivasküler alan arasına da metabolit alışverişini sağlamaktadır(43).

Kompakt kemiğin lamellası yaygın olarak üç gruba ayrılır(43).

1) Haversian sistem veya osteon; Büyük çoğunluğu oluşturur merkezi bir vasküler kanalın etrafında silindirik ünitelerin dizildiği bir sistem. Çapları değişiktir ve 4-20 osteondan oluşur(43).

2) İnterstisiyel sistem; haversian sistemlerin arasında bulunan değişik boyutlarda, düzensiz şekilli ve köşeli lamelli kemiklerden oluşur(43).

3) Dış ve iç dairesel lamella; periostun hemen altında bulunur kemik shaftına paralel muhtemelen dairesel bir şekilde devamlılık gösterir(43).

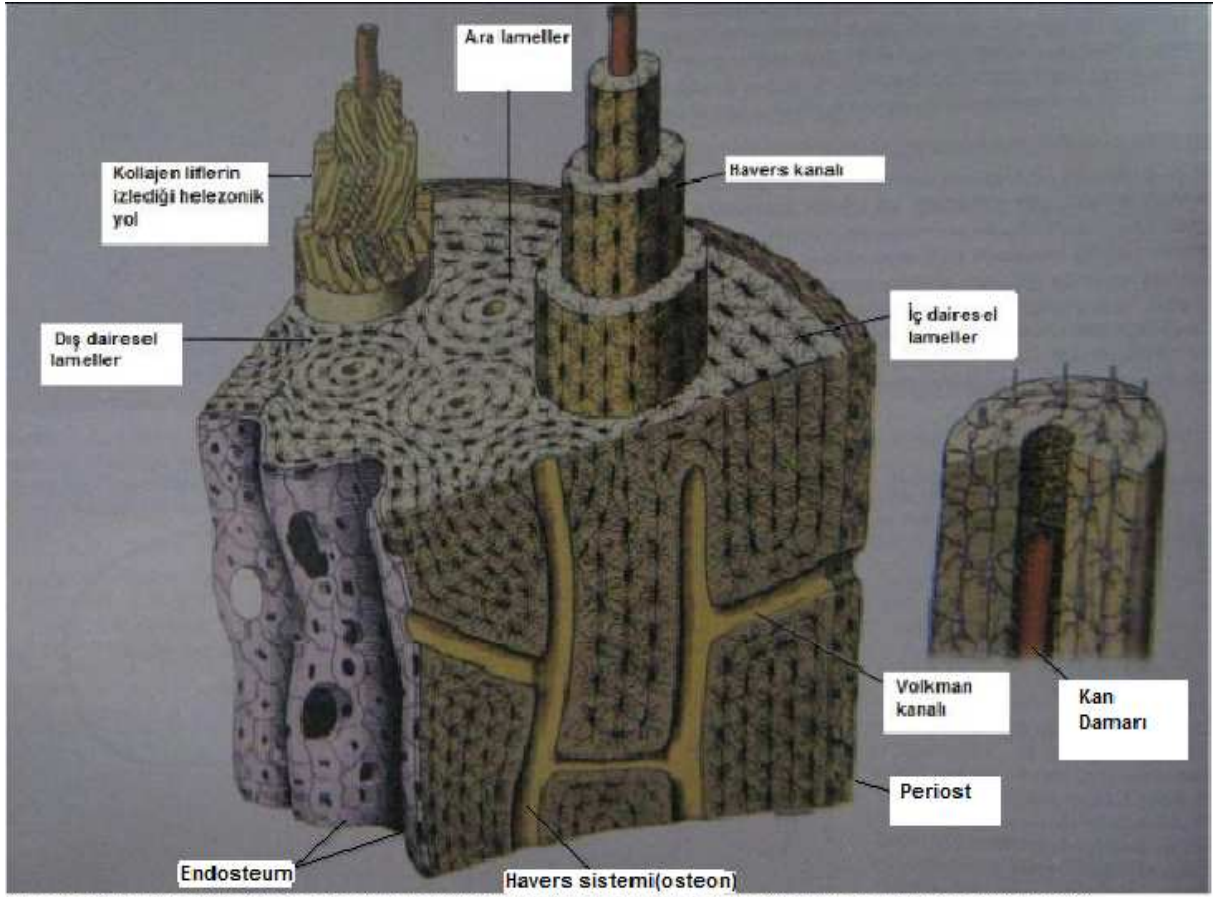
II.1.1. Periosteum ve endosteum

Birkaç istisna dışında, kemikler periosteum denen osteojenik potansiyele sahip, özel bir bağ dokusu tabakasıyla örtülüdür. Bu tabakanın kemik oluşturma özelliği vardır. Eklem kıkırdaklarıyla örtülü olan kemiklerin uç kısımlarında, tendon ve ligamentlerin kemiğe bağlantı bölgelerinde, diz kapağının yüzeyinde, uyluk ve topuk kemiğinin boyun bölgesinde periosteum örtüsü bulunmaz. Periosteumda lenf damarları ve duyu sinirlerinden oluşan yoğun bir ağ bulunur. Lenf damarları, kan damarlarının kemiğin içerisine girdiği kanallar aracılığıyla osteonlara kadar gider. İçinde bulunduğu bu kanallardan lenfi toplar. Duyu sinirleri de kemiği besleyen atardamarlarla birlikte kemiğin içine girerek endosteumu, ilik boşluğunu ve epifizi sinirlendirir. Kemiğin duyu sinirlerinden zengin olması travma esnasında söz konusu bölgede yoğun bir ağrı

oluşmasına neden olur. Diyafizin ilik boşluğu ve süngerimsi kemiğin boşlukları endosteum denen ince hücreli tabaka ile örtülüdür(42).

Periosteumun mikroskobik yapısı işlevsel durumuna göre oldukça değişiklik gösterir. Embriyonik ve doğum sonrası gelişimde, periosteumda osteoblast denen kemik oluşturan hücrelerden meydana gelmiş bir iç tabaka vardır. Bunlar kemik ile doğrudan ilişkilidir. Erişkinlerde, osteoblastlar dinlenme halindeki hücrelere dönüşürler. Bu hücrelere osteoprogenitör hücreler denir. Kemikte bir yaralanma olursa, o zaman bu hücrelerin kemik oluşturma potansiyeli uyarılır; osteoblast görünümüne sahip olarak yeni kemik yapılışına katılır. Periosteumun dış tabakası ise nispeten hücreli bir sıkı bağ dokusundan oluşur ve kan damarları içerir. Bu damarların kolları kemik içinde daha derin tabakalara girer ve volkmann kanalları aracılığıyla havers kanalları ile ilişki kurar. Periosteumun dış tabakasından çıkan kalın kollajen fibril demetleri, içeride kemiğin dış çembersel lamellerine ve ara lamel sistemine kadar girer bu fibrillere sharpey fibrilleri denir. Periosteumun alttaki kemiğe tutunmasını sağlar(42).

Endosteum, içinde kemik iliği bulduran kemik boşluklarının duvarlarını döşeyen yassı osteojenik hücrelerin oluşturduğu ince bir tabakadır. Kemik iliği stromasının periferik tabakası olup, osteojenik potansiyel açısından periosteumu andırır; ancak ondan biraz daha incedir. Tek kat oluşturan hücreleri genellikle bağ dokusu fibrilleriyle ilişkili değildir. Kemikte bulunan tüm boşluklar, havers kanalları, volkmann kanalları ve süngerimsi kemiğin ilik boşlukları tamamen endosteum ile örtülüdür(42).



Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology. Tercüme: Aytakin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri; 2006: 141-160

Şekil 1: Kemiğe ait lamelleri gösteren uzun kemik diafiz duvarının şematik çizimi

II.1.2. Kemik matriksi

Kemik matriksinin %35 i organik, %65 i inorganik bileşiklerden oluşur(44). Organik matriks, başlıca kollajen liflerden ve temel maddeden oluşur. Kemik hacminin yaklaşık % 50 sini, ağırlığının da % 25 ini oluşturur(45). Kemiğin organik matriksi tendon, ligament, eklem kapsülü gibi yoğun fibröz dokulara benzer. Organik kemik matriksinin % 90 ı tip 1 kollajenden oluşur az miktarda tip 5 ve tip 12 kollajen içermektedir, diğer % 10 u nonkollajen glikoprotein ve kemiğe spesifik proteoglikandan oluşur. Tip 1 kollajen diğer kollajenlerden aminoasit içeriği, çapının daha geniş olması, tendon ve ligamentlerde de olduğu gibi gerilme kuvvetine dirençli olması ile ayrılır. Tip1 kollajenin kalıtsal anormallikleri osteogenesis imperfekta gibi heterojen grup

hastalıklara sebep olabilmektedir. Bu gibi tip 1 kemik kollajen anormallikleri olan hastalarda kemiklerde kırılmalıkta artış gözlenir. Kemik aynı zamanda matriks organizasyonu, kemik mineralizasyonu ve kemik hücrelerini etkileyen çeşitli nonkollajen protein bulundurur. Bu proteinler osteokalsin, osteonektin, kemik sialoproteinleri, kemik fosfoproteinleri ve küçük proteoglikanlardan oluşur(40). Osteokalsin ve osteopontin sentezi 1 α -25 dihidroksikolekalsiferol adlı aktif D vitamini metabolitleri ile uyarıyı takiben artar. Osteokalsin osteoblast sentezini inhibe eder(44). Kemik matriksi kemik hücrelerinin fonksiyonunu etkileyen büyüme faktörleri içermektedir. Kemikten izole edilen büyüme faktörleri şunlardır; Transforming büyüme faktörü-beta ailesi, insülin benzeri büyüme faktörü-1, insülin benzeri büyüme faktörü-2, kemik morfojenetik protein, platelet-derived büyüme faktörü, interlökin-1, interlökin-6 ve koloni stimulan faktörler. Bu moleküllerin kaynağının kemik hücrelerinden ya da kemik dışındaki hücrelerden olup olmadığı kesin değildir. Buna rağmen kemik hücre fonksiyonlarında önemli olan bu moleküllerin; Kemik içindeki varlığının kemik hücrelerinin fonksiyonlarını güçlü şekilde etkilediği kuvvetle düşünülmektedir(40). Kemiğin inorganik bileşeni daha çok kalsiyum fosfat birikimleri ve kristal özellikteki hidroksiapatit ile temsil edilir. Kristaller kollajen olmayan proteinlerce desteklenmiş bir toplanma işlemi ile kollajen liflerin uzunluğu boyunca dağılır(44). Kemiğin inorganik kısmının içeriğinde, ağırlıklı olarak kalsiyum ve fosfatın yanında bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve eser elementler bulunur(45). Kemiğin inorganik matriksi iki önemli fonksiyon içermektedir. Bunlardan birincisi iyon rezervuarı ikincisi ise kemiğe katılık ve dayanıklılığını sağlamasıdır. Vücudun toplam kalsiyumunun % 99 u, fosforun % 85 i sodyum ve magnezyumun % 40-60 ı bu kemiğin bu inorganik matriksin de bulunmaktadır. İnorganik kemik matriksi birçok önemli biyokimyasal reaksiyonlar için

önemli olan bu iyonların, bir rezervuar görevi görerek, ekstrasellüler konsantrasyonunu idame ettirmektedir. İlâveten kemiğin inorganik matriksinde ki kalsiyum fosfat kristalleri, normal aktivite ile oluşan zorlamalara karşı mekanik olarak dayanıklılığı sağlamaktadır. Son yapılan çalışmalar kemik mineral kristallerinin tamamen hidroksiapatit ($Ca_{10}[PO_4][OH_2]_2$) kristallerden oluşmadığını göstermiştir. Bunun yerine asit fosfat gruplarını ve karbonat iyonlarının her ikisini içermektedir(40). Kristallerin yüzeyindeki hidrate iyonlar, hidrasyon kabuğu denilen ve vücut sıvılarıyla kristaller arasında iyon değişiminin sağlandığı bir oluşuma sebep olurlar(45).

II.2. Kemik hücreleri

Kemik hücreleri, kemik rezorpsiyonu, mineral dengesi, kemik tamiri gibi kemiğin birçok fonksiyonunu yerine getirir ve lokalizasyonu, morfolojisi ve fonksiyonuyla özel görünümlere sahiptir(40).

Aktif olarak büyüyen kemik iki farklı soydan gelen hücreleri içerir(44).

1. Osteoprojenitör hücreler, osteoblastlar ve osteositleri içeren osteoblast soyu(44).
2. Monosit-makrofaj-osteoklast soyu(44).

Osteoprojenitör hücreler mezenşim ve kök hücrelerin özelliklerine sahiptir. Osteoprojenitör hücreler büyüme ve transkripsiyon faktörlerini içeren düzenleyici bir mekanizma osteoblastlara dönüşür ve periosteum ile endosteumun iç tabakasında bulunur. Osteoblastlar ürettikleri matriksin mineralleşmesi ile hapsedilir ve osteositlere dönüşür(44).

Osteoprojenitör hücreler kemiği döşeyen hücreler olarak postnatal yaşam boyunca kalır; erişkinde kemik kırıklarının onarımı esnasında ve diğer hasarlarda yeniden aktive olur(44).

Osteoklastlar orjinini hematopoetik kök hücrelerden alan monositlerden meydana gelirler. Mononükleer monositler, proteinlerin veya sitokinlerin özel sinyalleri altında önce rezorbe olacak bölgelere göç ederler ve osteoklastlara farklılaşmadan önce diğer monositlerle veya orda bulunan makrofajlarla birleşirler(46).

II.2.1. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler

Osteoblastlara dönüşme potansiyeline sahip olan farklılaşmamış mezenşimal hücreler, kemik kanallarında, endosteumda, periosteumda ve kemik iliğinde bulunmaktadır. Kan veya doku etrafından migrasyonla kemik yapımını başlatabilirler. Vasküler perisitler preosteoblastlar için bir diğer kaynağı teşkil etmektedirler. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler düzensiz yapıdadırlar. Basit bir nükleus, küçük stoplazma ve birçok organelle sahiptirler. Bu hücreler osteoblastlara farklılaşmak için uyarılana kadar farklılaşmamış halde kalırlar. Örneğin kırık sonrası bu hücreler, birçok büyüme hormonunun salgılanması da dahil kırık iyileşmesi için sırayla bölgeye göç ederler, çoğalırlar ve osteoblastlara dönüşürler(40).

II.2.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar tek tabaka oluşturarak aktif kemik oluşumunun olduğu bütün bölgeleri kaplayan kübik ya da silindirik şekilleri ile epitelyum a benzeyen hücrelerdir. Osteoblastlar kas hücreleri, adipositler, fibroblastlar ve kondroblastların da öncüleri olan pluripotent mezenşim hücrelerden kaynaklanırlar(44). Osteoblastların görülen en önemli fonksiyonu kemiğin organik matriksinin sentezidir. Fakat bu hücreler aynı zamanda ekstrasellüler sıvı ile kemik arasında elektrolit değişimi, organik matriks sentezi vasıtasıyla dolaylı olarak kemik matriks mineralizasyonunu ve matriks vezikülleri üretimini etkiler. Ek olarak paratiroid hormonunda dahil olduğu sistemik hormonlar, lokal sitokinler, osteoblastları uyararak, osteoklastları aktive eden

mediatörlerin salınmasına neden olur(40). Osteoblastlar oldukça polarize hücrelerdir: osteoblast-kemik ara yüzü boyunca kemiğin mineralize olmamış organik matriksi (osteoid) biriktirirler. Daha sonra osteoid mineralleşmesini başlatır ve kontrol eder. Osteoblastlar, elektron mikroskobu fotoğraflarında protein sentezi, glikolizasyon ve sekresyonda aktif olarak yer alan hücrelerin tipik özelliklerini gösterirler. Osteoblastların özgün ürünleri, tip 1 kollajen, osteokalsin, osteopontin ve kemik sialoproteinidir. Osteoblastlar alkalın fosfataz için osteositler olarak matrikse gömülü hücreler haline geldikleri zaman kaybolan güçlü bir sitokimyasal reaksiyon verirler. Ayrıca osteoblastlar kemiği uyarıcı aktiviteler ile kemik morfogenetik protein ailesinin üyeleri olan büyüme faktörlerini üretirler. Kemik oluşumu tamamlandığı zaman osteoblastlar yassılaştır ve osteositlere dönüşür. Osteoblastın farklılaşması büyüme ve transkripsiyon faktörleri ile kontrol edilir. Kemik morfogenetik protein ailesi ve transforme edici büyüme faktörü betanın bazı üyeleri osteoblast farklılaşmasını ve embriyonik gelişimi düzenleyebilir(44).

Osteoblasta özgü iki gen osteoblast soyunun farklılaşmasını kontrol eder. Kora bağlanan faktör ailesi (Cbfa1) osteoblastların farklılaşmasını uyaran ve osteokalsinin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon şifreler. Cbfa1 osteogenezin en erken ve en özgün belirteçidir ve ekspresyonu osteokalsin ve osteopontinin BMP7 ile uyarılır. Osteokalsin Cbfa1 in kontrolü altında sadece son farklılaşan osteoblastlarda eksprese edilen özgün bir salgı proteinidir(44).

II.2.3. Osteositler

Kemiğin ekstrasellüler matriksinin varlığını sürdüren, osteoblast soyunun farklılaşmış son veya en olgun hücreleridir(44).

Olgun insan iskeletinde, kemik hücrelerinin % 90 dan daha fazlasını osteositler içermektedirler. Etrafı mineralize olmuş kemikle çevrilidir(40).

Osteositler sitoplâzmalarında aktivitelerine göre değişen oranda organeller içerirler(40). Tam olgunlaşmamış osteositlerde organellerin sayı ve büyüklükleri azalmış olmasına rağmen osteoblastlara benzer. Basit bir nükleusa sahiptir ve tipik olarak vasküler tarafta lokalize olmuştur. Nükleusda bir veya iki nukleolus yanında nükleer porlarla dolu membran bulunur(47).

Osteositler lakuna denen lameller arasındaki küçük boşlukları işgal eden gövdeleri ile oldukça fazla dallanmış hücrelerdir. Kanalikül denen küçük kanallar lameller boyunca ilerler ve komşu lakünleri birbirine bağlar. Kanaliküller içinde bulunan komşu hücreler uzantıları oluklu bağlantılar (gap junction) ile bağlanır(44).

Besin maddeleri havers kanalı içindeki bitişik kan damarlarından kanaliküli boyunca lakün içerisine yayılır(44).

Osteositlerin yarı ömrü yaklaşık 25 yıldır. Fakat buna rağmen ortalama yaşam süreleri çok değişkenlik gösterir(47). Bir osteositin ömrü besin difüzyon sürecine ve kemik matriksinin ömrü de osteositlere bağlıdır. Osteositler vaskülarizasyonun devam etmesi sağlanırsa, yıllarca canlı kalabilir(44).

Osteositlerde, mineralize olmamış perisellüler alan, osteositlerin ve uzantılarının bütünlüğünün sağlanmasına yardım eder. Bunu lakunar bölgede mineralizasyona engel olan tampon alan gibi davranarak ve bu yolla ekstrasellüler transportun aşıkarak devamını sağlayarak yapar. Mineralizasyonun artması periosteosit daralması ile sonuçlanır. Osteositler asit fosfat aktivitesi gösterirler ve diğer lizozomal hidrolitik enzimler ile proteinlerin ve glikozaminglikanların düzenlenmesi bu da bir anlamda perisellüler tampon alanın düzenlenmesi ve kalsiyumun mineralize matriksden

salınmasını sağlar. Perisellüler alanın bir aktif görevi de proteoglikanların depolimerizasyonu ve repolimerizasyonu olduğu iddia edilmiştir fakat ispatlanmamıştır(47).

Osteositler kemikte çok fazla bulunurlar ve kemik matriksinin devamlılığını sağlarlar. Osteosit ölümlerini takiben, ilerleyen zamanlarda matriks rezorpsiyonu olur. Ek olarak osteositler mekanoreseptör gibi de davranır. Osteositlerin hücre yüzeyine mekanik sinyallerin iletimi hücre yüzey reseptörlerine doğrudan solid matriks ile ek olarak indirekt yolla lakunokanaliküler sistemden sıvı hareketine bağlı oluşan sıvı basıncı ve makaslama stresi ile olur. Hücrelerin uyarılması ile ikincil habercilerin ve transkripsiyon faktörlerinin salınmasına ve sonuç olarak gen transkripsiyonuna neden olur(47).

II.2.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar kemiğin büyümesi, düzenlenmesi ve tamiri süresince primer olarak kemik matriksi yıkımından sorumlu hematopoetik hücrelerden kaynaklanan çok çekirdekli hücrelerden türerler(48).

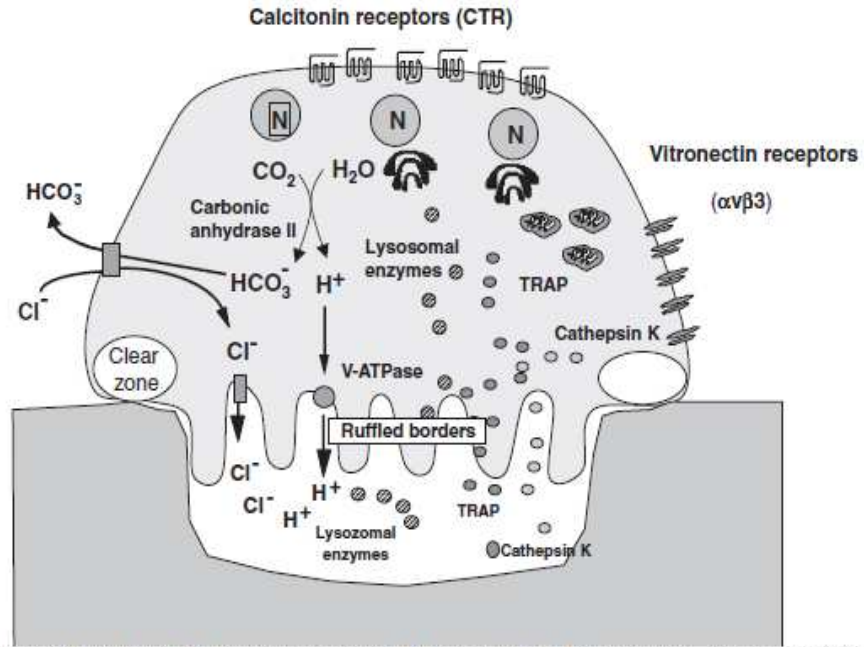
Osteoklastlar kemiğin yeniden şekillenmesinde ve yenilenmesinde önemli rol oynarlar. Bu süreç çeşitli bölgelerdeki kemik matriksinin çıkarılmasını takiben osteoblastlar tarafından oluşturulan yeni kemik ile yer değişimini içerir(44).

Osteoklastlar monosit hücre ailesinden olmasıyla diğer kemik hücrelerinden ayrılırlar. Spesifik hormonlar ve büyüme faktörlerinin etkisiyle kök hücreleri, osteoklast prekürsörlerine yönlendirilir. Osteoklast prekürsörleri kemik iliği ve kanda bulunabilirler. Mononükleer osteoklast prekürsörleri uyarıldıklarında çoğalırlar ve çok çekirdekli osteoklast forma dönüşürler. Tipik olarak osteoklastlar 3-20 çekirdekçik, çok sayıda mitokondri ve lizozom içerir. Normal kemikte nadiren bulunurlar ancak ara sıra

endosteal, havers ve periosteal yüzde bulunabilirler. Osteoklastlar subosteoklastik bölüm ya da howship lakünü denen bir yüzeysel çukur içerisinde yerleşmiştir. Aktive olduklarında resorbsiyon için gerekli enerjiyi karşılamak amacıyla sitoplazmanın büyük kısmı mitokondrilerle dolar. Osteoklastların belki de en önemli ayırt edici özelliği kemik matriksinin resorbsiyon alanında sitoplazmik membranın karmaşık bir şekilde katlanmış olmasıdır (kıvrımlı kenar bölge). Kıvrımlı kenar bölge kemik matriksinin yıkımında (degradasyon) kritik rol oynar ve hücre aktif olmadığı zaman kıvrımlı bölge gözükmeyen ve osteoklastlar dinlenme fazına girer. Bu bölgenin etrafında sitoplazmada organellerden yoksun berrak zon bulunur. Bu berrak zon katlanmış sitoplazmik membranın matriks boyunca hareket etmesine ve rezorbsiyon alanına bağlanmasına yardım eder. Katlanmış sitoplazmik membranın derinlerinde hücre içinde veziküller ve vakuoller bulunur. Bu veziküller ve vakuoller muhtemelen yıkıma uğramış (degrade) matriksin fragmanlarını içerir(40).

Osteoklastlar kemik matriksi parçalamak için gayet ustaca bir yol izler. Önce kemik yüzeyine bağlanırlar, kemik matriksi ile hücre arasında özel bir alan oluştururlar. Membrana bağlı proton pompası içeren endozomlar hücre sitoplazmik membranın çok katlantılı olduğu (brush border) kemiğe en yakın membrana bağlanır ve bu özel alana ph yı 7 den yaklaşık olarak 4 e düşürmek için proton pompalar. Bu asit ph kemik matriksini çözünebilir hale getirir. Geri kalan organik matriksi parçalamak için proteazlar salgılanır. Ek olarak osteoklastlar bazı matrix fragmanlarını fagosite ederek sitoplazma içerisinde parçalarlar(40).

Osteopetrozis, maligniteye bağlı hiperkalsemi, Paget hastalığı gibi birçok iskelet sistemini ilgilendiren hastalıklarda osteoklastların kemik rezorbsiyonundaki artış osteoblastların kemik yapımındaki dengeyi aşmıştır(48).



Tatsuo SUDA, Naoyuki TAKAHASHI. Contributions to osteoclast biology from Japan. Proc. Jpn. Acad., Ser. No. 10. B 84 (2008). 419-438

Şekil 2: Osteoklastların yapısı

II.3. Kemiklerin kanlanması

Uzun kemiklerin epifiz ve metafiz gibi uç kısımları, naviküler, lunat ve talus gibi belli kemikler çoğunluk olarak kansellöz kemiklerdir. Büyüme boyunca uzun kemiklerin kan dolaşımının düzenlenmesi birçok yönüyle olgunlaşmış uzun kemiklerden farklıdır. Bunun sebebi epifizin kendine has özel bir kan sirkülasyonunun olmasıdır. Ancak büyümenin durmasından sonra epifiz plağı kaybolur ve kanlanması diğer uzun kemiklerin son kısmındaki kansellöz bölgenin beslenmesi gibi olur(49).

Büyüme boyunca uzun kemik, kanlanması ile ilgili mutlak farklılıklar gösterir. Uzun kemiklerin ossifikasyonunun erken evresinde epifiz plağının metafiz tarafı besleyici arterin dallarıyla beslenir. Yeniden şekillenmeyle birlikte birçok dış kaynaklı damarlar buna dahil olurlar ve bu dallar daha sonra metafiziel damarlar adını alır. Bu yüzden epifiz plağının metafiziel tarafı besleyici arterin terminal dalları ve metafiziel

damarlarla beslenir. Büyüme plağının epifiziel tarafında kıkırdak kolonlar epifiziel arterin uç kapiller kıvrımlarıyla beslenir(49).

Matür kemikler kemik iliğini, hücreleri, periostu ve kemik hücrelerini besleyen özel bir vasküler sisteme sahiptir. Hatta yoğun kortikal kemik dokusundaki damarsal organizasyon hiç bir hücrenin 300 mikrometreden daha uzakta olmamasını garanti eder. Hastalık, yaralanma veya operasyon gibi durumlara bağlı kanlanmanın bozulması nekroza veya iyileşmenin bozulmasına neden olabilir(40).

Kas iskelet sistemi yaralanmalarının etkili tedavisi ve iyi bir operasyon planlanması kemik kanlanmasının iyi anlaşılmasını gerektirmektedir. Bu durum özellikle talus skafoid, tibia shaftı, femur başı gibi alanlarda yapılan cerrahi işlem veya yaralanmalarda kolaylıkla kanlanmanın bozulması açısından önemlidir. Kanlanmanın oranı kemik boyunca değişiklik gösterir ve kanlanmanın anatomisi her kemik için benzer özellikler gösterir(40).

Uzun kemiklerin kanlanması İki çeşit sistem vardır(40).

1)Periosteal-diafizial-fizial sistem.

2)Epifizial- fizial sistem.

Periosteal-diafizial-fizial sistem: Uzun kemiklerde Metafiz ve diafiz kanlanmasında üç kaynağa sahiptir(40).

- a) Besleyici arterler
- b) Epifiz ve metafize penetre olan arterler
- c) Periosteal arterler

Besleyici arterler diafizin içinden karşıdan karşıya geçer ve medullar kavitede proksimal ve distal dallara ayrılırlar. Besleyici arterin proksimal ve distal dalları, periosteal ve metafizial arterlerin birçok ince dalları ile birleşerek medullar arterial

sistemi oluştururlar. Normal şartlarda periost kaplı kemiklerin çoğunu medullar arterial sistem kanlandırır. Tendon, ligament ve interosseoz membranın kemiğe yapıştığı yerlerde bu durum geçerli değildir ve bu alanlarda periosteal damarlar korteksin üçte birlik dış kısmını kanlandırırlar. Periosteum aynı zamanda özel bir damarsal sisteme sahiptir. Periostun dış yüzeyinde fibröz katmanda damarsal bir ağ bulunur ve iskelet kası damarları ile birlikte, periost doku katmanındaki damarsal ağ ile anastomoz yapar. Çocuklarda doku katmanındaki damarlar iyi gelişmiş damarsal ağ biçimindedir ve kemiğe girerek kemik içi damarlarla birleşir. Yaşın ilerlemesi ile birlikte periostdaki damarların sayısı azalarak ve kemik kanlanmasına desteği azalabilmektedir. Bununla birlikte periosteal damarsal ağ hayat boyu kemik kanlanmasının önemli bir parçası olarak kalır. Bazı şartlar altında periosteal damarlar iskelet kaslarının kanlanması içinde önemli olabilir. Herhangi bir nedenle iskelet kası kanlanmasının azalması durumunda olasılıkla nekrozla sonuçlanacaktır. Eğer kası besleyen arter yetersiz fakat kas ile periost arasındaki damarsal bağlantılar sağlamsa kaslarda kan akımında belirgin azalma olmaz. Bu yüzden kas yaralanmalarında eğer kas periost kas bağlantısı sağlamsa iskemik harabiyet olasılığı daha azdır. Periosteumun bütün tabakalarının damarsal sistemi birbirleri ile ve iskelet kası damarsal sistemi ile bağlantılıdırlar. Metafize giren arterlerinde dahil olduğu, medullar vasküler sistem ve periosteal sistem arasındaki anastomoz, metafiz ve epifize kanlanma sağlar. Bu durum kemik veya yumuşak doku yaralanması veya cerrahi sonrası önem arz edebilir(40).

Epifizin kanlanması, periosteum, metafiz ve diafizin kanlanmasından daha istikrarsızdır. İskelet büyümesi esnasında bazen herhangi bir kan damarı fizise ait kıkırdak parçasına girerse fizisten ayrılır ve bu kan damarına bağımlı hale gelir. Fizis

hattının kapanmasından sonra vasküler kanallar fizis skarına penetre olur fakat bunun fonksiyonel önemi halen daha anlaşılamamıştır(40).

II.4. Kemik oluşmu

Memelilerde kemikler üç farklı kaynaktan gelişir(50).

- 1)Paraksiyal mezoderm tabakası
- 2)Lateral mezoderm tabakası
- 3)Nöral çıkıntı

Kemik oluşumu iki farklı şekilde gerçekleşir(50).

- 1) İntramembranöz kemik oluşumu
- 2) Enkondral kemik oluşumu

II.4.1. İntramembranöz kemikleşme

Enkondral kemikleşmeye karşı kemiğin intramembranöz oluşumunda kıkırdak oluşumu bulunmaz. Farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin bir araya toplanması intramembranöz kemikleşmeyi başlatmaktadır. Bu hücreler çoğunlukla kan damarı, fibroblast ve osteoprogenitör hücreler içeren gevşek organik matriks sentez ederler. İntramembranöz gelişimine örnek olarak kafatası ve pelvis kemikleri verilebilir(51).

İntramembranöz kemikleşme aşağıdaki sıra ile gerçekleşir(44).

- 1) Embriyonik mezenşim, damardan zengin bağ dokuya dönüşür. Kollajen lifleri içeren jelatinöz bir ekstrasellüler matrikse gömülü fibroblast benzeri mezenşim hücreleri bir araya gelir(44).
- 2) Mezenşim hücreleri osteoblastların tipik prizmatik şeklini alır ve kemik matriksi salgılamaya başlar. Birçok kemikleşme merkezi gelişir ve bu merkezler sonunda birleşerek süngere benzeyen ve dolayısıyla

süngerimsi kemik yada primer spongioz olarak adlandırılan anastomozlaşan trabeküllerin bir ağını oluşturlar(44).

- 3) Yeni oluşan trabeküllerde kollajen lifleri rastgele dağılım gösterdiğinden erken dönemdeki intramembranöz kemik, ağsı kemik olarak tanımlanır (daha sonra kemiğin yeniden şekillenmesi sırasında oluşan lameller kemiğin tersine olarak)(44).
- 4) Kalsiyum fosfat apozisyon ile uzanan kemik matriksinde depo edilir. İntersisyal kemik oluşumu gerçekleşmez(44).
- 5) Kemik matriksi mineralizasyonu, iki yeni gelişime öncülük eder. Trabeküllerin kalınlaşması ile osteoblastların osteositler şeklinde hapsedilmesi ve perivasküler kanalların kısmen kapanması ile mezenşim hücrelerinin kan yapıcı hücrelere dönüşmesi şeklindeki hematopoez olaylarında yeni görev üstlenmektedir(44).

Osteositler kanaliküller içindeki sitoplazmik uzantılarla birbirlerine bağlanırlar ve kan damarlarına komşu osteoprogenitör hücrelerden yeni osteoblastlar oluşur(44).

En son gerçekleşen gelişme olayları şu şekilde olur(44):

- 1) Ağsı kemiğin lamelli kemiğe dönüşmesi; Lamelli kemikte, yeni sentezlenen kollajen lifleri düzenli demetler oluşturmak üzere dizilirler. Havers kanalını dolduran merkezi bir kan damarı çevresinde konsantrik halkalar şeklinde düzenlenen lameller, osteonları veya havers sistemlerini oluştururlar. Membran kemikleri merkezde diploe adı verilen ve süngerimsi olarak kalan bir bölge içerir. Bu bölge, sıkı (kompakt) kemiğin dış ve iç membran tarafından kuşatılır(44).

- 2) Dış ve iç bağ dokusunun osteoprogenitör hücre potansiyeline sahip fuziform hücreler içeren periosteum ve endosteumu oluşturmak üzere yoğunlaşması(44).

II.4.2. Enkondral kemikleşme

Emrionik uzun kemik oluşumuna yol açan enkondral ossifikasyon, kartilaj matrix salan ve kondrositlere dönüşen diferansiye olmamış hücrelerin bir araya gelmesi ile oluşur(51). Ekstremitte kemikleri, omurga vertebraları ve pelvis kemikleri hyalin kıkırdak modelinden köken alır(44).

İntramembranöz kemikleşmede olduğu gibi, enkondral kemikleşme süresince primer kemikleşme merkezi oluşur. İntramembranöz kemikleşmeden farklı olarak bu kemikleşme merkezi, tip-2 kollajen içeren bir ekstrasellüler matriksi depolayan çoğalabilen kondrositlerden köken alır(44).

Kısa süre sonra, kıkırdağın merkez bölgesindeki kondrositler olgunlaşma sürecine girerler ve hipertrofik şekil alarak hipertrofik kondrositlerin bir belirteci olan tip 10 kollajen içeren bir matriks sentezlerler. Hipertrofik kondrositler tarafından salgılanan anjiojenik faktörler perikondriumdan kan damarlarının oluşumunu indükler. Osteoprogenitör ve hematopoetik hücreler yeni oluşan kan damarları ile ulaşır(44).

Bu olaylar primer kemikleşme merkezinin oluşumu ile sonuçlanır. Kıkırdak modelinin orta hattında matriksin kalsifikasyonu gerçekleşirken hipertrofik kondrositler apoptoza giderler(44).

Aynı zamanda içteki perikondrial hücreler osteogenik potansiyellerini gösterirler ve diafiz denilen kıkırdak modelin orta noktası çevresinde kemiğin ince bir periosteal halkası oluşur. Sonuçta, primer kemikleşme merkezi bir kemik tüpü içinde yerleşmiş

olur. İntramembranöz kemikleşmeyle periosteum altında oluşan periosteal halka, ağı kemik içerir(44).

Enkondral kemikleşmenin diğer basamakları şöyle gerçekleşir(44).

- 1) Daha önce hipertrofik kondrositler tarafından işgal edilen alanları ve onlara eşlik eden boşlukları kan damarları işgal eder, dallanır ve kemikleşme merkezinin her iki ucuna kadar uzanırlar. Ucu kapalı kapiller sonları kalsifiye olmuş kıkırdak içinde oluşan boşluklar içerisine uzanır(44).
- 2) Osteoprogenitör hücreler ve hematopoetik kök hücreler, yayılan kan damarlarının etrafını çeviren perivasküler bağ dokusu aracılığıyla kalsifiye kıkırdağın merkezine ulaşır. Daha sonra, osteoprogenitör hücreler osteoblastlara farklılaşır ve kalsifiye kıkırdak yüzeylerinde toplanarak kemik matriksi depolamaya başlar(44).
- 3) Gelişimin bu evresinde, hem periosteal halka hem de kıkırdak modelin iç bölgesindeki kemikleşme merkezini içeren primer kemikleşme merkezi diyafizde organize olur. Sekonder kemikleşme merkezleri daha sonra epifizlerde gelişir(44).

Kıkırdak modelin merkezi, kemikleşmenin eşit uzaklıktaki zonlarında kemikle yer değiştirirken uzun kemiklerin boyuna büyümesi hyalin kıkırdağın interstisyal büyümesini sağlar(44).

II.4.3. İkincil kemikleşme merkezleri ve epifiz büyüme plağı

Buraya kadar fötal yaşamın üçüncü ayına kadar gerçekleşen uzun kemiklerin diyafizinde primer kemikleşme merkezlerinin gelişimini inceledik(44).

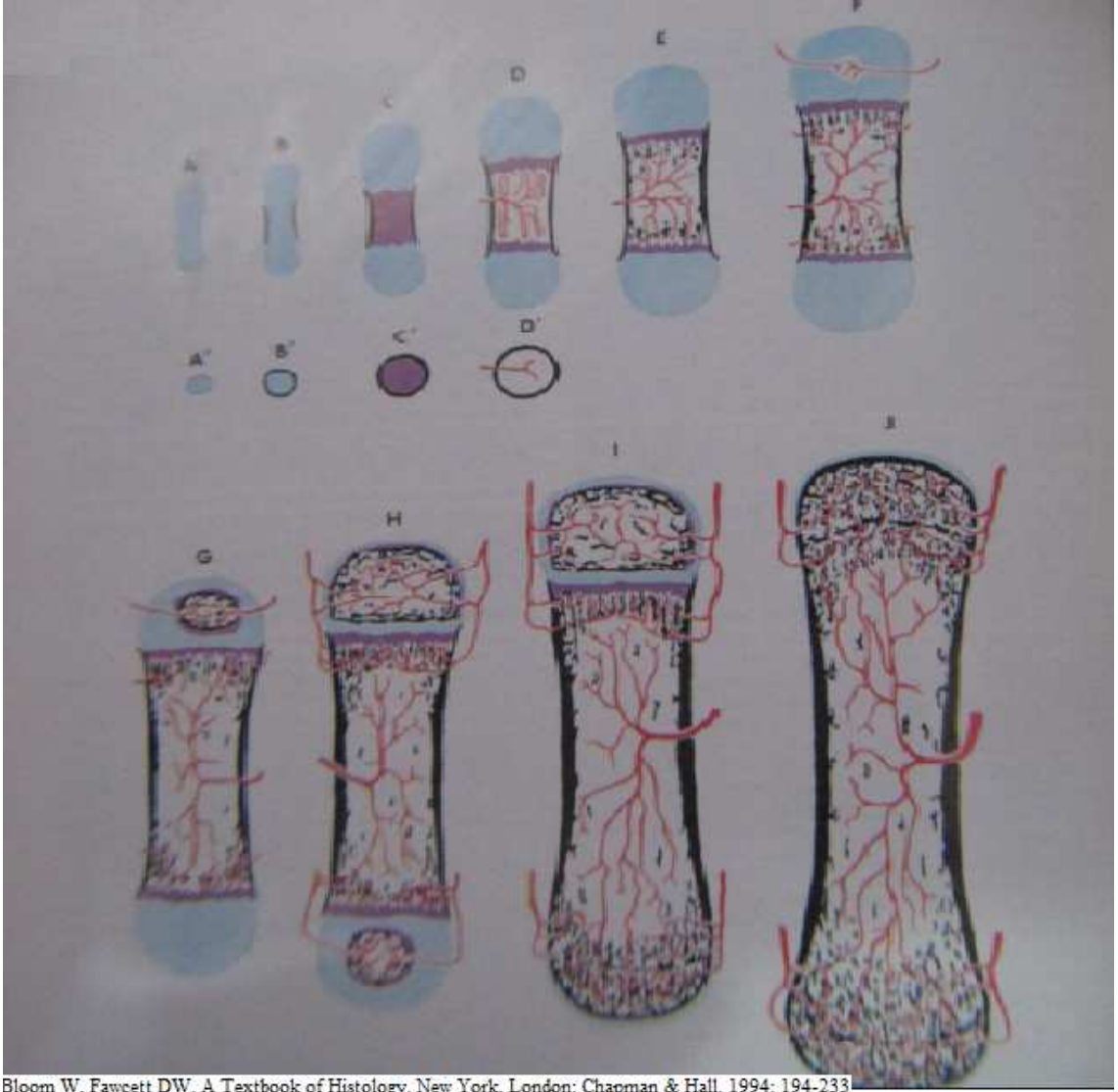
Doğumdan sonra epifizlerde, sekonder kemikleşme merkezleri gelişir. Diyafizde olduğu gibi, hipertrofik kondrositler tarafından işgal edilen boşluklar, kan damarları ve perikondriumdan gelen osteoprogenitör hücreler tarafından kaplanır. Epifizlere ait hyalin kıkırdağın eklem kıkırdağı ve epifizler ile diafizler arasında yerleşen ince bir disk şeklindeki epifiz büyüme plağı dışında kalan büyük bir bölümü süngerimsi kemikle yer değiştirir. Daha sonraları, epifiz büyüme plağı, kemiğin daha sonra boyuna büyümesinden sorumludur(44).

II.4.4. Apositional kemik oluşumu

Apozisyonel oluşum periostun gelişimi boyunca kemik oluşumu ve yeniden şekillenmesi boyunca gerçekleşir. Apozisyonel formasyon endokondral veya intramembranöz kemik büyümesi gibi değildir kemik yüzeyi boyunca osteoblastların dizilimine göre olur. Hücreler kemik lamellası şeklinde birbirini izleyen tabakalar şeklinde osteoid matriks sentezler. İskeletin büyümesi ve gelişmesi esnasında periosteum endokondral veya intramembranöz kemikleşme ile ilk oluşan ossifikasyondan hemen sonra primitif kemik çevresini sarar. Daha sonra periosteal osteoblastlar yeni osteoid sentezi ile kemik yüzeyine yeni kemik ekler ve kemik katman katman genişler. Böylece kemik oluşumu boyunca kemiğin yeniden şekillenme döneminde osteoblastlar osteoklastlar tarafından rezorbe edilen alana osteoid katman veya katmanlar salgılar(51).

II.4.5. Kemikte şekillenme ve yeniden şekillenme

Kemik şeklinin oluşmasına modelasyon, kemik şeklinin değişmeden yıkılıp tekrar yapılmasına (kemik turnover) remodelasyon denilmektedir. Bu fonksiyonlara uygun farklı kemik şekillerinin oluşması için gereklidir(51). Her yıl tüm kemik dokusunun %5-10 u, kortikal kemiğin %5 i trabeküler kemiğin %20 si remodelasyon aracılığıyla yenilenmektedir(52).



Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology. New York, London: Chapman & Hall, 1994: 194-233

Şekil 3: Uzun kemiğin gelişimini gösteren diagram

II.5. Kemik kırıkları

Dıştan veya içten gelen zorlamaların direkt veya indirekt etkisi ile kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir(2).

Kemik kırıkları tam veya tam olmayan, basit ya da parçalı, açık veya kapalı olabilir. Parçalı kırıklar ikiden fazla kemik fragmanının olduğu kırıkları, açık kırıklar ise derinin de bütünlüğünün bozulduğu kırıkları içerir(53).

Bazı kırıklar konservatif tedavi edilirken halen bir çok kırık tedavisi cerrahi tedavi gerektirmektedir. Kırığın tespit edilmesinde temel amaç, kırık kemiği sabitlemek, yaralanan kemiği olabildiğince hızlı iyileştirmek ve yaralanan ekstremitenin tüm fonksiyonlarını geri getirip en erken mobilizasyonu sağlamaktır(53).

II.5.1.Kemik kırık tipleri

1) Kırığı oluşturan zorlamaya göre(2)

- a) Direkt zorlama ile oluşan kırıklar
- b) İndirekt zorlama ile oluşan kırıklar

Direkt zorlama ile oluşan kırıklar daha çok parçalı ve açık kırık şeklinde olurlar. İndirekt kırıklarda travma kırık, kırık eksenine paralel veya bu yönde yüklenen zorlamalarla kemiğin çekilmesi sıkıştırılması veya eğilmesi sonucu kuvvetin en çok yüklendiği veya kemiğin zorlamaya karşı koyamadığı en zayıf yerden kırılmasıdır(2).

2) Kemik doku sağlamlığına göre(2).

- a) Normal kırık
- b) Patolojik kırık
- c) Stres kırığı

3) Kırık çizgisine göre(2).

- a) Transvers kırıklar
- b) Oblik kırıklar
- c) Spiral kırıklar
- d) Avulsion kırığı
- e) Parçalı kırıklar

4) Kırık sayısına göre(2).

- a) Tek kırık çizgisi

b) Multipl kırık çizgisi

5) Kırık derecesine göre(2).

a) Tam ayrılmış kırık

- Transvers kırıklar
- Oblik kırıklar
- Spiral kırıklar
- Parçalı kırıklar

b) Tam olmayan kırıklar

- Fissür tarzı kırıklar
- Yeşil ağaç kırıkları
- Çökme tarzı kırıklar
- Kompresyon kırığı
- İmpakte kırıklar
- Epifiz ayrılması

6) Kemiğin anatomik bölgesine göre(2).

a) Distal bölge kırıkları

b) Kemik shaftı kırıkları

c) Proksimal bölge kırıkları

d) Epifiz bölgesi kırıkları

e) Özel yerleşme yerlerindeki kırıklar (kondil, suprakondiler bölge, malleol, subtrokhanterik..gibi)

f) Çıkıklı kırıklar

- 7) Kemiğin histolojik yapısına göre(2).
 - a) Spongioz bölge kırıkları
 - b) Kortikal bölge kırıkları
- 8) Kırığın dış ortamla ilişkisine göre(2).
 - a) Açık kırıklar
 - b) Kapalı kırıklar

II.6. Kırık iyileşmesi

Kırık iyileşmesi yaralanmaya karşı başlatılan karmaşık ve çok iyi organize olan, optimal tamir ve iskelet fonksiyonunun yeniden kazanıldığı bir tamir sürecidir. Birçok hücre tipinin olaya katılması ile embriyolojik gelişim sürecinin özeti gibidir. Kırık iyileşmesine o bölgeye ait korteks, periost, kemik iliği, yumuşak dokular dahil olurlar(5). Diğer dokulardan farklı olarak, kemiğin skar dokusu bırakmadan şekil ve fonksiyonel açıdan orijinal haline en yakın şekilde kendini tamir etmesiyle oluşur(6). Kırık iyileşmesi karmaşık bir süreçtir. Bu süreç kemik iliğindeki hematopoetik ve immun hücrelerle birlikte doku çevresindeki dolaşımdan katılan mezenşimal hücrelerinde dahil olduğu vasküler kaynaklı hücreler katılır. Bu biyolojik reaksiyonlar zinciri, osteoblast ve kondroblast soylarının, farklı alanlarda, migrasyon, proliferasyon, kemotaksis, diferansiasyon. İnhibisyon ve ekstrasellüler protein sentezi gibi birçok faktörü etkilemesiyle düzenlenir(5).

Klasik anlamda kırık iyileşmesi histolojik olarak ikiye ayrılır(5).

- 1) Primer kemik iyileşmesi
- 2) Sekonder kemik iyileşmesi

II.6.1.Primer kemik iyileşmesi

Primer kemik iyileşmesi çok iyi anatomik redüksiyon veya stabil tespitten sonra görülen iyileşmedir. Bundaki temel kriter eksternal kallus gelişiminin görülmemesi ve dar olan kırık çizgisinin giderek kaybolmasıdır(54). Bu süreç korteksler aracılığıyla yeni haversien sisteminin direkt olarak oluşturulması ile oluşmaktadır. Burada kesik koni (cutting cones) olarak bilinen yeniden şekillenen ünitenin mekanik dayanıklılığı sağlamak için oluşumu ile olur. Vasküler endotelial hücreler ve perivasküler mezenşimal hücreler osteoblastların oluşması için osteoprogenitör hücreleri oluştururlar(5).

İnternal fiksasyon yapılan çocuklarda primer kemik iyileşmesi yetişkinlerden biraz farklıdır. Periosteal kemik yapımı daha hızlı olur ve plak kısa zamanda kemikle örtülebilir. Bu kallus irritasyon kallusu denilen sağlam bir kallusdur. Bu kallus iyileşme olayına mekanik olarak destek olur ve böylece kombine ve güçlü bir kallus gelişir. Çocuklarda internal fiksasyon sonrası ve özellikle intramedüller çivi uygulaması sonrası kemikte uzunlamasına aşırı büyüme görülebilen bir komplikasyondur. Mekanizma olarak vida veya intramedüller çivilerin medüller kan akımına engel olarak epifiz plakları yakınında kollateral hiperemiye neden olarak uzunlamasına büyümeyi hızlandırdığı kabul edilmektedir(54).

Eğer kırık uçları tam olarak birbirine temas etmez, arada ortalama 200 ila 500µm, en fazla 1000µm aralık kalırsa, ancak bölgede tam bir stabilizasyon sağlanabilirse, burada “gap healing” adı verilen bir iyileşme gözlenir. Gap healing denilen bu iyileşme şeklinde kırık uçları arasında kalan boşlukta ağsı kemik oluşmaz ve direkt kortikal yapılanma gözlenir. Bu kemikleşmede bağ dokusu ya da fibrokartilaj olmaksızın lameller yeni kemik yapımı meydana gelir. Oluşan bu yeni kemik, korteksin

yapısıyla tam olarak aynı yapıda değildir. Bu nedenle rezorpsiyon kavitelerinin oluşmasıyla kırık alanında havers sistemi ile uzunlamasına yeniden bir yapılanma gözlenir ve kemik son şeklini alır. Gap healing yaklaşık olarak 4 ila 6 hafta sürer. İntramembranöz kemik oluşumu ile kortikal tabakaların doğrudan yeniden şekillenmesi gerçekleşir(55).

Primer kırık iyileşmesini, fragmanlar arası açıklığın fazla olması, kompresyonun aşırı olması ve revaskülarizasyonun gecikmesi gibi nedenlerden dolayı kötü yönde etkilenmektedir(54).

II.6.2. Sekonder kemik iyileşmesi

Kırık iyileşmesinin bir çoğu sekonder kırık iyileşmesi ile oluşmaktadır. Sekonder kemik iyileşmesi intramembranöz ve endokondral ossifikasyonun kallus oluşumunu izleyen bir kombinasyonudur. Genellikle tam olmayan fiksasyon veya kırık uçlarının oynamasına bağlı oluşur(5).

Kırık iyileşmesi inflamasyon, onarım ve remodelasyon dönemi olarak üç döneme ayrılır(8,6). Bu süreçlerin sınırları kesin sınırlarla birbirinden ayrı değildir. Bu dönemleri daha ayrıntılı olarak hematoma oluşumu, inflamasyon-angiogenez-yumuşak ve sert kallus gelişimi-remodelasyon şeklinde ayırabiliriz(7).

II.6.3. İnflamasyon dönemi

Bu dönem kırık hematoma oluşumu ve organizasyonunun başlangıç dönemidir. İlk üç veya dört günlük zaman dilimini kapsar(54).

Kemiğin kırılması sadece hücreler, kan damarları, kemik matriksinde değil, beraberinde kas ve periosteumda içine alan çevredeki yumuşak dokularda da hasara neden olur. Bununla birlikte kırık uçları arasında hematoma birikir. Bu birikim periostun

kalkmasına neden olur. Bu hematoma kırık uçları arasında, periost altında, periost yırtılmışsa sağlam yumuşak dokular tarafından çevrelenir. Bu hematoma kırık uçlarını ilk aşamada bir arada tutan bir köprü görevini görür. Kırık hematoma kırık iyileşmesinde son derece önemli vazife görür. Kırık hematoma'nun dışarı boşalması klasik kırık iyileşmesinde bazı sorunlara neden olabilmektedir(54).

Trombositler, ölü ve yaralanmış hücrelerden salınan inflamatuvar mediatörler arterioller, venüller ve kapiller de vazodilatasyona neden olurlar. Kapiller membran geçirgenliği artar. Bu olaylar ise kırık bölgesinde akut doku ödeme'ne neden olurlar. Pıhtılaşma mekanizması ilk 24 saat içinde aktive olarak kırık bölgesinde kanama durur(54).

Kırık bölgesinde şişlik ve iskemi sonucunda bu bölgedeki beslenme bozulur. Ve kemik hücreleri ölmeye başlar. Kırık uçları arasında 1-5 mm nekrotik alan vardır. Nekrotik kemik uçları çevre dokularada inflamatuvar bir yanıt oluşturur ve bunun sonucunda önce polimorf çekirdekli hücreler daha sonra makrofajlar ve lenfositler olmak üzere kırık bölgesine göç ederler. Bu hücreler aynı zamanda sitokinler salgılayarak da anjiogenezisi uyarırlar. İnflamatuvar hücreler nekrotik dokuları rezorbe ederler ve sonrasında fibroblastlar bölgeye göç ederler(54).

III.6.4. Onarım dönemi

Hemen hemen tüm kırıklarda inflamasyon dönemi büyük benzerlik göstermesine rağmen, kırıkların onarım hızı ve türü değişiklikler gösterebilir. Buda kırığın görüldüğü anatomik bölgelere, çevre yumuşak doku hasarının düzeyi gibi değişkenlere bağlıdır. Kırığın mekanik stabilitesi de onarım üzerine etkilidir(54).

Kırık hematoma'nun organizasyonu onarım döneminin ilk aşamasını oluşturur. Kırık hematoma ve bunu çevreleyen sağlam periosteal yumuşak doku kılıfının onarım

döneminin başlangıcında oldukça önemlidir. Hematomun kırık iyileşmesini etkilemesi olayı henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Belkide kırık hematomu bir fibrin ağ oluşturarak, onarım hücrelerinin göçüne neden olmaktadır. Bunun yanında kırık hematomundaki trombositler ve diğer hücrelerden kırık iyileşmesinin önemli aşamalarını yöneten büyüme faktörleri ve diğer proteinler salınmaktadır(54).

Hematom organize olurken kırık bölgesinde PH düşük olur. Onarım ilerledikçe ortam önce nötral sonra alkali hale gelir. PH yükselmiş bir ortamda alkalen fosfataz enziminin aktivitesi ve kırık kallusun mineralizasyonu optimal düzeydedir(54).

Kırık bölgesinde nekrotik olan uçlar rezorbe edilir ve bu radyolojik olarak bazı kırıklarda bu alan boşluk olarak görülür ve bundan osteoklastlar sorumludur(54).

Kırık iyileşmesinde çok yönlü farklılaşma özelliğine sahip hücreler kırık bölgesinde oluşan fibröz doku, kırıkta ve kemik doku yapımını sağlayan hücrelerin kaynağını oluşturur. Bu hücreler kırık bölgesinde çoğalarak ve değişik hücrelere farklılaşarak kırık kallusunu oluşturur(54).

Kırık kallusu iyileşmenin ilk aşamasında önce fibröz sonra kırıkta yapıdadır ve yumuşak kallus adını alır. Daha sonra bu doku yeni kemik oluşumuyla ve mineralizasyonla birlikte sert kallus adını alır. Fibröz kallus glikozaminglikanlar, proteoglikanlar, tip I ve tip III kollajenler içerir. Kırıkta kallusda ise tip II kollajen daha hakimdir. Alkalen fosfataz düzeyindeki yükselme kırıkta kallus hücrelerinin mineralizasyona hazır olduğunun bir göstergesidir. Kemik kallusda ise tip I kollajen, alkalen fosfataz ve kemiğe özgü proteinlerin konsantrasyonu daha yüksektir(54).

II.6.5. Remodelasyon dönemi

Remodelasyon döneminde kemik orijinal şeklini almaya başlar. Fazla kallus dokusu rezorbe edilir. Medullar kanal giderek şekillenir. Örgü şeklindeki kemik (woven) rezorbe olarak yeni lameller kemik gelişir(54).

Örgü şeklindeki kemik (woven), osteoklastların rezorbsiyonu osteoblastların kemik yapımının düzenlenmesiyle daha güçlü olan lameller kemiğe geçiş yapar. Ekstrasellüler matriks oluşumu bakımından inflamatuvar dönemde tip 3 kollajen baskındır kırıkdağın hakim olduğu dönemde tip 2 kollajen, ossifikasyon ve remodeling döneminde tip 1 kollajen üretimi hakimdir. Kırıkdağ oluşumu süresince tip 9 kollajen salınımı, tip 2 kollajen salınımı ile rastlaşmaktadır. Tip 10 kollajen enkondral ossifikasyon boyunca hipertrofik kondrositlerin içinde bir miktar bulunur. Osteonektin iyileşme döneminde genelde her safhasında bulunur ve hızlı yeni kemik oluşumu boyunca en yüksek seviyelere ulaşır(56).

Kırık iyileşmesinde 5 kural vardır(54):

- 1) Periosteal ve endosteal kal formasyonu ve interfragmanter fibrokartilaj farklılaşması sonucu interfragmanter stabilizasyon.
- 2) İntramembranöz ve enkondral ossifikasyon ve onarımın devamı.
- 3) Avasküler ve nekrotik bölgeler yerine haversian sistemin yer alması.
Eksen kusurları şu yöntemlerle düzeltilir.
- 4) Kırığın şekillenmesi
- 5) Fonksiyonel uyum.

II.7. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler

II.7.1. Travmanın derecesi ve etkisi

Büyük yumuşak doku yaralanmaları, kemik ve yumuşak doku kaybı ile olan kötü kırıklar kırık iyileşmesinde olumsuz etkilere sebep olur. Bunun nedeni artan nekrotik doku miktarının, çok yönlü farklılaşma potansiyeline sahip mezenşimal hücre göçüne ve vasküler invazyona engel olmasıdır(54).

II.7.2. Kan akımının zarar görmesi

Kırık uçları arasında kırık hematomundan granülasyon dokusu ve kallus gelişiminin kırık bölgesine gelen kan damarlarıyla olduğu bilinmektedir. Bu kan damarı ve kan dolanımının bozulması kırık iyileşmesini bozan nedenlerdendir. Kırık uçlarının birbirinden uzak olmasında da kırık iyileşmesini güçleştiren nedenin temelinde kanla beslenmenin bozulması gelir. Bunun yanında aşırı cerrahi diseksiyon da kırık bölgesinde kan akımını bozar(54).

Besleyici damarların kemik kırılması anında zedelenecek veya kesintiye uğrayarak, kırılan kemiğin damarlanması bozulur bunun sonucu kırık kaynaması bozulur(54).

II.7.3. Kırığın karakteri

Kırık uçları birbirinden ayrılmamış olan kırıklar daha çabuk, ayrı olanlar daha geç iyileşir(54).

Nondeplase veya minimal deplase oblik ve spiral kırıklar transvers kırıklara göre daha hızlı kaynarlar, çünkü spiral ve oblik kırıklarda her iki fragmanın daha eğri ve geniş olan kırık yüzeylerindeki damarlanma kırık iyileşmesine yardım eder, transvers kırıklarda damarlanma aynı düzeyde kesilmiştir(54).

Açık kırıklar kırık hematoma kaybı, yumuşak doku yaralanması ve vaskülarizasyonun azalması enfeksiyon gibi nedenlerden dolayı kırık kaynaması daha sorunludur(54).

Eklem içini ilgilendiren kırıklarda içinde enzimler barındıran sinovial kırık kallusunun matriksini bozar. Ayrıca eklem hareketi ve yüklenme nedeniyle kırık uçları arasında hareketlenmelere neden olur buda kırık kaynamasını olumsuz etkiler. Bundan dolayı eklem içini ilgilendiren kırıklarda rijit internal fiksasyon tercih edilmelidir(54).

II.7.4. Kırığın tedavisi ile ilgili faktörler

Kırığın redüksiyonu sonrası alçı traksiyon, eksternal veya internal fiksasyon ile stabilize edilmesi, onarım dokusunun tekrarlayan hasar görmesini engeller. Yetersiz redüksiyona bağlı kırık uçları arasında boşluğun fazla olması durumunda kallus dokusunun kemik dokuya dönüşümü uzar veya hiç olmaz(54).

Redüksiyon ve manüplasyon denemelerinin uzaması, kırık uçları arasında granülasyon dokusunu ve fibrin yapıyı bozarak onarımı zorlaştırır(54).

II.7.5. Kemığın yapısına ait faktörler

Spongioz ve kortikal kırıkların iyileşmesi, yüzey alan farklılıkları, hücresel zenginlik ve vaskülarite gibi nedenlerden dolayı farklılık gösterir. Spongioz kemik uçları kortikal kemiğe oranla daha hızlı kaynar(54).

II.7.6. Primer veya sekonder kemik patolojileri

Kemığın lokal malign tümörleri, enfeksiyon, malign olmayan kemik lezyonları, paget hastalığı, raşitizm, anemi kronik hastalıklar kırık iyileşmesini kötü yönde etkiler(54).

II.7.7. Yaş

Yaş kırık iyileşmesinde doğrudan etkiye sahiptir. Çocuklarda damarlanma ve mezenşimal hücre farklılaşması çok hızlı olduğundan kırık iyileşmesi erişkinlere göre çok daha iyidir. Erişkinlerde yaşa bağlı kırık iyileşmesinde çok fazla farklılıklar yoktur(54).

II.7.8. Eşlik eden hastalıklar

Metabolik hastalıklar, maligniteler, kan hastalıkları, sistemik enfeksiyonlar, diyabet, anemi ve diğer kronik hastalıklar çeşitli nedenlerden dolayı kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir(54).

II.7.9. Beslenme

Kırık iyileşmesi esnasında metabolik gereksinimler, kollajen, proteoglikan ve diğer makro moleküllere ihtiyaç artmaktadır. Bunların sentezi için protein ve karbonhidrat gereksinimi doğar. Buda beslenme ile sağlanmaktadır. Bu nedenlerle travmalı hastanın tedavisine nutrisyonel destek mutlaka eklenmelidir(57).

II.7.10. Dışarıdan alınan ilaçlar ve kimyasallar

Kortikosteroidler mezenşimal hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını inhibe ederek ve kemik organik matriksinin sentezini bozarak kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etki gösterirler(54).

Büyüme hormonu osteoblastlar üzerindeki reseptörler aracılığıyla direkt, karaciğerden somatomedin salınışını artırarak indirekt bir şekilde kemik üzerine etkileri mevcuttur. Kırık iyileşmesi üzerine çeşitli görüşler mevcuttur. Bir kısım çalışmalar büyüme hormonu eksikliğinin kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri olduğunu diğer kısım çalışmalar normal sapmaların kırık iyileşmesi üzerine çok az etkisi olduğunu bildirmiştir(54).

Nikotinin kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkisi bulunmaktadır. Tavşanlarda tibial osteotomi sonrası nikotin verilen grupta kırık iyileşmesi çok daha yavaş gelişmiş ve nonunion daha fazla olduğu bildirilmiştir(58).

D vitamini, tiroksin, anabolik, steroidler in kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi varken parathormon, heparin, analjezik antiinflamatuvar ilaçların olumsuz etkisi mevcuttur, östrojenin herhangi bir etkisinin olmadığı savunulmuştur(54).

II.7.11. Mekanik uyarının etkileri

Ekstremiteye kontrollü bir şekilde yük vermenin kırık iyileşmesi üzerine etkileri hakkında birçok araştırma yapılmıştır. Femur kırık modelinde yük vermenin kemik kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Tibia kırık modelinde oluşturulan kortikal defektde yük vermenin kemik tamiri sürecinde kemik yapımını olumlu etkilediği gösterilmiştir. Unilateral eksternal fiksator ile tedavi edilen tibia kırıklarında kontrollü yük vermenin iyileşme üzerine olumlu etkilerini bildirmişlerdir(59,60,9).

II.7.12. Elektriksel uyarı

Normal canlı kemikte metabolik aktivite sonucu, sürekli direkt akım, mekanik deformasyon sonucu ise zaman bağımlı elektrik alanı zaten vardır. Elektriksel alan hücre proliferasyon ve sentez fonksiyonunu hızlandırarak kaynamayı olumlu etkiler. Normalde diyafizin elektrik yükü pozitif olduğu halde kırık durumunda negatifleşir. Bu nedenle kırık yerinin katod elektrot ile yani negatif elektrik ile stümlü edilmesi benimsenmiştir. Kırık yerine negatif elektrot cilt üzerine pozitif elektrot yerleştirilerek dışarıdan bir stümlatör aracılığıyla elektrik akımı yüklemekle kırık yerinde konsolidasyon gelişir(54).

Elektrik alan tedavisi üç ana başlık altında incelenir(54).

- Devamlı direkt akım
- Zaman değişkenli indüktif direkt akım
- Zaman değişkenli kapasitif darbeleri akım

II.7.13. Ultrasound

Yapılan deneysel çalışmalarda ultrasonun kırık iyileşmesini hızlandırdığı göstermekle birlikte bu konuda çok sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu da belirtilmiştir(10,11,12).

II.7.14. Kemik grefti

Taze damarsız kemik otogreftleri yeni kemiği doğrudan oluşturacak hücreleri ve bunun yanında bazı büyüme faktörlerini içerir. Spongios otogreftler kırık iyileşmesi simülasyonundan, kortikal otogreftler ise mekanik destekten sorumludurlar. En iyi sonucu küçük spongiyöz kemik greftleri verirler. Damarlı greftler ise beslenme açısından daha şanslıdırlar. Taze allogreftlerin canlı hücre bulundurma şansı vardır ancak konak için antijenik olabilirler. Taze dondurulmuş, iradiye edilmiş ve korunmuş allogreftler ise hücre içermezler, ancak matriksleri osteoindüktif olabilir. Otogreftlerin allogreftlerden daha üstün olduğu daima göz önünde bulundurulmalıdır(54).

II.7.15. Diğer bazı etkenler

Günde 2 saat 2-3 atmosferik oksijen uygulaması kırık iyileşmesini sitümüle ederken, fazlasının olumsuz etkilerinin olabileceği bildirilmiştir(54).

Düşük kuvvette lazer irradyasyonunun hayvan deneylerinde morfolojik, biyokimyasal, radyolojik ve ultra strüktürel olarak kırık iyileşmesi üzerine hızlandırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir(54).

Rekombinant DNA teknolojisinde içeren modern laboratuvar teknikleri ile geçmiş yıllarda pek çok kemik büyüme faktörleri izole edilmiştir. Büyüme faktörleri polipeptid yapıdadır. Büyüme faktörleri kırık hattındaki mezenkimal kök hücrelerinin migrasyon, proliferasyon ve farklılaşmalarını sağlarlar. Bunu otokrin, parakrin ve endokrin etkileşimlerle hedef hücrelerdeki reseptörlerine bağlanarak etki ederler(61).

Ekstremitte denervasyonu kırık iyileşmesini geciktirir(54).

II.8. Likenler

Yaklaşık 400 milyon yıl öncesinden beri var olduğu bilinen likenler, halen yaşayan en yaşlı ve en uzun ömürlü canlılar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. *Hypogymnia physodes* gibi bazı özel türlerin en az 25 milyon yıldır bulunduğu düşünülmekte hatta bu rakamın 70 milyon yıl olabileceğine inanılmaktadır(62-67,20). Bu üstün yaşam mukavemeti pek çok bilim adamının ilgisini çekmiş, yaşlanmanın önlenmesinde likenlerin kullanılabilceği düşünülmüştür(68). Bilindiği gibi Lokman hekimin ölüme çare bulduğu rivayet edilmektedir. Bundan yola çıkarak, Aslan A. ve arkadaşları gibi yıllardır likenler konusunda çalışmalar yapan bazı Türk likenologları; rivayet edilen bu bitkilerin likenler olduğuna inanmaktadırlar.

Liken kelimesi ilk defa M.Ö. IV yüzyılda Yunanlı bilim adamı Theophrastus tarafından kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda liken olarak adlandırılan bitkilerin gerçekte liken olmayıp bu terimin “ciğer otları” için kullanıldığı anlaşılmıştır. Likenler önceleri bir tek bitki olarak biliniyordu. Schwender ve Trebox’un yaptığı çalışmalar sonucu likenlerin mantarlar ile alglerin birleşerek morfolojik ve fizyolojik bir bütün halinde meydana getirdikleri ortak yaşamlı (simbiyotik) bitkiler oldukları açıklanmıştır(69).

Likenler tanım olarak, bir mikobiyont olarak anılan fungal ortak ile bir ya da daha fazla sayıda alg ya da siyanobakteri olabilen ve fotobiyont olarak anılan fotosentetik ortak ile oluşan simbiyotik organizmalardır(20). Şekil ve yaşayış bakımından kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler. Renksiz bir mantar hifinden oluşan tallusun yapısına katılan fotosentetik canlı (fotobiyont), genellikle yeşil alg ya da bir cyanobakteridir; fakat bazı sarı-yeşil alglerden ve kahverengi alglerden de oluştukları bilinir. En çok Cyanophyta ve Chlorophyta'ya ait cinsler ve Xanthophyta ve Phaeophyta'dan bazı alg türleri görülür. Mantarlarda ise genellikle Ascomycetes ve az olarak Basidiomycetes'e ait cinslerdir(25).

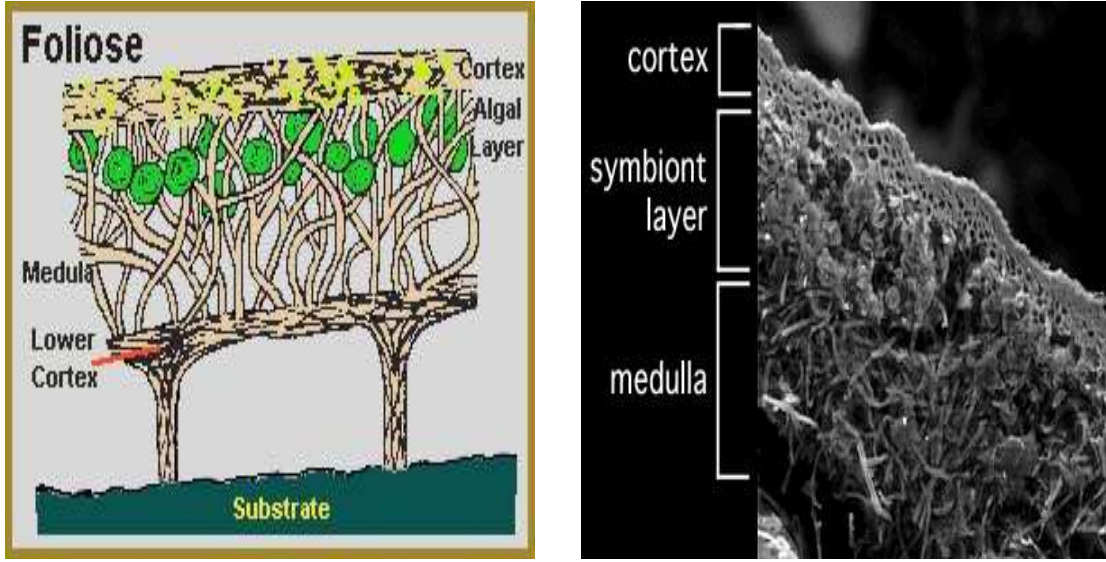
Günümüzde likenlerin ikili yapısı büyük ölçüde biliniyor olmasının yanı sıra, bazı likenlerin üç ya da daha fazla ortak içeren simbiyotik canlılar olduğu da bilinmektedir(20). Alg ve mantarın birbirleri ile birleşmeleri farklı şekillerde olabilir. Eğer alg ve mantar dağılımı homojen şekildeyse bu likenler; "Homeomerik liken", heterojen bir dağılım varsa "Heteromerik liken" olarak isimlendirilirler(70).

Önceleri mantarın klorofil içermemesi nedeniyle bir parazit gibi alglerden yararlandığı düşünülmesine karşın daha sonraları bu açıklama önemini yitirmiştir. Mantar ortak yaşam içinde alg'in fotosentez yapabilmesi için ortamdan su ve suda erimiş mineral maddeleri, hifleri yardımı ile tespit etmektedir(69).

Likenleri oluşturan alg ve mantarlar (funguslar) arasında bazı fizyolojik iş bölümleri vardır. Funguslar, kendi karbohidratını üretemez, alg ve cyanobakterilerden hazır olarak alırlar. Bunlar da ekosistem için çalışır ve fungus için glukoz üretirler. Simbiyotik organizmalardan alg, klorofil taşıdığından fotosentez yapar ve birliğin karbohidrat gereksinimini karşılar. Mantar ise su ve madensel maddelerin alınmasında görev alır. Likenlerde metabolik aktivite su, ısı ve ışıkla değişkenlik gösterir. Su

içeriği %65–90 arasında olduğunda fotosentez oranı artar, 15–20°C fotosentez için en uygun sıcaklıktır. Depo maddesi olarak nişasta bulunur(70,25). İki organizma da tek başlarına yaşayamayacakları yerlerde beraber kolonize olup yaşayabilirler(20). (Şekil 4).

Tallus alg hücrelerinin mantar hifleri arasına homojen ya da tabaka halinde yerleşimi ile meydana gelmektedir. Bu simbiyoz yaşam örneğinde üreme daha çok tallustan oluşan vejetatif üreme birimleri ile olmakta, eşeyli üreme sadece mantar üyelerinde görülmektedir(69).



Şekil 4: Likenlerin simbiyont yapıları

Temiz hava olmak şartıyla, likenler içerisinde kısa ömürlü olan türler genellikle nadir bulunmaktadır. Günümüzde çevre kirliliği, küresel ısınma, ozon tabakasının delinmesi vb. çevre sorunları dikkate alındığında likenlerin yaşam ömrü azalmış olsa da, likenler uygun şartlar altında (temiz hava, yeterli nem ve ışık vb.) yine de 1000 yıldan fazla hayatta kalabilirler. Mezar taşları ve bazı tarihi eser anıtların yaşları ile heyelan ve depremlerin meydana geliş tarihleri likenler incelenerek belirlenebilir(71). Likenlerde yıllık büyüme bir veya birkaç milimetreden bir kaç santimetreye kadar değişir. Daha hızlı büyüyen türler biokütlelerini yılda %20–40 artırabilirler ve özellikle siyanolikenler

baskınsa, buldukları ekosistemin mineral döngüsünde önemli bir rol oynayabilirler(62,63,65,66,20).

Likenler, Dünyanın hemen her yerinde yayılış gösterirler. Yeterli nemin bulunduğu kızılgın çöllerde, Arktik ve Antartik bölgeler ile yüksek dağların dondurucu soğuklarında diğer bitkilerin yaşayamadığı taşlar, verimsiz topraklar, kuru ağaç kabukları ve kiremitler üzerinde dahi yetişebilmektedirler(20,21).

Dünya üzerindeki toprak ototrofları içerisinde likenler minyatür olarak ilginç varyasyonlar gösterirler. Renk olarak fantastik bir turuncu, sarı, kırmızı, yeşil, gri, kahverengi ve siyah, ihtişamlarını sergilemektedir. Ebat olarak 1mm² ağaç dallarında 2 metreye kadar sarkan, uzun, asılı formlar olmak üzere değişik boyutlarda bulunabilirler. Ağaçlar ve diğer bitkiler üzerinde epifit (yalnız konum ve destek sağlamak için başka bitki üzerinde gelişen bitki) olmalarının yanı sıra, çıplak toprak ve kaya yüzeylerinde de sıkça kolonize olurlar. Kayalar üzerinde en açık likenler yüzeyde epilitik (topluluklar hâlinde taş ya da kayalar üzerinde yaşayan algler) olarak ortaya çıkarlar ancak diğerleri kaya yüzeyine gömülü yani endolitiktir (asit salgılayarak bulunduğu ortamı parçalayan) (20,28).

Likenlerin sekonder ürünleri olan liken asitleri likenlere doğadaki karasal süksesyonda öncül bitki olma özelliği kazandırmıştır(69). Kumul, kayalık, killi, bataklık ve çakıllı olan ortamlar öncelikle likenler tarafından işgal edilir. Bunlara öncü populasyonlar denir. Likenler ortamın toprak kalitesini yükseltir. Tutundukları kayaları salgıladıkları maddelerle yavaş yavaş parçalayarak kaya üzerinde ince bir toprak tabakası oluştururlar. Daha sonra liken parçaları ve orada gelişen karayosunlarının da katılmasıyla organik maddenin sürekli artması sonucu daha yüksek bitkilerin gelişmesine olanak sağlarlar(70,72,73,20). Likenler doğal abiyotik şartlara (canlılardan kaynaklanmayan ortam şartlarına) çok dayanıklıdır(20).

Günümüzde 17000 den fazla türe sahip olduğu bilinen likenlerin, ülkemizdeki florası henüz tamamlanmamış olup bölgemiz ile ilgili yapılan çalışmalar ise şimdilik sınırlı olmasına karşın gün be gün artmaktadır(22,23,24).

Diğer yandan Ülkemizde 9000'e yakın bitki türünün doğal olarak yetiştiği ve bunların kimyasal içerikleri hakkındaki çalışmaların yeterli olmadığı da vurgulanmaktadır(74). Bitkisel organizmalar içerisinde incelenen likenler de antik çağlardan beri morfolojik özelliklerine dayanılarak (örneğin: akciğere benzeyen *Lobaria pulmonaria*) o organdaki hastalıkların tedavisinde yararlanılmaya çalışılmış ve tıbbi özellikleri itibariyle değerlendirilmişlerdir(26,28).

Fungus (mycobiont) ve alg (phycobiont) partnerlerinin oluşturduğu simbiyotik bitkiler olan likenler, yavaş üremelerinden kaynaklanan rekabette zayıf kalma dezavantajlarını, ürettikleri özel maddeler sayesinde telafi ederler. Özellikle aromatik yapılı sekonder metabolitler, onların en güçlü antagonistik maddelerini oluşturmaktadır. Diğer taraftan likenlerin boya ve kozmetik sanayisinde ham madde olarak ve hava kirliliğini belirlemek amacıyla kullanıldıkları da kaydedilmiştir(25,26,27). Her ne kadar likenlerin global krizlerde besin kaynağı olarak kullanılabilmesi teklif edilmişse de, doğal yolla üremeleri çok yavaş olduğundan, bu tür bir değerlendirmenin ekonomik olmadığı ifade edilmiştir(75).

Likenlerin üstün yaşam mukavemeti kendi bünyelerinde ürettikleri çok özel moleküllerden ileri gelmekte ve yapılan biyolojik aktivite ölçümlerinde liken metabolitlerinin her geçen gün yeni özellikleri keşfedilmekte ve ilaç özelliklerinin araştırılmasında önemli yer tutmaktadır(29). Likenlerin insanlardaki toksisitesiyle ilgili çok az sayıda veri bulunmakla birlikte, kaydedilmiş yan etkiler lokal tahrişler ve bazen konjunktivit (genel anlamda gözü koruyan zarın iltihaplanması) ile beraber meydana

gelen alerjik deri iltihabı ile sınırlıdır. Likenlerin sebep olduğu alerjik kontakt dermatitis çok uzun zamandan beri bilinmekte ve bunun yaygın olmamakla birlikte liken bileşenlerine karşı duyarlılık potansiyelleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir(30).

Likenler, dünyada ve ülkemizde çok eski zamanlardan beri halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) birçok ülkedeki yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, dünyada tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam tür sayısı 20.000 civarındadır(22,23,24).

Son yıllardaki araştırmalar, liken metabolitleri ve onların antimikrobiyal etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır. Araştırmalar sonucunda 800'ün üzerinde liken metabolitinin yapısı aydınlatılmıştır(28,29,30).

İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra ilkel funguslardan elde edilen antibiyotiklerin kıtlığı, likenler üzerinde benzer araştırmaların yapılmasına yol açmıştır. Likenlerdeki bu antimikrobiyal etki, yapılarında bulunan asitlerden ileri gelmektedir. Farklı liken türlerinden izole edilmiş protolikesterinik asit, pulvinik asit türevleri, depsid grubundan evernik, olivetorik asit, tridepsid grubundan giroforik asit, depsidon grubundan fisodik, lobarik, fumarprotosetrarik asitler ile dibenzofuran türevlerinden usnik asitin antimikrobiyal etkileri saptanmıştır. Bunlardan özellikle protolikesterinik asit, pulvinik asit, fisodik asit, lobarik asit, fumarprotosetrarik asit ve usnik asitin en yüksek antimikrobiyal etki gösteren liken maddeleri olduğu saptanmıştır(76-78,28,30). Öte yandan likenlerin tıbbi önemleri bilim adamlarının ilgisini çekmekte ve likenlerin tıbbi kullanım alanları, araştırmacıların likenler üzerinde yoğunlaşmasını sağlamaktadır.

Likenlerde bulunan maddelerin çoğu asit özelliği gösterdiği için bunlara karakteristik olarak "liken asitleri" denilmektedir. Likenlerin kayaları parçalama özelliğini sentezledikleri bu asitler vasıtası ile gerçekleştirdiklerine inanılmaktadır.

Likenlerin bu asidik maddeleri %1–5 oranında, liken ekstrelerinin ise çoğu zaman %25'lere varan oranlarda içermeleri bu maddelerin izolasyonunu kolaylaştırmakta, dolayısıyla da likenlerin bu yönüyle tohumlu bitkilerden daha fazla önem kazanmasına neden olmaktadır(22). *Cladonia*, *Evernia*, *Cetraria*, *Usnea*, *Alectoria*, *Ramalina* cinsleri antibiotik özelliğe sahip asitler yönünden önemlidir. Bu maddeler gram pozitif koklara, verem basiline ve difteri etkenine karşı etkilidir(21). Likenlerin primer metabolitleri yalnız algler tarafından fotosentezle sentezlenmektedir. Likenlere özgü çeşitli polisakkaritlerin yanı sıra çeşitli aminoasit, amin ve proteinler de likenlerden izole edilmiş primer metabolitlerdir(79,28). Likenler tarafından sentezlenen alifatik ve aromatik bileşikler ise sekonder metabolitler olup günümüze kadar 300'den fazla sekonder metobolitin saflaştırılmış ve yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılarak karakterize edilmiştir(80,28,29).

II.8.1 Dolichousnea longissima (Ach.) Articus

Asılı ve birkaç metre uzunluğuna kadar olabilen tallus dallanma göstermez. Fakat bazen çok nadir dallanma gösterir. Dallar boyunca karşılıklı ve hemen hemen birbirlerine eşit 0,5 – 0,8 mm kalınlığında, 3 cm uzunluğuna kadar olabilen uçları sivri ve birbirlerine yakın fibriller çıkar. İzidium ve soredium görülmez. Ana dallar korteks ihtiva etmeyip parlak yeşil renkte olup pul pul ufalanırlar. Apotesyum nadir görülür. Tallus K (-) dir.



Resim 2: *Dolichousnea longissima* (Ach.) Articus

II.8. Karboksümetil Selüloz

Karboksümetil selüloz ya da sodyum karboksümetil selüloz (CMC) gıdalarda kıvam arttırıcı katkı maddesi olarak kullanılır ve E 466 olarak numaralandırılmışlardır. CMC anyonik, suda çözünebilir polimer, selülozun karboksile edilmesiyle üretilir ve selüloz eterleri grubuna girer. Kimyasal formülü $C_6H_7O_2(OH)_2OCH_2COO_2$, beyaz ile sarımsı arası renkte ve lifli yapıdadır(121).

Karboksümetil selüloz sıcak ve soğuk suda çözünebilir, organik çözücülerde çözünmez, su/alkol sistemleriyle uyumludur. CMC'nin fonksiyonel özellikleri selülozun yapısal özelliklerine (örneğin; içerdiği hidroksil gruplarına) bağlıdır. Kullanıldığı ürünlerde viskoziteyi jelleştirmeden arttırır(121).

Kozmetikte kıvamlaştırıcı, kıvam koruyucu, koku sabitleyici, su bağlayıcı, tabaka oluşturucu, jelleştirici ve köpük arttırıcı olarak kullanılır. Uçucu olmayan göz

damlalarının içeriklerinde yağlandırıcı olarak kullanılır; gözde kurumayı engeller. Kremlerde, merhemlerde ve losyonlarda kıvamlaştırıcı, sabitleyici ve film oluşturucu olarak kullanılır. Jel ürünlerde jelleştirici, koyulaştırıcı, koloit engelleyici ve film oluşturucu olarak kullanılır. Yüksek dayanıklılık özelliği ile tablet haplarda bağlayıcı olarak kullanılır. İshal haplarının içeriğinde su bağlayarak hacim artırma özelliği yüzünden kullanılır. Şuruplarda koyulaştırıcı olarak kullanılır. Süspansiyonlarda koyulaştırıcı ve yapı koruyucu olarak kullanılır(121).

III. MATERYAL VE METOT

Çalışmamız ratlar üzerinde yapılan deneysel bir çalışmadır. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

III.1.Deney Bitkilerinin Temini ve Teşhisi

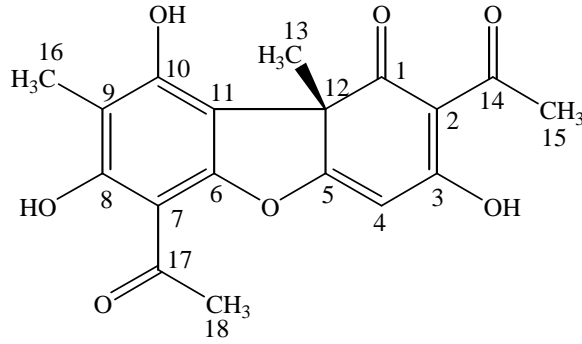
Bu araştırma döneminde çalışma materyali olarak bölgemizde bulabileceğimiz *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken türü tercih edildi. Liken örnekleri, 2008 Haziran ayında Artvin, Erzurum, Giresun illeri ve çevresinden Dr. Ali Aslan tarafından toplandıktan sonra uluslar arası teşhis yöntemleri kullanılarak türlerin teşhisi yapıldı(81,82,24). Liken türlerin birer herbaryum örneği de Atatürk Üniversitesi-Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Herbaryumu'nda depolanmıştır.

III.2. Usnik asidin hazırlanması

Gölgede kurutulmuş ve öğütülmüş 750 gram *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken örneği 2 litre kloroform ile ekstrakte edildi. Ekstre süzüldü, üzerine yeniden 2 L kloroform ilave edildi ve süzüldü. Bu işlem toplam 4 kez tekrarlandı. Toplanan kloroform ekstresinden, kloroform destilasyon ile uzaklaştırıldı. Ekstre konsantre hale getirildiğinde balonun dibinde sarı renkli iğnemsî usnik asidin kristallendiği gözlemlendi. Kristaller ayrı bir balona alındı ve toluen üzerinden yıkandı. Bu işlemin sonunda 13,77 gram usnik asit kristalleri elde edildi. Geriye kalan kristalleşmeyen kısmın ise preparatif ince tabaka kromatografisi (Hazır plak, Kiesel gel 60 F₂₅₄, 0.20 mm, Merck, 05567) ile kloroform çözücü sisteminde yapılan kontrolünde usnik asit içerdiği belirlendi. Geriye kalan kısımdaki usnik asidi elde etmek için ekstre bir döner buharlaştırıcı (Rotary evaporatör, Heidolph 94200) yardımıyla düşük basınç ve sıcaklıkta konsantre hale getirildi. Bu işlemin sonunda 22 gram ekstre elde edildi. Ekstre 400 gram silika jel (Silica gel 60, Fluka, 70-230 mesh) üzerinden Kolon

kromatografisine tabii tutuldu ve 25'er ml halinde alınan fraksiyonların hazır İnce tabaka kromatografisinde kloroform çözücü sisteminde saflıkları kontrol edildi. Sadece usnik asit içeren fraksiyonlar birleştirildi, kloroform döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve usnik asit tartıldı. Bu işlemin sonunda ise 15,45 gram usnik asit saflaştırıldı. Böylece 750 gram *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken türünden 33,20 gram usnik asit elde edildi. Saflaştırılan usnik asidin kimyasal yapısı UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektroskopi yöntemleri ile aydınlatıldı ve literatürdeki verilerle doğrulandı(83).

Usnik asit suda çözünmeyen kloroform, benzen gibi organik çözücülerde çözünen apolar karakterli bir maddedir. Biyolojik çalışmalarda canlılara vermek üzere uygun süspansiyon veya emülsiyonların hazırlanması gerekir. Usnik asit süspansiyonu hazırlamak için karboksimetil selülozun (CMC) sudaki %3 lük (ağırlık/hacim) karışımı kullanıldı.



Şekil 5: Usnik asidin kimyasal yapısı



Resim 3: Usnik asit ve karboksimetil selülozun sulandırılmadan önceki görünümü

III.3. Denekler ve Anestezi

Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Laboratuvarında ortalama ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 35 adet Wistar albino cinsi erkek ratın 35 adet sağ tibiası çalışmaya alındı. Denekler bir hafta boyunca ortama alışmaları için 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırılmaları sağlandı. Yaklaşık 20-22 derece oda ısısında bekletildi, ihtiyaçları kadar su ve standart rat yemleri verildi. Tüm ratların sağ tibiaları opere edildi ve her grupta 7 şer adet rat olacak şekilde 5 ayrı gruba ayrıldı. Operasyon için tüm ratlara ketamin (ketalar® 40 mg/kg) ve xylazine (5 mg/kg Rompum®) verilerek genel anestezi uygulandı.

III.4. Cerrahi işlem

Uygulanan genel anesteziden sonra tüm ratların sağ alt ekstremiteleri uyluk medialinden ayak bileğine kadar traş edildi. Sağ uyluk medialinden başlanarak distale doğru ayak ve ayak bileğide dahil olmak üzere batikonla boyandı, steril koşullar altında yeşille örtüldü. Sağ diz bölgesinden tibia shaftına doğru uzanan cilt insizyonu yapıldı. Cilt, ciltaltı dokular geçildi sağ tibia periostu açığa çıkarıldı. Sağ tibia patellar tendonun

hemen medialinden yapılan insizyonla tibia plato bölgesine ulaşıldı. Sağ tibia platosunun hemen altından 1mm kalınlığında kirschner teli ile delik açılıp genişletildi, distale doğru ilerletildi ve drilleme yapıldı. Daha sonra kirschner teli geri çekildi. Sağ tibia patellar tendonun yapışma yerinin yaklaşık 8-10 mm distalinden kesici motor yardımı ile osteotomi yapıldı. Osteotominin ardından 1mm kirschner teli sağ tibiaya intramedüller olarak gönderildi ve yeterli direnç oluşuncaya kadar ilerletildi, kırık hattının stabilizasyonu sağlandı. Bu işlemler esnasında fibulanın intakt kalması sağlandı(84-87). Daha sonra dokular serum fizyolojik ile yıkandı. Kas ve fasyası 5-0 vikril ile cilt ise 4-0 ipek kullanılarak kapatıldı. Operasyon sonrası tüm ratların sağ tibiaları skopi ile kontrol edildi, oluşturulan kırık modelinin standartlara uyup uymadığına ve fibulanın intak kalıp kalmadığına bakıldı. Tüm ratlara operasyon sonrası herhangi bir hareket kısıtlanması uygulanmadı. Tüm ratlar rastgele her grupta 7 şer adet rat bulunacak şekilde 5 ayrı gruba ayrıldı.



Resim 4: Operasyon sırasında sağ tibianın osteotomi sonrası görünümü.



Resim 5: Operasyon sırasında sağ tibianın intramedüller kirschner teli ile tespit sonrası görünümü.



Resim 6: Sağ taraf osteotomize tibianın tespitinin ardından kas ve fasyanın kapatılmasından sonraki görünümü.



Resim 7: Sağ taraf cildin kapatılmasından sonraki görünüm.



Resim 8: Operasyon sonrasında kontrol skopi görünümü

III.5. İlaç uygulaması

Her grupta 7 şer adet olmak üzere rastgele 5 ayrı gruba ayrılan ratlara her grup için ayrı ilaç uygulaması yapıldı. Tüm ratlar 6. haftanın sonunda sakrifiye edildi.

III.5.1. Birinci grup

Bu gruba günlük ihtiyaca göre normal rat yemi ve su verildi herhangi bir ilaç verilmedi.

III.5.2. İkinci grup

Bu gruptaki ratlara ihtiyaca göre günlük rat yemi ve su verildi. Bunun yanında deneysel kırık oluşturmada bir gün önceden başlanarak, ratların sakrifiye edilmesine kadar tüm ratlara her gün oral yoldan 50 mg/kg usnic asit verildi.

III.5.3. Üçüncü grup

Bu gruptaki ratlara ihtiyaca göre günlük rat yemi ve su verildi. Ek olarak deneysel kırık oluşturmada bir gün önceden başlanarak, ratların sakrifiye edilmesine kadar tüm ratlara her gün oral yoldan 100 mg/kg usnik asit verildi.

III.5.4. Dördüncü grup

Bu gruptaki ratlara ihtiyaca göre günlük rat yemi ve su verildi. Bunun yanında deneysel kırık oluşturmada bir gün önceden başlanarak, ratların sakrifiye edilmesine kadar tüm ratlara her gün oral yoldan 200 mg/kg usnik asit verildi.

III.5.5. Beşinci grup

Bu gruptaki ratlara ihtiyaca göre günlük rat yemi ve su verildi. Deneysel kırık oluşturmada bir gün önceden başlanarak, ratların sakrifiye edilmesine kadar tüm ratlara her gün oral yoldan 2ml de %3 lik karboksimetil selüloz verildi. (Karboksimetil sellüloz usnik asidin suda çözünür forma dönüştürülmesi için kullanıldı)

III.6. Radyolojik değerlendirme

Tüm ratların sağ tibialarına operasyondan sonra 1. 2. 3. 4. ve 5. haftanın sonunda sedasyon altında direkt yan grafi çekildi. 6. Haftanın sonunda tüm ratlar sakrifiye edildikten sonra sağ tibiaları çıkarıldı kallus dokusuna zarar vermeden yumuşak dokulardan temizlendi ve ringer solusyonu içerisinde yine direkt yan grafi çekildi. Çekilen tüm röntgenogramlar radyolojik açıdan kallus gelişimi ve kırık iyileşmesi,

birbirinden bağımsız iki gözlemci tarafından kör olarak (hangi gruba bağlı olduğu bilinmeden) Lane –Sandhu skorlama sistemine göre(88) değerlendirildi.

Tablo 1: Lane-sandhu radyolojik skorlama sistemi

İyileşme yok	0
Kallus oluşmuş	1
Osseöz kaynama başlangıcı	2
Kırık hattının kaybolmaya başlaması	3
Tam osseöz kaynama	4

III.7. Histolojik değerlendirme

6. hafta sonunda sakrifiye edilen tüm ratlardan çıkarılan sağ tibiaları kırık kallusuna zarar vermeden yumuşak dokulardan temizlendi. Çıkarılan bu tibialar ringer solüsyonuna kondu ve direkt yan grafi çekildi. Kırık hattına zarar vermeden intramedüller tespit çıkarıldı. Daha sonra hızla yapılan dansitometrik, incelemenin ardından, her bir gruptan rastgele 5 adet olmak üzere toplam 25 adet, ratlara ait deneysel kırık oluşturulan sağ tibialar, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında %10 luk nötral formalin içerisinde konuldu. 48 saatlik bir zaman diliminin ardından bu örnekler % 10 luk formik asit içerisinde konuldu. 3–4 günde dekalsifiye olan örnekler daha sonra dehidratasyon, şeffaflama, parafinizasyon aşamalarından geçirildi

ve parafin içerisine gömülerek bloklandı. Tüm örneklerden kırık hattına dik geçecek şekilde, kallus merkezinden 5–6 mikron kalınlığında kesitler alındı. Alınan bu kesitler Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı ve polarize ışık mikroskopunda histolojik değerlendirmeye alındı. Histolojik olarak kırık iyileşmesini değerlendirmede Allen ve ark. yaptığı 5 gradeli histolojik skora sistemi kullanıldı(89).

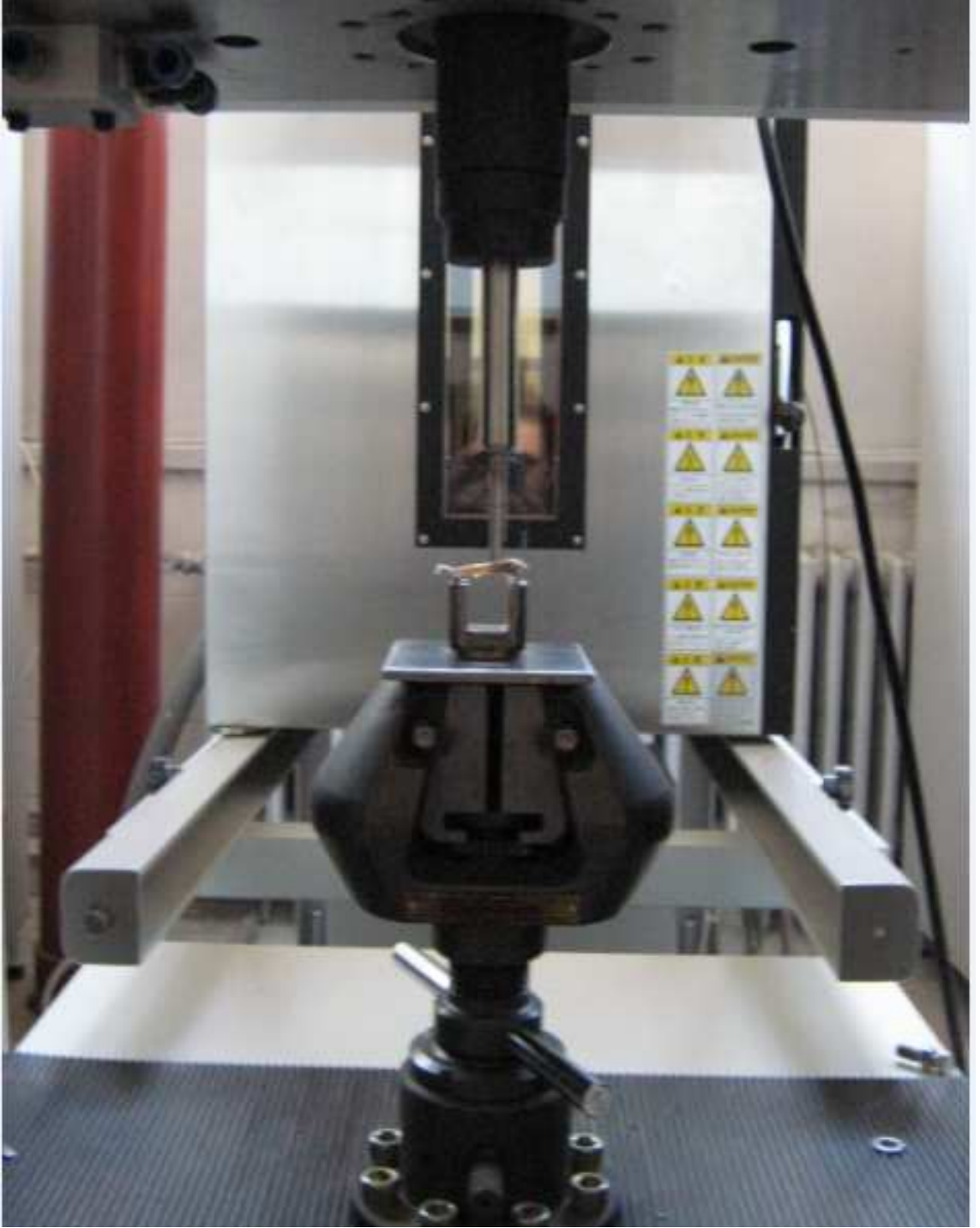
Tablo 2: 5 dereceli(grade) histolojik skorlama sistemi

Histolojik değerlendirme	Grade
Pseudoartroz formasyonu	0
İnkomplet kırık oluşumu	1
Komplet kırık oluşumu	2
İnkomplet kemik oluşumu	3
Komplet kemik oluşumu	4

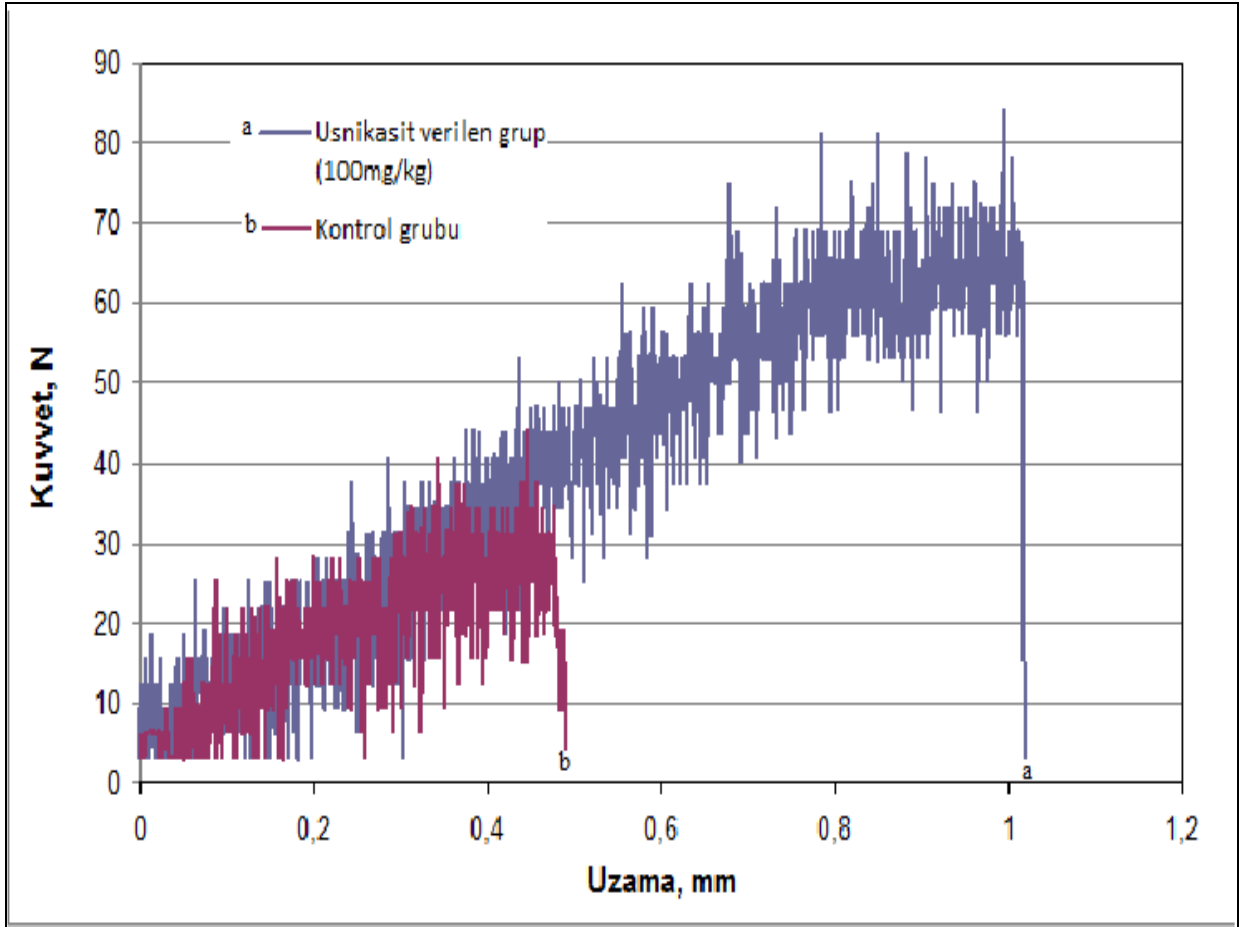
III.8. Mekanik inceleme

6. hafta sonunda sakrifiye edilen tüm ratlardan çıkarılan tibialar kırık kallusuna zarar vermeden yumuşak dokulardan temizlendi. Çıkarılan tibialar ringer solüsyonuna kondu. Tüm sağ tibialara direkt yan grafi çekildi. Kırık hattına zarar vermeden intramedüller tespit çıkarıldı. Daha sonra hızla yapılan dansitometrik, incelemenin ardından her gruptan rastgele ikişer adet kırık oluşturulan sağ tibiaları mekanik teste tabi tutuldu. Mekanik incelemede iyileşen tibiaların bükülmeye karşı dirençlerini ölçmek için cihazda üç nokta eğilme (three-point bending) prosedürü uygulandı(86,90,120). Tibialara, uygulanacak kuvvet ön-arka istikamette olacak şekilde yerleştirildi ve kırık olan tibiaların uçları, kırık hattı orta kesimde olacak şekilde iki ayrı

noktadan destek alması sağlandı. Uygulama esnasında kırık hattı ile destek noktaları arasındaki mesafelerin tüm örneklerde aynı olması sağlandı. Uygulama esnasında cihazdan elde edilen tüm zaman, yük ve defleksiyon verileri bilgisayara kaydedildi. Bu değerler daha sonra yük-defleksiyon eğrilerinin çiziminde kullanıldı. Elde edilen değerler yardımıyla kırılmanın meydana geldiği maksimum yük değerleri tespit edildi.



Resim 9: Three-point bending testini uygulamasına ait görünüm.



Şekil 6: Mekanik test verilerine göre usnik asit verilen grup ve kontrol gruba ait uzama kuvvet eğrisi

III.9. Dansitometrik inceleme

6. hafta sonunda sakrifiye edilen tüm ratlardan deneysel kırık oluşturulan sağ tibiaları çıkarıldı kırık kallusuna zarar vermeden yumuşak dokulardan temizlendi. Tüm sağ tibialara direkt yan grafi çekildi. Kırık hattına zarar vermeden intramedüller tespit

çıkarıldı. Ringer solusyonu içerisinde, her gruptan 7 şer adet olmak üzere tüm sağ tibiaların kırık hattının 5mm proksimali ve 5mm distali olacak şekilde 10 mm lik alana BMD (Kemik Mineral Dansitesi) ve BMC (Kemik Mineral Kütlesi) ölçümü yapıldı(90).

III.10. İstatistiksel inceleme

Yan grafi ve histoloji verileri Kruskals-walis testine tabi tutularak grup ve postoperatif gün etkisi ve aralarındaki etkileşim test edildi. Kemik verileri 1-yönlü varyans analiz testine tabi tutuldu. Grup ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan's Multiple Range Test opsiyonu ile belirlendi. Gruplar arasındaki anlamlılık düzeyi $P < 0,05$ 'de kabul edildi.

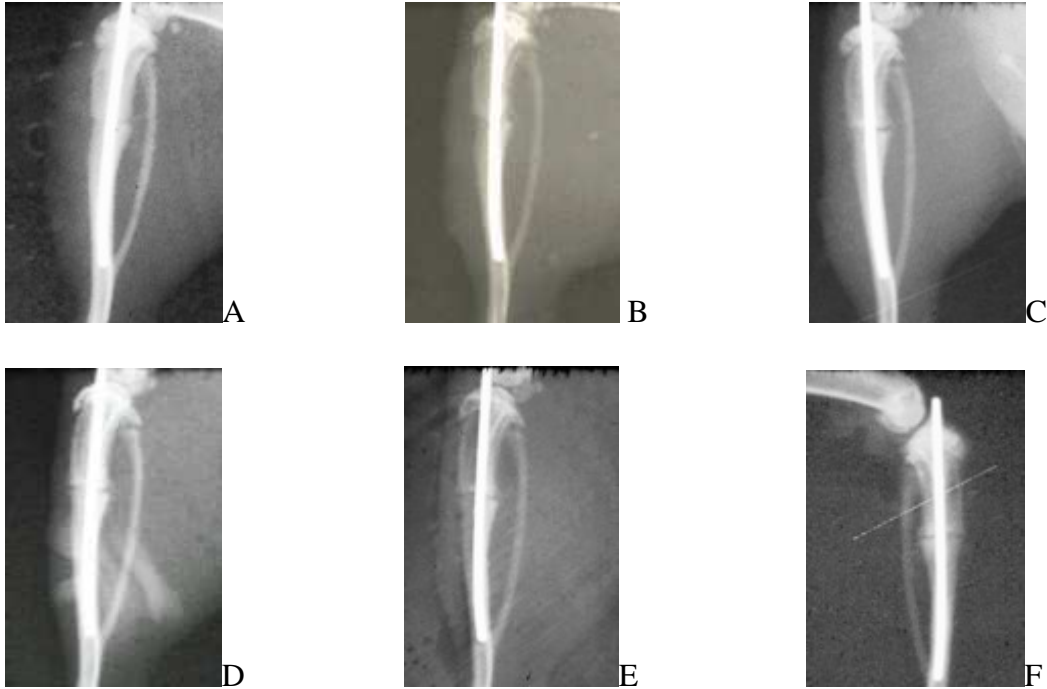
IV. BULGULAR

Çalışmaya aldığımız 35 adet sağ tibianın her biri 7 şer adet olmak üzere 5 ayrı gruba ayrıldı. Tüm deneysel kırık oluşturulan sağ tibialara 6 hafta boyunca haftalık direkt yan grafi çekildi. Lane – Sandhu skorlama sistemine göre skorlandı(88). elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi ve Kruskals-walis testine tabi tutuldu. 6. haftanın sonunda sakrifiye edilen ratların tüm tibiaları çıkarıldı ve dansitometrik inceleme yapıldı elde edilen veriler 1-yönlü varyans analiz testine tabi tutuldu. Grup ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan's Multiple Range Test opsiyonu ile belirlendi. Tüm gruptan rastgele 5 er adet deneysel kırık oluşturulan sağ tibialar seçilerek histolojik inceleme yapıldı. Allen ve ark. yaptığı 5 gradeli histolojik skorlamaya göre skorlandı(89). Elde edilen veriler Kruskals-walis testine tabi tutuldu. Geri kalan her gruba ait ikişer adet deneysel kırık oluşturulan sağ tibialar mekanik inceleme yapıldı, veriler 1-yönlü varyans analiz testine tabi tutuldu. Grup ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan's Multiple Range test opsiyonu ile belirlendi.

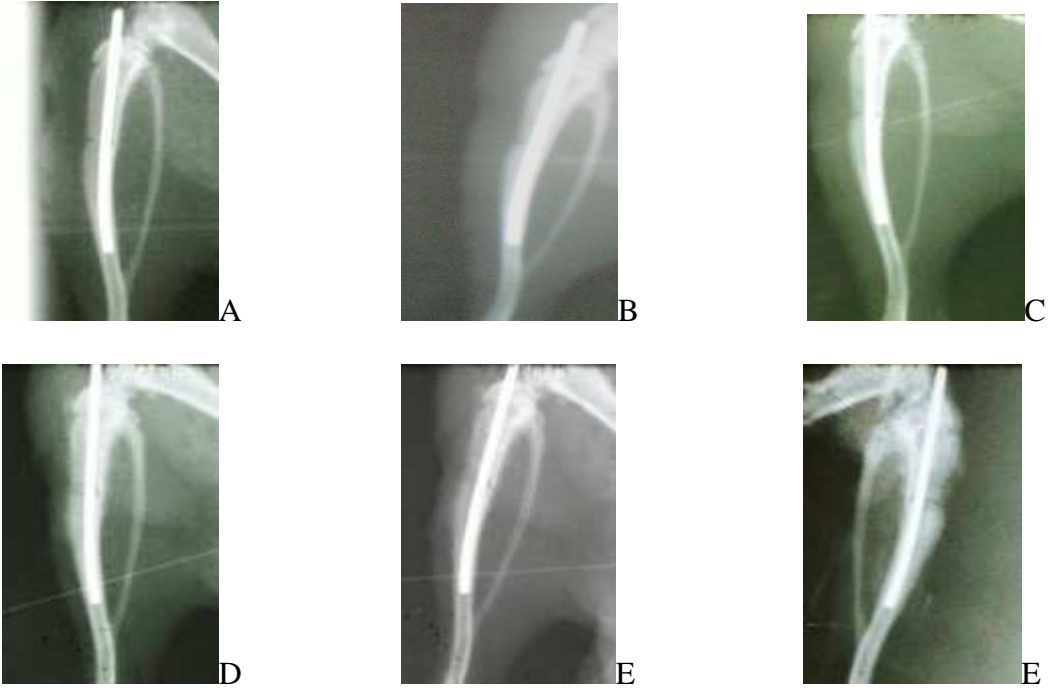
IV.1. Radyolojik bulgular

Tüm gruplardan Lane-Sandhu radyolojik skorlama sistemine(88) göre elde edilen veriler (Tablo 3), Kruskals-walis testine tabi tutularak grup ve postoperatif gün etkisi ve aralarındaki etkileşim test edildi. Buna göre gruplar arası ($P < 0,008$) ve postoperatif süreye ($P < 0,001$) göre anlamlı fark gözlemlendi ($P < 0,0001$). Ancak, grup ve postoperatif gün arasında bir etkileşim bulunmadı ($P < 0,94$). Günlük oral 50 mg/kg usnik asit verilen grup, günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup ve günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Ancak günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen grup ile günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup ve hiçbir ilaç verilmeyen

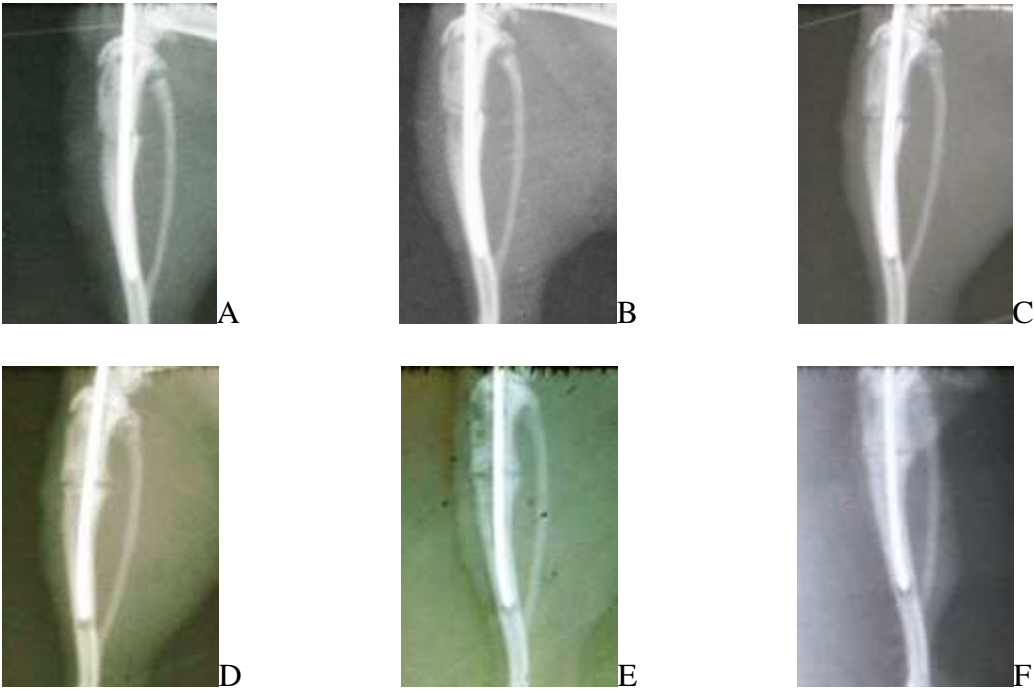
grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ve günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen grubun ortalama ortalama değeri her ikisinden de yüksekti. Bunun dışında günlük oral 50 mg/kg usnik asit verilen grup, günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup ve günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmadı. Günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup ile hiçbir ilaç verilmeyen grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. (Tablo 5)



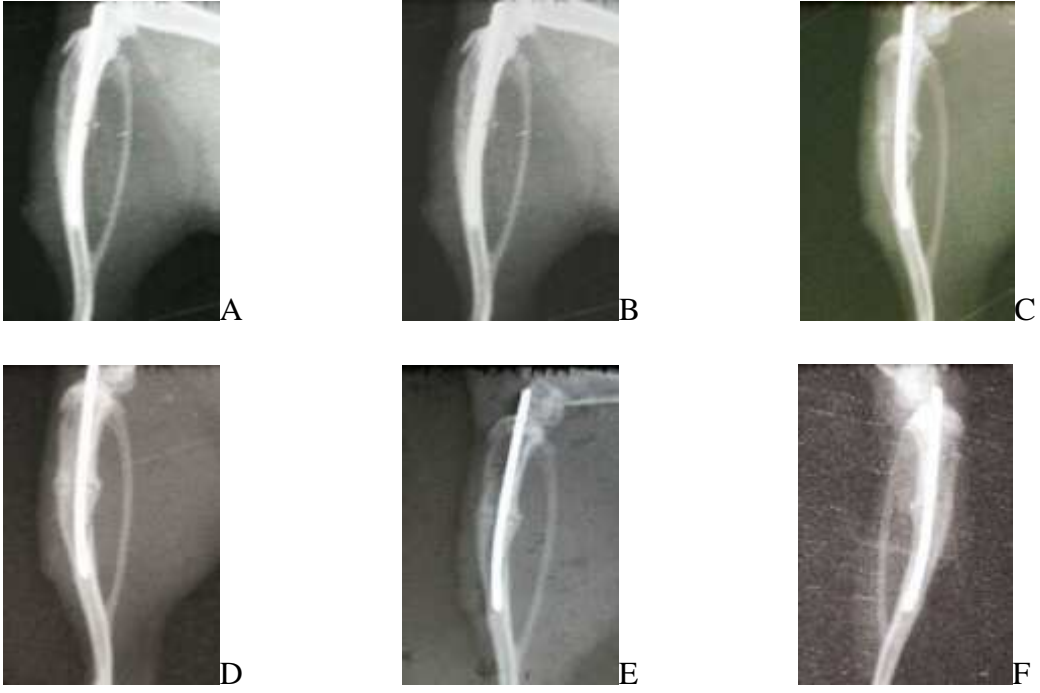
Resim 10: Herhangi bir ilaç verilmeyen gruba ait haftalık örnek radyografiler (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta)



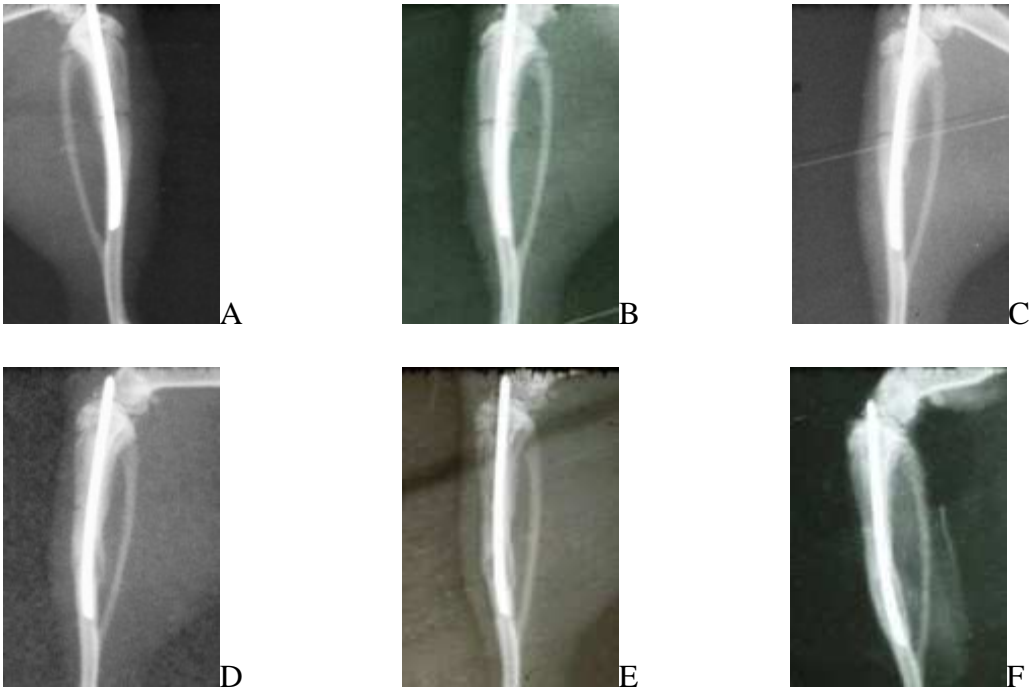
Resim 11: 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen gruba ait haftalık örnek radyografisi (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta)



Resim 12: 50 mg/kg usnik asit verilen gruba ait örnek radyografiler(A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta)



Resim 13: 100 mg/kg usnik asit verilen gruba ait örnek radyografiler (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta)



Resim 14: 200 mg/kg usnik asit verilen gruba ait örnek radyografiler (A: 1. hafta, B: 2. hafta C: 3. hafta, D: 4. hafta, E: 5. hafta F: 6. hafta)

Tablo 3: Grup ve örneklere göre postoperatif dönemlerin radyolojik skor değerleri.

RatNo	Group no	Gün	Lane-sandhu ya göre radyolojik skor değeri
1	1 (herhangi bir ilaç verilmeyen)	7	0
1	1	14	0
1	1	21	0
1	1	28	1
1	1	35	1
1	1	42	2
2	1	7	0
2	1	14	0
2	1	21	1
2	1	28	1
2	1	35	2
2	1	42	2
3	1	7	0
3	1	14	0
3	1	21	0
3	1	28	1
3	1	35	2
3	1	42	2
4	1	7	0
4	1	14	0
4	1	21	0
4	1	28	1
4	1	35	2
4	1	42	2
5	1	7	0
5	1	14	0
5	1	21	0
5	1	28	1
5	1	35	1
5	1	42	2
6	1	7	0
6	1	14	0
6	1	21	1
6	1	28	1
6	1	35	1
6	1	42	2
7	1	7	0
7	1	14	0
7	1	21	0
7	1	28	1
7	1	35	3
7	1	42	4

RatNo	Group no	Gün	Lane-sandhu ya göre radyolojik skor değeri
8	2 (50 mg/kg usnik asit verilen)	7	0
8	2	14	1
8	2	21	2
8	2	28	2
8	2	35	2
8	2	42	4
9	2	7	0
9	2	14	0
9	2	21	1
9	2	28	3
9	2	35	3
9	2	42	3
10	2	7	0
10	2	14	0
10	2	21	0
10	2	28	1
10	2	35	1
10	2	42	2
11	2	7	0
11	2	14	1
11	2	21	1
11	2	28	1
11	2	35	1
11	2	42	2
12	2	7	0
12	2	14	0
12	2	21	1
12	2	28	2
12	2	35	3
12	2	42	4
13	2	7	0
13	2	14	0
13	2	21	0
13	2	28	0
13	2	35	1
13	2	42	1
14	2	7	1
14	2	14	1
14	2	21	2
14	2	28	2
14	2	35	2
14	2	42	2

RatNo	Group no	Gün	Lane-sandhu ya göre radyolojik skor değeri
15	3(100mg/kg usnik asit verilen)	7	0
15	3	14	1
15	3	21	1
15	3	28	1
15	3	35	4
15	3	42	4
16	3	7	0
16	3	14	1
16	3	21	1
16	3	28	1
16	3	35	1
16	3	42	2
17	3	7	0
17	3	14	0
17	3	21	1
17	3	28	2
17	3	35	3
17	3	42	4
18	3	7	0
18	3	14	0
18	3	21	1
18	3	28	1
18	3	35	3
18	3	42	4
19	3	7	0
19	3	14	1
19	3	21	1
19	3	28	1
19	3	35	1
19	3	42	2
20	3	7	0
20	3	14	0
20	3	21	1
20	3	28	1
20	3	35	1
20	3	42	2
21	3	7	1
21	3	14	1
21	3	21	1
21	3	28	1
21	3	35	1
21	3	42	2

RatNo	Group no	Gün	<i>Lane-sandhu ya göre radyolojik skor değeri</i>
22	4(200mg/kg usnik asit verilen)	7	0
22	4	14	1
22	4	21	1
22	4	28	1
22	4	35	2
22	4	42	3
23	4	7	0
23	4	14	1
23	4	21	1
23	4	28	1
23	4	35	1
23	4	42	2
24	4	7	0
24	4	14	0
24	4	21	2
24	4	28	2
24	4	35	2
24	4	42	2
25	4	7	0
25	4	14	0
25	4	21	1
25	4	28	1
25	4	35	1
25	4	42	2
26	4	7	0
26	4	14	1
26	4	21	1
26	4	28	2
26	4	35	3
26	4	42	3
27	4	7	0
27	4	14	0
27	4	21	0
27	4	28	2
27	4	35	4
27	4	42	4
28	4	7	0
28	4	14	1
28	4	21	1
28	4	28	1
28	4	35	3
28	4	42	3

RatNo	Group no	Gün	Lane-sandhu ya göre radyolojik skor değeri
29	5(2ml %3 lük karboksimetil selüloz)	7	0
29	5	14	1
29	5	21	1
29	5	28	1
29	5	35	2
29	5	42	2
30	5	7	0
30	5	14	0
30	5	21	1
30	5	28	1
30	5	35	1
30	5	42	1
31	5	7	0
31	5	14	0
31	5	21	0
31	5	28	0
31	5	35	1
31	5	42	2
32	5	7	0
32	5	14	1
32	5	21	1
32	5	28	1
32	5	35	1
32	5	42	1
33	5	7	0
33	5	14	1
33	5	21	1
33	5	28	2
33	5	35	3
33	5	42	3
34	5	7	0
34	5	14	0
34	5	21	1
34	5	28	2
34	5	35	3
34	5	42	3
35	5	7	0
35	5	14	0
35	5	21	1
35	5	28	1
35	5	35	1
35	5	42	1

IV.2. Histolojik bulgular

6. hafta sonunda sakrifiye edilen tüm ratların deneysel kırık oluşturulan sağ tibiaları çıkarıldı ve yumuşak dokulardan temizlendi. Her gruptan rastgele seçilen 5'er adet olmak üzere toplam 25 adet sağ tibia örneklerinden Atatürk Üniversitesi Patoloji Anabilim dalında, kırık hattına dik geçecek şekilde alınan kesitlere histolojik inceleme yapıldı. Allen ve ark. yaptığı 5 gradeli histolojik skorlamaya göre skorlandı(89). ve elde edilen veriler (Tablo 4), Kruskals-walis testine tabi tutuldu. Histolojik grade üzerine gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi ($P < 0,002$). Buna göre günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen grubun ortalama değeri en yüksek hiç ilaç verilmeyen kontrol grubu ise en düşük ortalama değere sahip olup istatistiksel olarak da anlamlı. Günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grubun ortalama değeri, hiç ilaç verilmeyen gruba göre daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı. Günlük oral 50 mg/kg usnik asit verilen grup ile hiç ilaç verilmeyen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup günlük oral 50 mg/kg usnik asit verilen grup daha yüksek bir ortalama değere sahip. Yine günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup ile hiç ilaç verilmeyen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup daha yüksek bir ortalama değere sahip. Günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup, günlük oral 50 mg/kg usnik asit verilen grup, günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. (Tablo 6)

Tablo 4: Gruplara ve örneklere göre histolojik derecelendirme(grade) değerleri

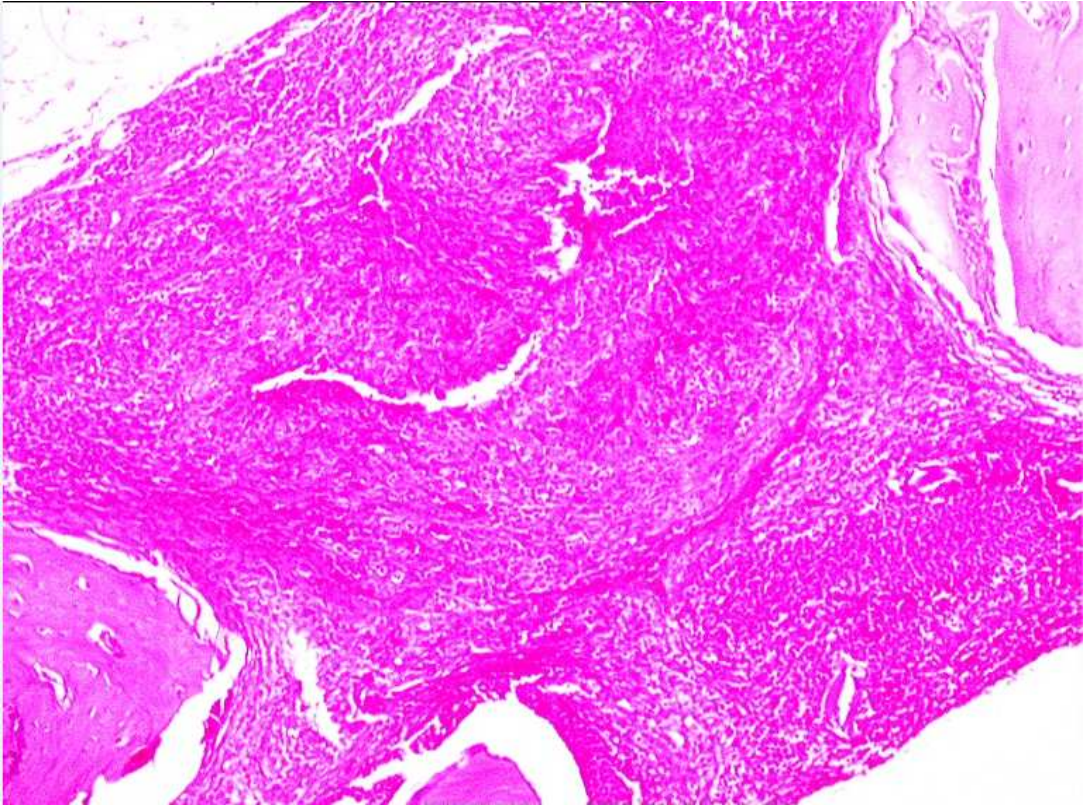
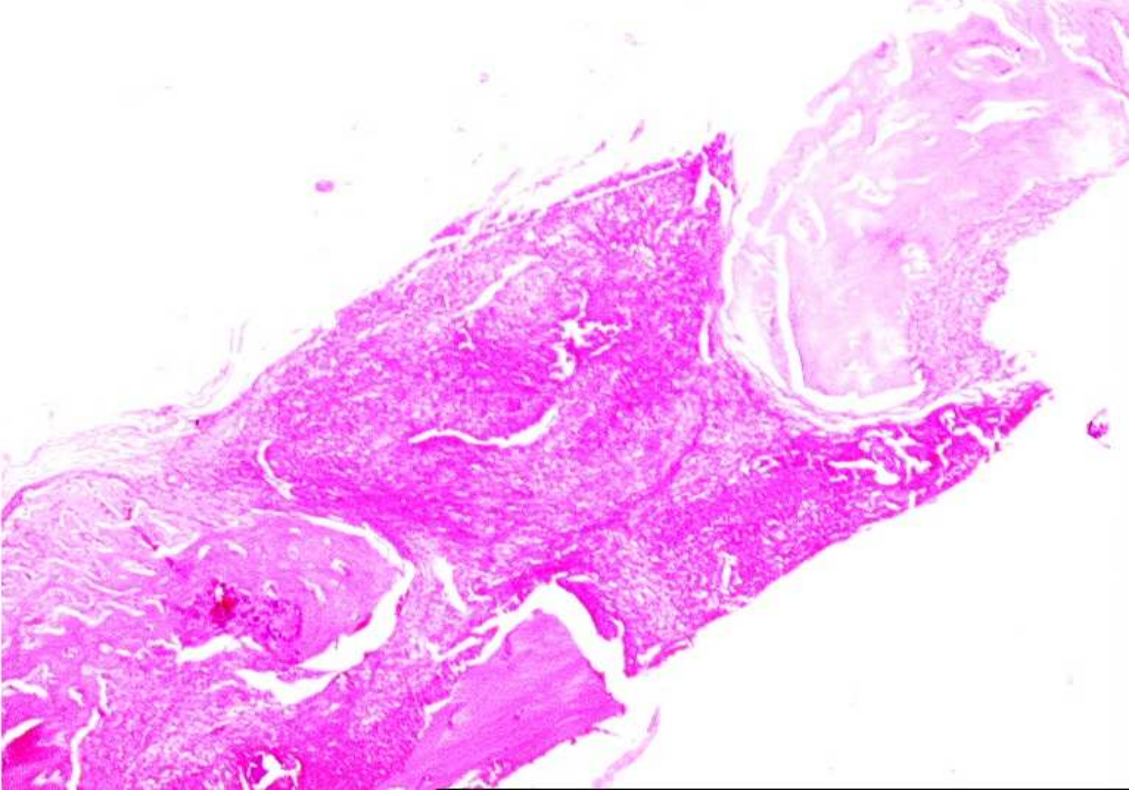
RatNo	Group no	Allen ve ark. yaptığı 5 dereceli(graded) histolojik skor değerleri
1	1 (herhangi bir ilaç verilmeyen grup)	0
2	1	0
3	1	0
4	1	0
5	1	0
8	2(50 mg/kg usnik asit verilen grup)	1
9	2	1
10	2	1
11	2	1
12	2	1
15	3(100 mg/kg usnik asit verilen grup)	1
16	3	2
17	3	1
18	3	2
19	3	1
22	4(200 mg/kg usnik asit verilen grup)	3
23	4	3
24	4	4
25	4	3
26	4	4
29	5(2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grup)	1
30	5	1
31	5	1
32	5	1
33	5	1

Tablo 5: Grup ve postoperatif dönemlere göre radyografi verileri ortalamaları

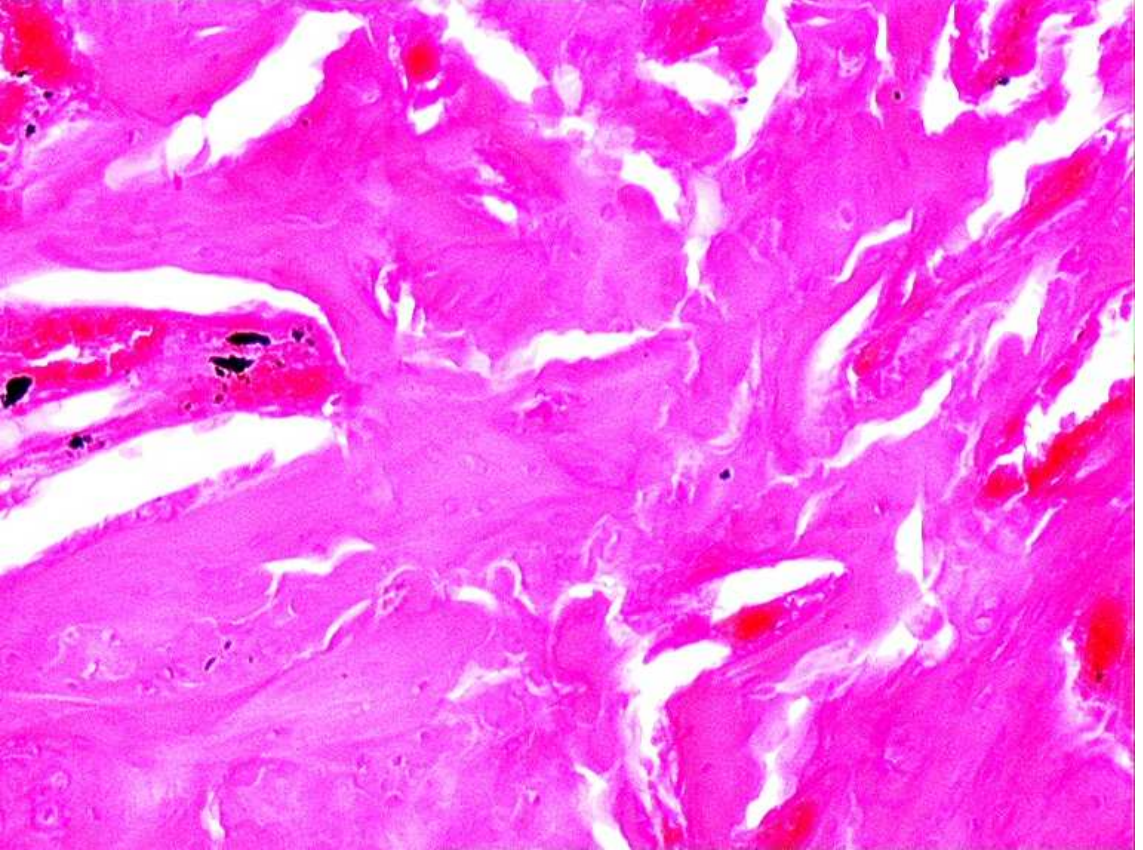
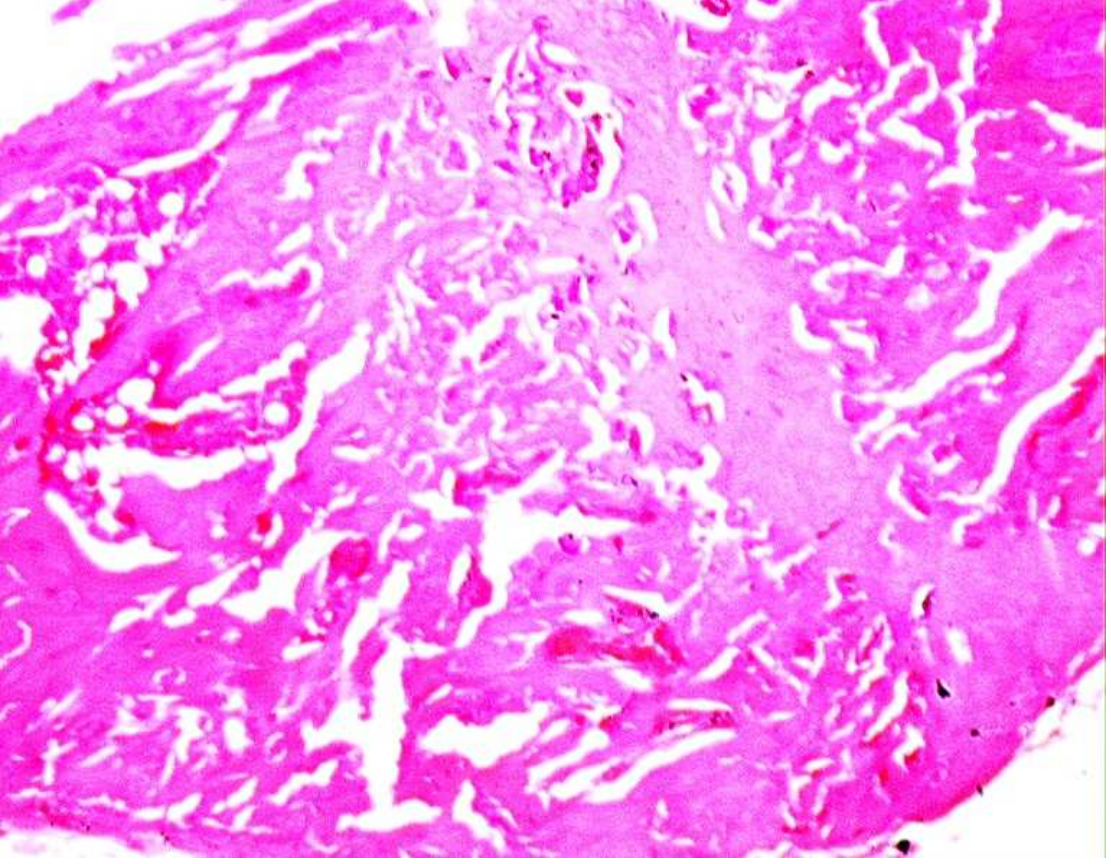
Lane-Sandhu	1	2	3	4	5		<i>P</i>
radyolojik skorlama	Kontrol grubu	50mg/kg usnik asit	100mg/kg usnik asit	200mg/kg usnik asit	2ml %3 lük karboksimetil selüloz		
7. gün	0	0,14	0,14	0	0		
14. gün	0	0,43	0,57	0,57	0,43		
21. gün	0,29	1,00	1,00	1,00	0,86		
28. gün	1,00	1,57	1,14	1,43	1,14		
35. gün	1,71	1,86	2,00	2,29	1,71		
42. gün	2,29	2,57	2,86	2,71	1,86		
<i>Genel ortalama</i>	<i>0,88^c</i>	<i>1,26^{ab}</i>	<i>1,29^{ab}</i>	<i>1,33^a</i>	<i>1,00^{bc}</i>		<i>0,008</i>

Tablo 6: Gruplara göre histolojik verilerin ortalamaları

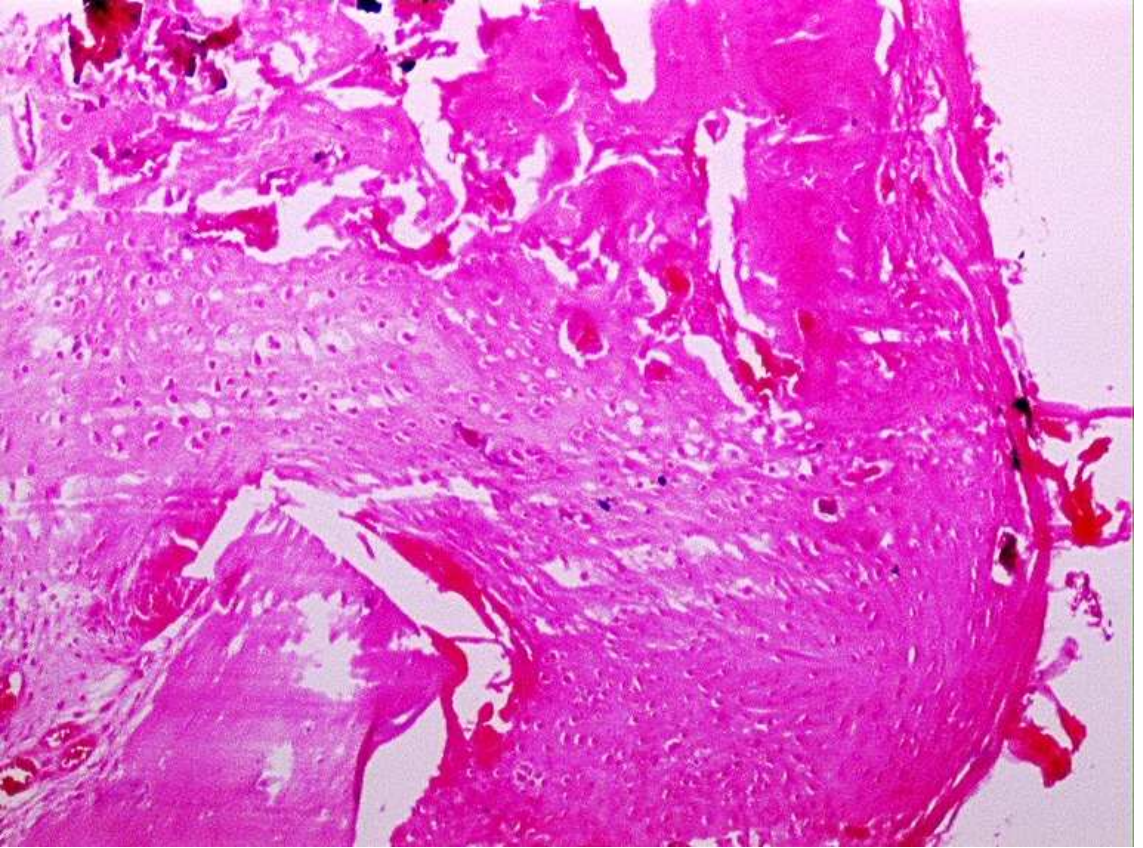
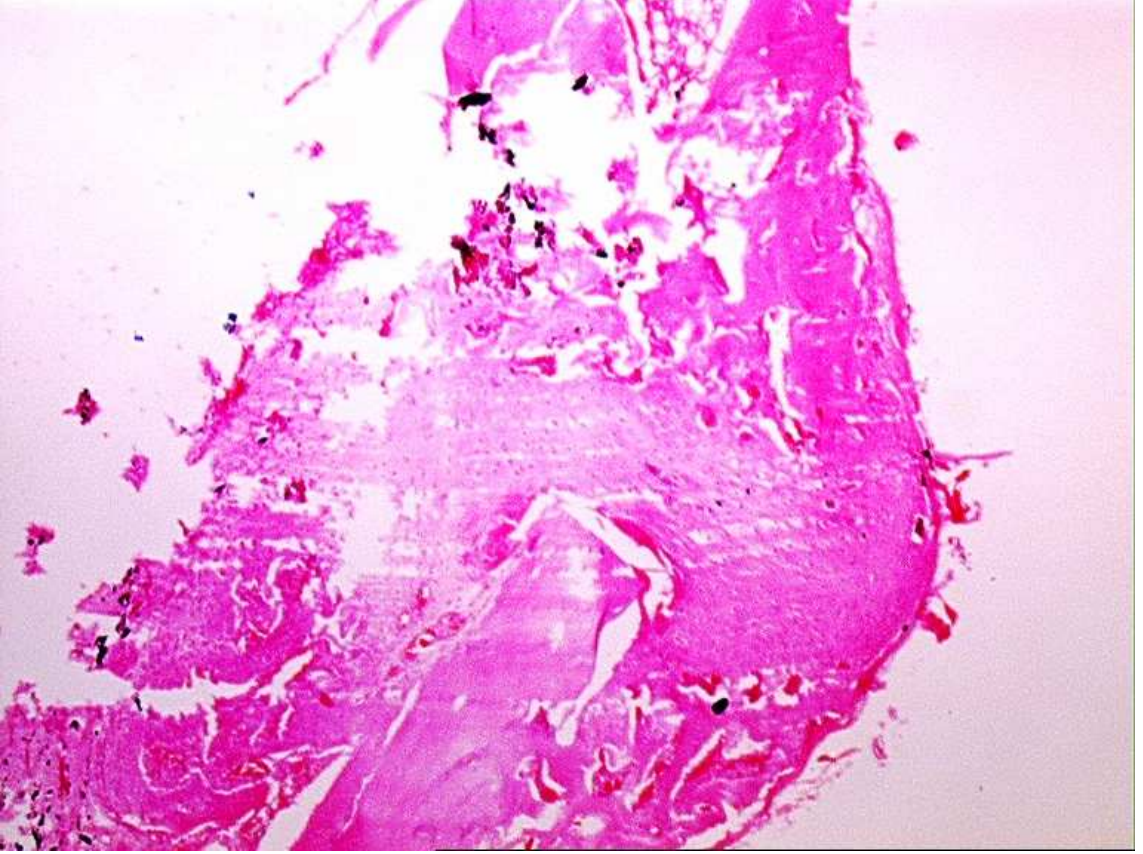
	1	2	3	4	5		<i>P</i>
	Kontrol grubu	50mg/kg usnik asit	100mg/kg usnik asit	200mg/kg usnik asit	2ml %3 lük karboksimetil selüloz		
<i>5 gradeli histolojik skorlama</i>	<i>0^c</i>	<i>1,00^b</i>	<i>1,40^b</i>	<i>3,40^a</i>	<i>1,00^b</i>		<i>0,002</i>



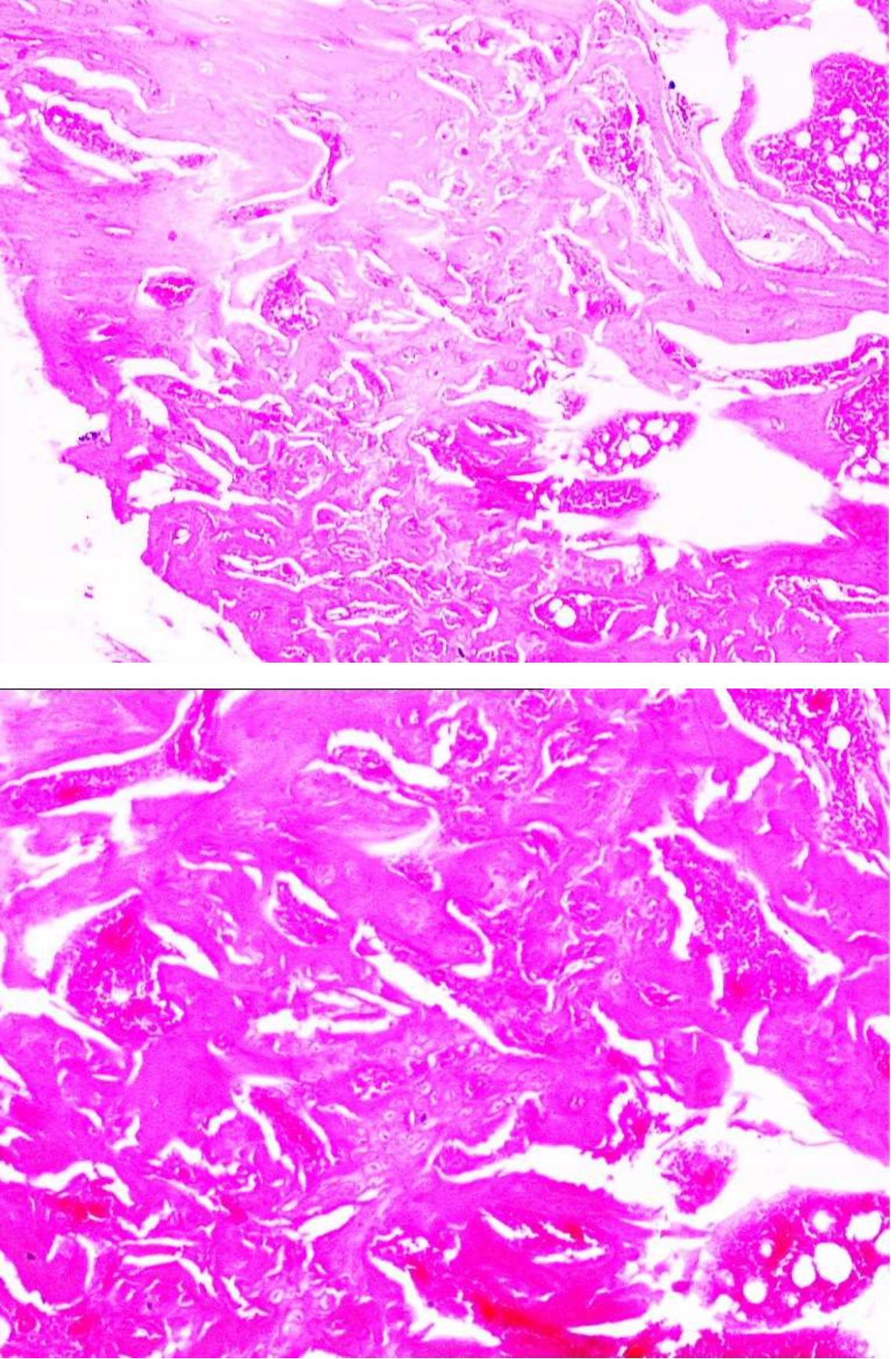
Resim 15: 1. gruba (Herhangi bir ilaç verilmeyen) ait örnek histolojik kesit (20x ve40x büyütme)



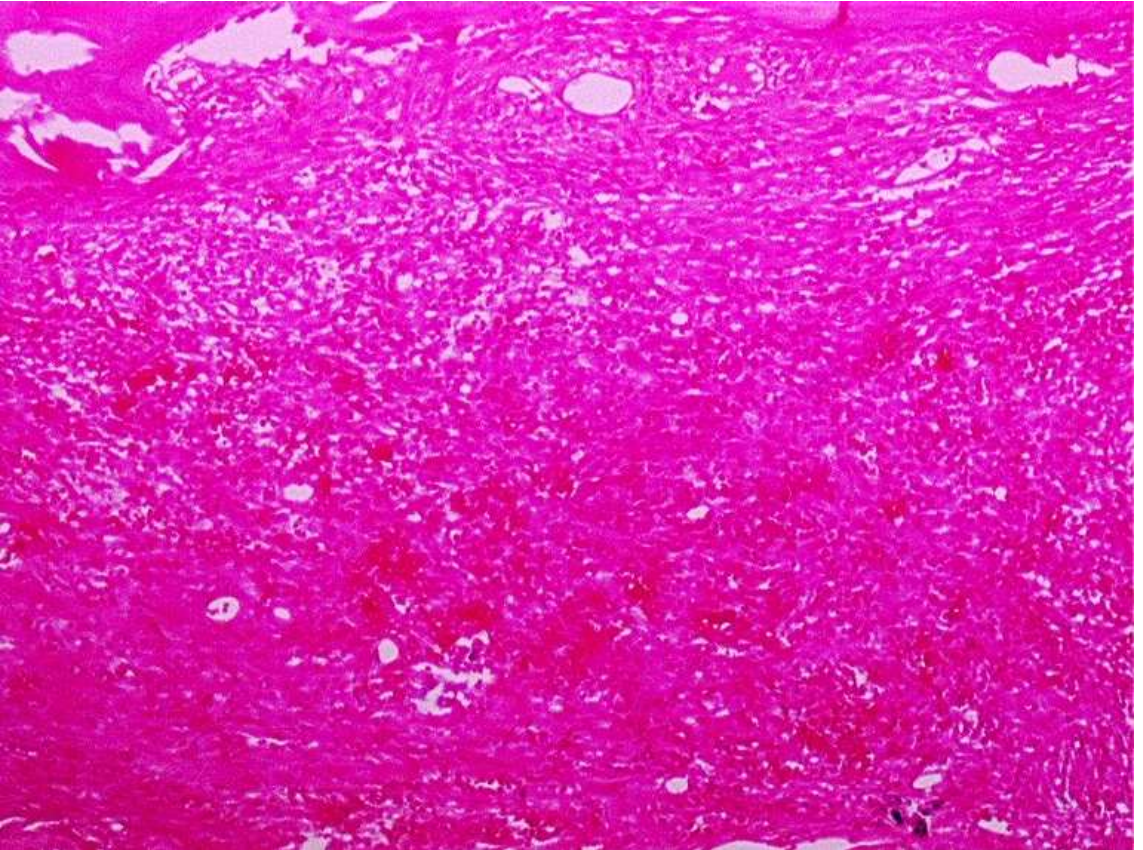
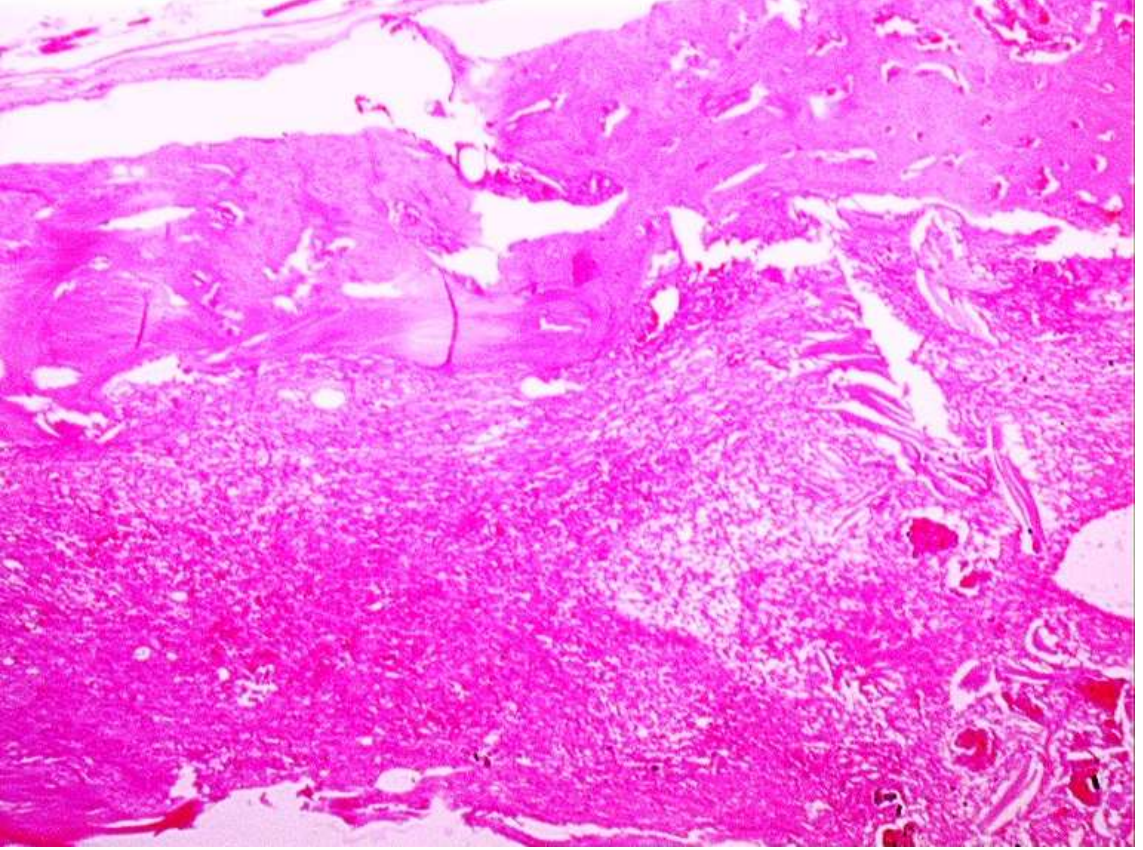
Resim 16: 2. gruba (50 mg/kg usnik asit) ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x büyütmeye)



Resim 17: 3. gruba (100mg/kg usnik asit) ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x büyütme)



Resim 18: 4. (200mg/kg usnik asit) gruba ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x büyütme)



Resim 19: 5. gruba (2ml %3 lük karboksimetil selüloz) ait örnek histolojik kesit (20x ve 40x)

IV.3. Kırık kallusunun BMD, BMC bulguları

6. hafta sonunda elde edilen kırık kallusuna ait BMD (Kemik Mineral Dansitesi) ve BMC (Kemik Mineral Kütlesi) ölçüm verileri (Tablo 7) 1-yönlü varyans analiz testine tabi tutuldu. Grup ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan's Multiple Range Test opsiyonu ile belirlendi. Buna göre tüm gruplar da BMD (Kemik Mineral Dansitesi), de günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) grup, günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen grup, günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup arasında farklılık yok. Günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup hariç diğer gruplar arasında farklılık yok. ($p=0,06$) 2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grup ile hem ilaç verilmeyen grup hem de günlük oral 50mg/kg usnik asit verilen grup ile aralarında farklılık mevcut ve 2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grubun ortalama değeri daha yüksek. BMC (Kemik Mineral Kütlesi) yönüyle günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grupla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut olup günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grubun ortalama değeri diğer gruplardan yüksek. Yine BMC (Kemik Mineral Kütlesi) yönüyle günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grubun ortalama değeri hariç diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. (tablo 9)

IV.4. Mekanik bulgular

Her bir gruptan ikişer adet toplam 10 adet sağ tibiaya three-point bending prosedürüne(86,90,120) göre uygulanan mekanik test sonucu elde edilen veriler (Tablo 8) 1-yönlü varyans analiz testine tabi tutuldu. Grup ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan's Multiple Range test opsiyonu ile belirlendi. Değerler tablo 9 da gösterildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

Tablo 7: Gruplara ve örneklere göre BMD(Kemik Mineral Dansitesi) ve BMC(Kemik Mineral Kütlesi) sonuçları

RatNo	Group no	BMD(Kemik Mineral Dansitesi)	BMC(Kemik Mineral Kütlesi)
1	1(herhangi bir ilaç verilmeyen grup)	0,154	0,07
2	1	0,147	0,07
3	1	0,137	0,07
4	1	0,174	0,09
5	1	0,143	0,06
6	1	0,138	0,07
7	1	0,119	0,06
8	2(50 mg/kg usnik asit verilen grup)	0,134	0,07
9	2	0,07	0,04
10	2	0,077	0,04
11	2	0,182	0,11
12	2	0,106	0,06
13	2	0,11	0,06
14	2	0,129	0,04
15	3(100 mg/kg usnik asit verilen grup)	0,185	0,07
16	3	0,142	0,05
17	3	0,178	0,07
18	3	0,159	0,07
19	3	0,138	0,06
20	3	0,185	0,08
21	3	0,185	0,08
22	4(200 mg/kg usnik asit verilen grup)	0,195	0,09
23	4	0,122	0,05
24	4	0,153	0,08
25	4	0,176	0,11
26	4	0,157	0,08
27	4	0,122	0,06
28	4	0,108	0,06
29	5(2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grup)	0,234	0,13
30	5	0,264	0,16
31	5	0,258	0,15
32	5	0,245	0,16
33	5	0,24	0,15
34	5	0,202	0,12
35	5	0,202	0,12

Tablo 8: Gruplara ve örneklere göre mekanik test ölçüm değerleri

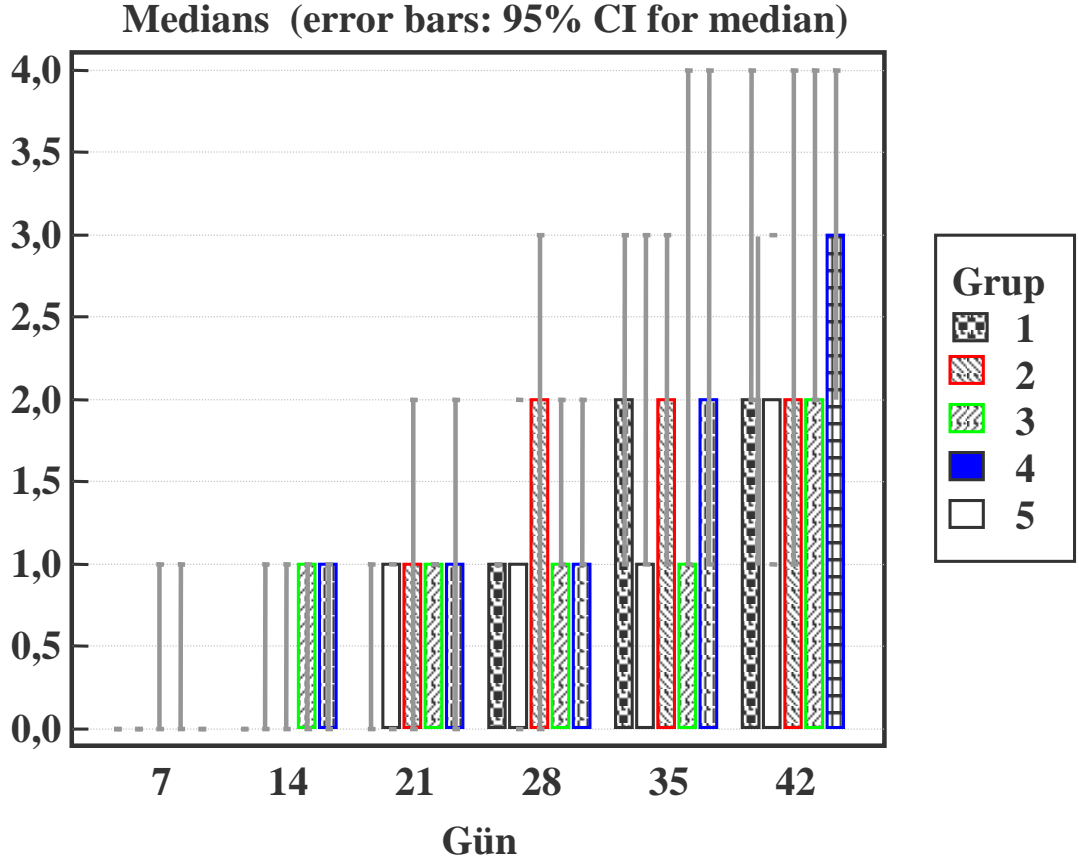
RatNo	Group no	Mekanik test sonuçları(kırılmanın meydana geldiği maksimum yük değerleri)
6	1(herhangi bir ilaç verilmeyen grup)	28,125
7	1	21,875
13	2(50 mg/kg usnik asit verilen grup)	34,375
14	2	15,625
20	3(100 mg/kg usnik asit verilen grup)	28,125
21	3	28,125
27	4(200 mg/kg usnik asit verilen grup)	31,25
28	4	84,375

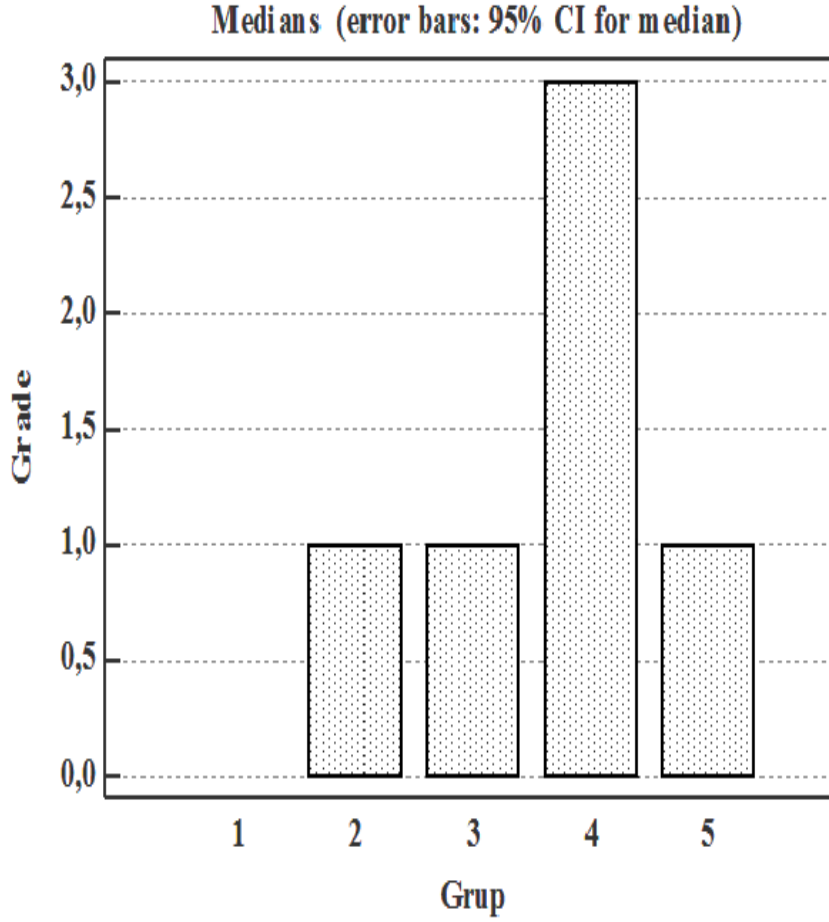
Tablo 9: Gruplara göre kemik dansitometri ve mekanik testi sonuçlarının ortalama değerleri

Parametre	Gruplar					SH	P
	1	2	3	4	5		
	Kontrol grubu	50mg/kg usnik asit	100mg/kg usnik asit	200mg/kg usnik asit	2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC)		
BMD	0,150 ^b	0,102 ^b	0,163 ^{ab}	0,159 ^{ab}	0,249 ^a	0,025	0,06
BMC	0,070 ^b	0,055 ^b	0,060 ^b	0,070 ^b	0,145 ^a	0,014	0,03
Mekanik test	25,00	25,00	28,12	32,82	21,88	5,28	0,67

Tablo 10: Grup ve postoperatif dönemlere göre Lane-Sandhu skorundaki değişim

Lane-Sandhu Skoru





Tablo 11: Gruplara göre histolojik grade.

Grup 1 (herhangi bir ilaç verilmeyen grup)

Grup 2 (50mg/kg usnik asit verilen grup)

Grup 3 (100mg/kg usnik asit verilen grup)

Grup 4 (200mg/kg usnik asit verilen grup)

Grup 5 (2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grup)

V. TARTIŞMA

Kemik dokusu diş minesinden sonra vücudun en sert dokusudur. Bu sertliği sayesinde diğer yumuşak doku ve organları destekler, kafatası, toraks, pelvis boşluğundaki hayati organları korur. Hematopoez oluşumunu sağlar, kalsiyum ve fosfat iyonları için depo görevi görür(45). Basınç çekilme, eğilme ve bükülmelere karşı ileri derecede dayanıklı olan kemik, oldukça hafif materyalden oluşmuştur(42).

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemik dokusunda olan ayrılmaya, yani kemiğin bütünlüğünün ve devamlılığının bozulmasına, başka bir deyişle kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir(2). Kırık iyileşmesi kırığın olduğu andan başlar ve olgun, organize kemik dokusu ile kemik uçları bütünlüşinceye kadar devam eder. Kırık iyileşmesi; inflamasyon, onarım ve remodelasyon olmak üzere temelde üç dönemde gerçekleşir(6,8). Bu dönemlere ait biyokimyasal ve hücrenel süreçlerin açığa kavuşturulması için kırık iyileşmesine etki edecek birçok faktörlerin araştırılmasına sebep olmuştur(91,92,56,5-8).

Kırık tedavisi, insanlığın varoluşundan bu yana birçok aşama kaydederek günümüze kadar gelmiştir. Milattan 2000-3000 sene öncelerine kadar Sümerler ve Mısırlıların kırık tespiti ile ilgili bıraktıkları yazı ve resimler mevcuttur(118). Arkeolojik çalışmalarda Mısırlılarda bambudan yapılmış ateller, sazlar, tahta veya ağaç kabuğu, yastıklı keten kullanarak başarılı eksternal fiksator uygulamalarına rastlamak mümkündür(46). 1769 da Pervical Pott kendi özel açık kırık tedavisini geliştirmiştir(118). Wolff un 1892 de ortaya attığı kemiğin strese değişikliklerine karşı adapte olduğu tezinin üzerine birçok araştırmacı kırık ve sağlam kemiklerin mekanik streslere karşı değişimini araştırmıştır(60). Yine Sarmiento A. ve arkadaşları fonksiyonel yük vermenin rat femurunda kırık iyileşmesini artırdığını(59). Michael J. Gardner I. ve

arkadaşları aralıklı aksial kompresyonun four-point bend testing ve MicroCT kullanarak kall dokusunun dayanıklılığını artırabileceğini göstermiştir(85). II. dünya savaşı sırasında Hugh Owen Thomas savaş yaralılarının tespit ederek tedaviye alınması ile amputasyon oranını yarıya düşürmüştür(118). Fukada ve Yasuda kemikte elektrik fenomenini 1957 de ilk kez rapor etmiştir(100). Kemik greftleme, otogreft ve veya allogreft prosedürü ilk kez 1800 lü yıllarda tarif edildi(46). 1950 de ilk yüksek yoğunluklu ultrason ve kemik iyileşmesi arasında ilişki araştırıldı(98). Modern tıpta otogreft altın standart olarak tarif edildi(46). 1960 lı yıllarda hidroksiapatidin kırıklarda veya kemik defektlerinde kullanımı tariflenmişti(46). 1979 da üst düzey biri 29 nonunionlu hastayı çalışmaya almış ortalama 21 ay doğru akım stimülasyonu uygulamış. %66 iyileşme oranı bildirmiştir(100). Busse JW, Bhandari M ve arkadaşlarının 1966–2000 tarihlerini ilgilendiren, 5 elektronik veri tabanının (MEDLINE, EMBASE, Cochrane Database of Randomised Clinical Trials, HealthSTAR and CINAHL) taramasıyla yaptığı meta analizde düşük yoğunluklu ultrason terapisinin kırık iyileşmesinin süresini anlamlı kısalttığını belirlemiştir(12). 1985 de Brighton ve Pollock elektriksel stimülasyonlu kapasitif darbe (electrical stimulation capacitive coupling) metodu ile nonunionu tedavi etmiş ve %77 kaynama oranı bildirmiştir(100). 1994 de Yine Scott G. King JB. yaptığı çalışmada elektriksel kapasitif darbe (electrical capacitive coupling) ile uzun kemikte oluşan nonunion tedavi sonuçlarının çok iyi olduğunu bildirmiştir(100). O'Sullivan ME. Bronk JT. ve arkadaşları erişkin köpeklerde tibia kırıklarının iyileşmesine erken ve orta dönemlerine eksternal fiksatorle artan, azalan ve sabit yük vermenin etkileri karşılaştırılmış. Artan yüklemeye kırığı zorlamaya karşı enerji emilimini, dönme momentini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir(99). Yakın zamanlarda büyüme faktörlerinin kırık iyileşmesi

üzerinde etkilerine yönelik çok sayıda çalışmalara rastlamak mümkündür. Transforming büyüme faktörü betanın kondrosit, osteoblasts ve osteoklastlar için mezenkimal öncül hücrelerin düzenleme ve stimülasyonunda kritik rolü bir dizi invitro çalışmalara dayanarak ortaya çıkarılmıştır(95). Kemik morfogenetik proteinlerin (BMPs) başlangıçta ektopik kırıkta ve kemik oluşumu teşvik edebildiği tespit edilmiştir(93). Fibroblast büyüme faktörlerinin kemikte önemli miktarda bulunması bazı çalışmalarda, normal kırık iyileşmesine dahil olabileceklerini gösterilmiştir(96). Son zamanlarda, birkaç kemik morfogenetik protein varlığı ve reseptörleri kırık iyileşme sürecinde tanımlanmıştır(94). Thomas A. Einhorn. ve arkadaşları tek bir subkutan Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 in kırık iyileşmesini artırdığını göstermiştir(19). Rasubala L. ve arkadaşları PDGF-B ve BMP-2 in kırık iyileşmesi ne etkisi ile ilgili çalışmasında BMP-2 kırık iyileşmesini bütün dönemlerde artırdığını aynı zamanda PDGF-B erken ve orta dönemde kırık iyileşmesini artırmış ancak geç dönemde artırmadığı sonucunu tespit etmiştir(97). Kırıklar büyük oranda konservatif veya cerrahi tedavi yöntemleriyle kaynamaktadırlar. Ancak %5-10 luk bir bölümü kaynamama veya geç kaynama gibi problemler oluşmaktadır(98,4). Binlerce yıllık birçok aşamalar kaydetmesine rağmen anlaşıldığı üzere kırık iyileşmesi halen günümüzde de önemli sorun oluşturmaktadır. Her geçen zamanda kırık iyileşmesini hızlandırmak ve kaynama ile ilgili problemleri azaltmak için çalışmalar yapılmaktadır. Bu durum bizi kırık iyileşmesinde yararlı olabilecek yeni arayışlara sürüklemiştir. Bu amaçla *Dolichousnea longissima* (Ach.) *Articus* liken türünden elde edilen usnik asidin kırık iyileşmesine olan etkilerini ratlarda tibia açık kırık modeli ile araştırdık.

Yapmış olduğumuz literatür araştırmasında kırık iyileşmesi üzerine birçok çalışmalara rastladık(101-108,84-87,6-19). Bu çalışmalarda bir çok hayvan türleri

kullanılmıştır. Literatürlerde sıklıkla tavşanlar (101-104), fareler (105,85), ratlar (84,86,87), köpekler (106,107) ve koyunların (108) kullanıldığını gördük. Biz yapmış olduğumuz deneysel çalışmada ratları tercih etmemizin sebebi; izogenik ratların daha kolay bulunabilen daha dayanıklı bir canlı olmasıdır. Ayrıca ratların kullanılarak yapıldığı birçok deneysel kırık modellerinin olması da (84,86,87,90,109,110) bizi bu konuda teşvik etmiş ve ratları tercih etmemize sebep olmuştur.

Kırık iyileşmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda birçok kırık modeli uygulanmıştır. Ratlar üzerinde yapılan kırık iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda kabaca açık (84,86,87) ve kapalı (90,109,110) kırık modellerinin uygulandığını gördük. Çalışmamızda rat tibiasın da açık kırık modelini tercih ettik. Yapılan birçok çalışmada kapalı kırık modelinin (90,109,110) uygulanması açık kırık modelinde oluşturulan kırıklarda kaynama gecikmesi veya kaynamama durumlarına meyilli oldukları gözlemlendiğinden tercih edilmiştir. Fakat biz çalışmamızda açık kırık modeli tercih ettik. Kırık iyileşmesini etkileyeceğini düşündüğümüz açık kırık yönteminin kullandığımız usnik asidin kırık iyileşmesindeki etkinlik derecesini göstermede daha da başarılı olabileceğini düşündük(111). Ayrıca açık kırık modelinde kırığın lokalizasyonu itibariyle standardizasyonu daha başarılı bir şekilde yakalayacağımızı düşündük.

Literatürde de intramedüller tespiti ait bir çok örneğe de rastlamamız (41,84-87,119,120) bizim için bu konuda daha da teşvik edici olmuştur. Kırık tespitinde gerek kullanım kolaylığı, gerek elde edilebilirliğinin kolay olması yönüyle intramedüller tespit metodunu kullandık. Ayrıca fibulanın sağlam kalmasını sağladık. Çünkü sağlam fibula bizim için rotasyonel stabilitenin korunmasında önemli rol oynadığını tespit ettik buda çalışmamızda oluşturduğumuz kırık modellerinin standardizasyonuna katkı sağladığını düşünmekteyiz(84-87).

Likenler tanım olarak, bir mikobiyont (fungal ortak) fotobiyont (fotosentez yapan) alg ya da siyanobakteriden oluşan simbiyotik organizmalardır(20). Şekil ve yaşayış bakımından kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler.

Günümüzde çevre kirliliği, küresel ısınma, ozon tabakasının delinmesi vb. çevre sorunları dikkate alındığında likenlerin yaşam ömrü azalmış olsa da, likenler uygun şartlar altında (temiz hava, yeterli nem ve ışık vb.) yine de 1000 yıldan fazla hayatta kalabilirler. Mezar taşları ve bazı tarihi eser anıtların yaşları ile heyelan ve depremlerin meydana geliş tarihleri likenler incelenerek belirlenebilir(71).

Likenlerin sekonder ürünleri olan liken asitleri likenlere doğadaki karasal süksesyonda (tedrici gelişim) öncül bitki olma özelliği kazandırmıştır(69).

Bitkisel organizmalar içerisinde incelenen likenler de antik çağlardan beri morfolojik özelliklerine dayanılarak (örneğin: akciğere benzeyen *Lobaria pulmonaria*) o organdaki hastalıkların tedavisinde yararlanılmaya çalışılmış ve tıbbi özellikleri itibariyle değerlendirilmişlerdir(26,28). Diğer taraftan likenlerin boya ve kozmetik sanayisinde ham madde olarak ve hava kirliliğini belirlemek amacıyla kullanıldıkları da kaydedilmiştir(25,26,27).

Likenler, dünyada ve ülkemizde çok eski zamanlardan beri halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) birçok ülkedeki yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, dünyada tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam tür sayısı yirmibin civarındadır(22,23,24).

Son yıllardaki araştırmalar, liken metabolitleri ve onların antimikrobiyal etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır. Araştırmalar sonucunda 800'ün üzerinde liken metabolitinin yapısı aydınlatılmıştır(28,29,30).

Gün geçtikçe likenlerin tıbbi önemleri bilim adamlarının ilgisini çekmekte ve likenlerin tıbbi kullanım alanları, araştırmacıların likenler üzerinde yoğunlaşmasını sağlamaktadır.

Şu ana kadar likenlerin kırık iyileşmesi üzerine yapılmış herhangi bir çalışma mevcut değildir. "Ethnobotanical notes on three Indian lichens" adlı çalışmada *Dolichousnea longissima* (Ach.) Articus nın benzer türlerin, diğer bazı malzemelerle birlikte, bazı halklar tarafından kırık sağaltımında kullanıldığına dair bilgi mevcuttur(Brij Lal 1988,1990). *Dolichousnea longissima* (Ach.) Articus un muhtemelen usnik asitten dolayı astım gibi olumsuz respiratuvar etkileri olduğu iddia edilmektedir(Hale 1967).

Yapılan kırık iyileşmesi ile ilgili çalışmaların birçoğunda, radyolojik inceleme yapılmış ve çeşitli skorlama metodları kullanılmıştır. Genel olarak baktığımızda, Goldberg ve arkadaşlarının yaptığı(112,113,114). gibi üç kriterden oluşan skorlama sistemi, bazı çalışmalarda An ve arkadaşlarının kullandığı skorlama sistemi(115). ve bazı çalışmalarda ise Lane ve Sandhu'nun kullandığı skorlama sistemini mevcut(116). Biz yaptığımız çalışmadaki radyolojik verileri yukarıda saydığımız örnekler ve diğer başka değerlendirme metodlarını kullanarak en sağlıklı verileri Lane ve Sandhu'nun kullandığı skorlama(88). metodundan alacağımızı düşündüğümüz için bunu kullandık.

Kırık iyileşmesinin histolojik analizinde literatürde çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Huo ve arkadaşları kırık bölgesindeki hücresel farklılaşmayı 1 den 10' a kadar puan vererek derecelendirmişler(117). Literatürde bunlara ek olarak Modifiye Lane-Sandhu histolojik değerlendirme skalası da kullanılmıştır(88). Allen ve arkadaşları kallus dokusunun iyileşme aşamalarının değerlendirilmesinde 5 dereceli (grade) skorlama sistemi kullanmışlardır(89). Yapmış olduğumuz incelemede kırık hattındaki kallusun hangi

aşamada olduğunu ve kalitesini belirlemek amacıyla Allen ve arkadaşlarının uyguladığı bu değerlendirme skalasını kullandık.

Haftalık aralıklarla tüm ratların sağ tibialarına çekilen direkt radyografi Lane-Sandhu radyolojik skorlama sistemine(88). göre değerlendirildi. Elde edilen tüm radyolojik veriler Kruskals-walis testine tabi tutuldu. Bu sonuçlara göre usnik asit verilen tüm grupların (2. 3. 4. grup) radyolojik ortalama değerleri ilaç verilmeyen gruba göre (1. grup) anlamlı yüksek. ($p=0,008$) 50mg/kg usnik asit verilen grup (grup 2), 100mg/kg usnik asit verilen grup (grup 3) ve 2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grubun (grup 5) arasında anlamlı farklılık yok. Ancak 200mg/kg usnik asit verilen grubun (grup 4) radyolojik verilerinin ortalama değeri 2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grubun (grup 5) radyolojik ortalama değerinden anlamlı yüksek. ($p=0,008$) Aynı zamanda 2ml %3 lük karboksimetil selüloz verilen grubun (grup 5) ile ilaç verilmeyen grup (1. grup) arasında anlamlı farklılık yok. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde usnik asit radyolojik açıdan kırık iyileşmesine olumlu katkıda bulunmaktadır.

6. hafta sonunda sakrifiye edilen ratların çıkarılan sağ tibiaları, her gruptan rastgele 5'er adet seçildi ve histopatolojik inceleme yapıldı. Allen ve ark. yaptığı 5 dereceli histolojik skorlamaya göre skorlandı(89). Elde edilen veriler Kruskals-walis testine tabi tutuldu. 200 mg/kg usnik asit verilen grubun (grup 4) ortalama değeri en yüksek olup tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut ($P = 0,002$) (tablo 6). Hiç ilaç verilmeyen kontrol grubu (grup1) ise en düşük ortalama değere sahipti. 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup (grup 5) ile hiç madde verilmeyen grup (grup 1) birbiri ile kıyaslandığında 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup (grup 5) daha yüksek bir ortalama değere sahipti ($P = 0,002$). Bunun nedenini karboksimetil selüloz (CMC) un içinde bulunan karbonhidrattan kaynaklanan

denek hayvanlarda sağladığımız besinsel desteğe bağlı olduğunu düşünüyoruz. 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup (grup 5) ile 50 mg/kg usnik asit verilen grup (grup 2), 100 mg/kg usnik asit verilen grup (grup 3) arasında anlamlı farklılık yok. 200 mg/kg usnik asit verilen grup (grup 4) ortalama değeri tüm gruplara göre anlamlı yüksek. (p=0,002) Bunun nedeni usnik asidin rat tibia kırık modelli çalışmalarda etkin olabilmesi için, miktarının 200mg/kg veya üzeri dozda olması gerektiğini düşünmekteyiz. Bu sonuçlara göre usnik asitin kallus maturitesini artırdığı görülmektedir. Burada usnik asit verilen grupların histolojik olarak ortalama değerinin ilaç verilmeyen gruplara göre yüksek çıkması bu yüksekliğin usnik asidin suda çözünür forma dönüşmesi için kullanılan karboksimetil selüloz (CMC) dan da kaynaklanmış olacağı sorusunu akla getirebilir. Ancak 200 mg/kg usnik asit verilen grubun (grup 4) histolojik ortalama değerinin tüm gruplardan anlamlı yüksek çıkması usnik asidin kall dokusunun matüritesini artırdığı sonucuna ulaşmamızı sağlar. Aynı zamanda 200 mg/kg usnik asit verilen grubun ortalama değeri ile diğer grupların ortalama değerlerine göre bir hayli yüksek çıkmıştır.(p=0,002)(tablo 6)

6. hafta sonunda sakrifiye edilen tüm ratlardan diseke edilen tibialar kırık kallusuna zarar vermeden yumuşak dokulardan temizlendi. Ringer solusyonu içerisinde, her gruptan 7 şer adet olmak üzere tüm ratların sağ tibiaların kırık hattının 5mm proksimali ve 5mm distali olacak şekilde 10 mm lik alanda BMD (Kemik Mineral Dansitesi) ve BMC (Kemik Mineral Kütlesi) ölçümü yapıldı(90). BMD (Kemik Mineral Dansitesi) ne göre günlük oral 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verilen grubun (5. grup), ilaç verilmeyen grup (1. grup) ve günlün oral 50 mg/kg usnik asit verilen gruba (2. grup), göre yüksek ortalama değere sahip. BMC (Kemik Mineral Kütlesi) e göre günlük oral 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen grubun tüm gruplara göre

anlamli yüksek ortalama değere sahip. Bu verilere göre günlük oral 2ml %3 lk karboksimetil seluloz (CMC) verilen grubun kallus dokusunun hacminde artış olduğunu söyleyebiliriz. Ancak radyolojik ve histolojik verilerle karşılaştırdığımızda karboksimetil seluloz (CMC) için kırık iyileşmesine olumlu bir etkiden söz etmek pek mümkün değil.

Dansitometrik, incelemenin ardından her gruptan rastgele ikişer adet sağ tibialar mekanik teste tabi tutuldu. Yaptığımız literatür araştırmalarında genellikle kırık iyileşmesinin 28,42ve56. günlerinde bu analizlerin yapıldığını gördük buda bizi bu testleri yapmak için cesaret verici oldu(110,113,86,90). Aynı zaman haftalık çekilen direkt rntgeno gramlarda, 42. günde, deneysel kırık oluşturulan tibialardaki iyileşmenin mekanik test için yeterli derecede olduğuna kanaat getirdik. Rat tibia kırık modelleri ile ilgili çalışmalarda mekanik testlerde three-point bending (86,120), tension test (119), sıçan tibia kırık modelinde four-point bending (85), gibi prosedürler uygulandığını gördük. Biz alışmamızda rat tibiası için daha kolay uygulaya bileceğimizi düşündüğümüzden mekanik incelemede iyileşen tibiaların bükülmeye karşı dirençlerini omek için cihazda three-point bending ( nokta bükülme) prosedürünü uyguladık(86,90,120). Uygulama esnasında cihazdan elde edilen tüm zaman, yük ve defleksiyon verileri bilgisayara kaydedilerek yk-defleksiyon eğrileri yardımıyla kırılmanın meydana geldiği maksimum yük değeri tespit edildi. Mekanik verilere göre usnik asit verilen grupların ortalama değerleri her ne kadar yüksek çıksa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Mekanik test verilerinin ortalama değerlerinin gruplar arasında anlamlı farklılık olmaması örnek sayısının az olmasından kaynaklanmış olması kuvvetle muhtemeldir.

VI. SONUÇ ve ÖNERİLER

Radyolojik verilerin ortalamaları değerlendirildiğinde usnik asit verilen tüm grupların ortalama değerlerinin ilaç verilmeyen gruba göre anlamlı yüksek çıkması, bize usnik asidin kırık iyileşmesinde olumlu katkısı bulunduğunu gösterdi. Radyolojik verilere göre günlük oral 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen grup ile hiç ilaç verilmeyen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmaması karboksimetil selüloz (CMC) un kırık iyileşmesi üzerine radyolojik olarak olumlu etkisinin olmadığını gösterdi. Günlük oral 50 mg/kg usnik asit, 100 mg/kg usnik asit, 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması muhtemelen usnik asidin bu iki grupta verilen dozun yetersizliği ile alakalı olabilir. Günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen gruba radyolojik veriler ortalama değerinin 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen gruba ve ilaç verilmeyen gruba göre anlamlı yüksek çıkması bize radyolojik olarak usnik asidin kırık iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

Histolojik verilerin ortalamalarını değerlendirdiğimizde radyolojik verilerle göre paralellik görmekteyiz. Günlük oral 50 mg/kg usnik asit verilen grup (grup 2), günlük oral 100 mg/kg usnik asit verilen grup (grup 3) ve günlük oral 2ml %3 lik karboksimetil selüloz (CMC) verilen gruplar (grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadık. Bu üç grubun histolojik verilerin ortalama değerleri ilaç verilmeyen gruba göre anlamlı olarak yüksekti($p=0,002$). Günlük oral 200 mg/kg usnik asit verilen grubun histolojik verilere göre ortalama değerleri diğer tüm gruplara göre anlamlı yüksek olması ve ortalama değerinin çok yüksek olması, usnik asidin histolojik verilere göre kallus oluşumunu ve kalitesini artırdığını bize göstermektedir($p=0,002$).

Mekanik test sonucu elde edilen verilerin ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık saptayamadık. Bu sonucu mekanik testte grup başına düşen denek sayısının yetersiz olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Biz bu çalışmamızda usnik asidin kırık iyileşmesine radyolojik ve histolojik veriler ışığında olumlu katkı sağladığı sonucuna vardık. Usnik asidin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin belirlenmesinde daha çok sayıda, daha farklı çeşitteki denekler üzerinde daha çok parametrelerle farklı usnik asit dozları ve uygulama yollarıyla yapılacak çalışmalar için umut verici olduğunu düşünmekteyiz.

VII.ÖZET

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler ile ilgili günümüze kadar birçok çalışmalar yapılmış ve bunların bir kısmı klinikte kullanım alanı bulmuştur.

Biz çalışmamızda usnik asidin kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerini rat tibiası üzerinde oluşturulan açık kırık modeli ile araştırdık

Ağırlıkları 250–300 gr arasında değişen 35 adet Wistar albino cinsi erkek ratın 35 adet sağ tibiasına açık kırık modeli uygulandı. Tüm ratlar 5 ayrı gruba ayrıldı. Birinci gruba herhangi bir ilaç verilmedi. İkinci gruptaki ratlara oral yoldan 50 mg/kg usnik asit verildi. Üçüncü gruptaki ratlara 100 mg/kg usnik asit verildi. Dördüncü gruptaki ratlara 200 mg/kg usnik asit verildi. Beşinci gruptaki ratlara 2ml %3 lük karboksimetil selüloz (CMC) verildi. Tüm ratların sağ tibialarına haftalık aralıklarla direkt yan grafi çekildi. 6. hafta sonunda tüm ratlar sakrifiye edildi ve dansitometrik inceleme yapıldı. Her gruptan 5 er adet olmak üzere rastgele seçilen toplam 25 adet opere edilen sağ rat tibiası histopatolojik incelemeye gönderildi. Kalan her gruptan ikişer adet olmak üzere 10 adet sağ tibia mekanik teste tabi tutuldu.

Tüm gruplardan Lane-Sandhu radyolojik skorlama sistemine göre elde edilen veriler Kruskals-walis testine tabi tutularak grupların aralarındaki etkileşim test edildi. Radyolojik verilere göre 200mg/kg üsnik asit verilen grubun radyolojik ortalama değeri, 5.(2ml %3 lük karboksimetil selüloz) ve 1.(herhangibir ilaç verilmedi) gruba göre anlamlı yüksek bulundu.

Histolojik veriler Kruskals-walis testine tabi tutuldu. Bu verilere göre 4.(200mg/kg üsnik asit) grup diğer gruplara göre en yüksek ortalama değere sahip olup istatistiksel olarak anlamlı. 5.(2ml %3 lik karboksimetil selüloz) 2.(50mg/kg üsnik asit) ve

3.(100mg/kg üsrik asit) gruplar arasında anlamlı farklılık yok ($p=0,002$) ve bu üç grubun ortalama değeri 1.(herhangi bir ilaç verilmedi) gruba göre anlamlı yüksek.

Mekanik verilerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı. Yaptığımız çalışmada usrik asit ratlarda açık tibia modelinde kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kemik kırığı, açık kırık modeli, İntramedüller tespit, usrik asit

VIII.SUMMARY

Many studies have been made to present about fracture healing and related to factors affecting fracture healing and some of them are used as clinical.

In this study we investigated the effects of usnik acid on fracture healing with open tibia fracture model in rat.

35 right-tibia of 35 male Wistar albino Rat which average weight ranging between 250–300 gr were studied. To the right tibia of all rats open tibia fracture model was applied. The rats randomly were divided into 5 groups. To the first group was not given any drug. To the second group of rats were given 50 mg / kg usnik acid. To the third group of rats were given 100 mg / kg usnik acid. To the Fourth group of rats were 100 mg / kg usnik acid. To the Fifth group of rats were given 3% at 2 ml karboksimetil cellulose (CMC). To the right tibia of all rats directly radiographi was taken weekly intervals. At the end of 6.week all rats were sacrificed and densitometric analysis was performed. 25 operated right tibia of rats were sent to histopathological examination (5 right tibia of rats in each group). Other 10 operated right tibia of rats were subjected to mechanical tests. (2 right tibia of rats in each group).

Radiological scoring was made according to criteria Lane - Sandhu reported. All data according to the Lane-Sandhu radiological scoring system obtained by Kruskals-walis test their interactions were tested. According to the radiological data average value of the 4. (200 mg/kg usnic acid) group significantly higher than the 1. (no any drug) and 5. (3% at 2 ml karboksimetil cellulose) group.

Histological data were tested Kruskals-walis. According to histological data the 4.(200 mg/kg usnic acid) group have the highest average value is statistically significant. Between the 5. (3% at 2 ml karboksimetil cellulose) 2. (50 mg/kg usnic

acid) ve 3. (100 mg/kg usnic acid) groups, no significant differences were observed and the average value of these three groups significantly higher than the 1. (no any drug) group.

Between mean values of mechanical data no statistically significant differences found. In this study we suggested that usnic acid accelerate fracture healing in open tibia fractures of rats.

Key words: Bone fracture, open fracture model, intramedullary nailing, usnic acid.

IX.KAYNAKÇA

- 1) Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji. Malatya: Pelikan yayınları, 2004: 101-114
- 2) Ege. R. Kırıkların etyopatolojisi ve biyomekaniği In Travmatoloji:Kırıklar Eklemler ve Diğer yaralanmalar Cilt1. Ankara: Bizim Büro Basımevi. 2001:35-53
- 3) Sinha S, Goel SC. Effect of amino acids lysine and arginine on fracture healing in rabbits: A radiological and histomorphological analysis. Indian Journal of Orthopaedics. 2009; V (43) I(4): 328-334
- 4) Einhorn TA. Current concepts review, Enhancement of fracture-healing, J Bone Joint Surg. 1995;77:940-56
- 5) Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. Injury, Int. J. Care Injured. 2005; 36: 1392—1404
- 6) Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop Relat Res. 1998 ;355: S7-S21
- 7) Phillips AM: Overview of the fracture healing cascade.Injury. 2005; 365:5-7
- 8) McKibbin B: The biology of fracture healing in long bones. J Bone Joint Surg. 1978; 60B: 150-62
- 9) Kershaw CJ, Cunningham JL, Kenwright J. Tibial external fixation,weight bearing and fracture movement. Clin Orthop Relat Res. 1993; 293:28-36
- 10) Hadjiargyrou M, McLeod K,Ryaby JP, Rubin C. Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. Clin Orthop Relat Res. 1998; 355Sup: 216-229
- 11) Kristiansen TK, Ryaby JP, McCabe J,et al. Accelerated healing of distal radial fractures with the use of specific,low intensity ultrasound. J Bone Joint Surg 1997; 79A: 961-973

- 12) Busse JW, Bhandari M, Kulkarni AV, Tunks E. The effect of low-intensity pulsed ultrasound therapy on time to fracture healing:A meta-analysis. *Canadian Med.Ass.Jou.* 2002; 166(4): 437-441
- 13) Cornell CN,Lane JM: Newest factors in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1992 ;277: 297-311
- 14) Einhorn TA, Bonnarens F, Burstein AH: The contributions of dietary protein and mineral to the healing of experimental fractures:a biomechanical study. *J Bone Joint Surg.* 1986; 68A:1389-95
- 15) Cruess RL, Sakai T: Effect of cortisone upon synthesis rates of some components of rat bone matrix. *Clin Orthop Relat Res.* 1972; 86:253-59
- 16) Simmons DJ, Kunvin AS: Autoradiographic and biochemical investigations of the effect of cortisone on the bones of the rat. *Clin Orthop Relat Res.* 1967 ;55:201-15
- 17) Kenwright J, Goodship AE: Controlled mechanical stimulation in the treatment of tibial fractures. *Clin Orthop Relat Res.* 1989 ;241:36-47
- 18) Ryaby JT: Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1998 ;355Supp:205-15
- 19) Einhorn TA,Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM,et al: A single percutaneous injection of recombinant human bone morfogenetic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg* 2003;85A:1425-35
- 20) Nash I, Thomas H. *Lichen Biology.* Cambridge University Pres. 1996; 304p, UK
- 21) Aslan A, Öztürk A, Kaya E. Likenlerin ekonomik önemi ve Oltu bölgesinden tesbit edilen önemli liken türleri. Geçmişten geleceğe Oltu ve Çevresi Sempozyumu, Erzurum. 1998

- 22) Öztürk A, Aslan A. Likenlerin ekonomik özellikleri ve Kuzeydoğu Anadolu'dan bazı liken türleri. *Yüzüncü Yıl Univ., Fen-Edeb. Fak., Fen Bilimleri Dergisi*. 1991; 2 (2): 27–42
- 23) Aslan A, Öztürk A. Oltu (Erzurum) Yöresine ait liken florası üzerine çalışmalar. *Tr J Botany*. 1994; 18: 103–106
- 24) Aslan A. Lichens from the Regions of Artvin, Erzurum, and Kars, Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences*. 2000; 48: 143-155
- 25) Cocchietto M, Skert N, Nimis PL, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*. 2002; 89: 137–146
- 26) Dilsizoğlu A, Kavuncuoğlu Z, Oba D. Eski ve yeni kullanım alanları, bilinmeyen yönleriyle likenler. *Tübitak Bilim ve Teknik*. 2004; 439: 86–89
- 27) Yazıcı K, Aslan A. Distribution of epiphytic lichens and air pollution in the city of Trabzon, Türkiye. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2006; 77: 838-845
- 28) Boustie J, Grube M. Lichens—a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*. 2005; 3(2): 273–287
- 29) Huneck S. The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*. 1999; 86: 559–570
- 30) Ingólfssdóttir K. Molecules of interest: usnic acid. *Phytochemistry*. 2002; 61: 729-736
- 31) Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A et al. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2006; 103: 59-65

- 32) Yazıcı K, Aslan A. Lichens from the regions of Gümüşhane, Erzincan and Bayburt (Turkey). *Cryptogamie Mycologie*. 2003; 24: 287–300
- 33) Fournet A, Ferreira ME, Rojas de Arias A, Torres de Ortiz S, Inchausti A, Yaluff G, Quilhot W, Fernandez E, Hidalgo ME. Activity of compounds isolated from Chilean lichens against experimental cutaneous leishmaniasis. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*. 1997; 116: 51–54.
- 34) Ingolfsdottir K, Chung GA, Skulason VG, Gissurarson SR, Vilhelmsdottir M. Antimycobacterial activity of lichen metabolites in vitro. *Eur J Pharm Sci*. 1998; 6: 141–144.
- 35) Scirpa P, Scambia G, Masciullo V, Battaglia F, Foti E, Lopez R, Villa P, Malecore M, Mancuso S. A zinc sulphate and usnic acid preparation used as post-surgical adjuvant therapy in genital lesion by human papillomavirus. *Minerva Ginekol*. 1999; 51: 255–260.
- 36) Junquera LC, Carneiro J. Basic Histology. Tercüme: Aytakin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji, İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 2006: 141-160
- 37) Hancox NM. Biological Structure and Function 1 Biology of Bone. In Harrison RJ, McMİN MH, eds. Biological Structure and Function Series. CUP Archive, 1972:3-62
- 38) Eroschenko VP. Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. Tercüme: Demir R. Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, Ankara Palme Yayıncılık. 2001: 41-62
- 39) Buchvalter JA, Musculoskeletal tissues and musculoskeletal system. In Weinstein SL, Buckwalter JA, eds. Turek's Orthopaedic: Principles and Their Application. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2005:3-56

- 40) Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone Biology-1. J Bone Joint Surg 1995; 77: 1256-1275
- 41) Gültekin A. İnsan Amniotik Sıvısının Tek Başına ve İnsan Amniotik Membranı ile Birlikte Uygulanmasının Ratlarda Kırık İyileşmesi Üzerine Etkileri (Deneysel Çalışma).Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Tıpta Uzmanlık. İzmir. 2007
- 42) Akay MT. Genel Histoloji. Ankara: Palme Yayıncılık, 2001:126-182
- 43) Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology. New York, London: Chapman & Hall, 1994: 194-233
- 44) Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology. Tercüme: Demir R. Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Ankara. Palme Yayıncılık. 2006: 95-129
- 45) Gökçimen A. Genel Tıbbi Histoloji. Isparta: SDÜ Basımevi, 2006: 89-102
- 46) Hing KA. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering. The Royal Society. 2004; 362: 2821-2850
- 47) Knothe Tate ML, Adamson JR, Tami AE, Bauer TW. Cells in Focus The Osteocyte. The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology 2004; 36: 1-8
- 48) Bruzzaniti A, Baron R. Molecular Regulation of Osteoclast Activity. Rev Endocr Metab Disord 2006; 7: 123-139
- 49) Kelly PL. Anatomy, Phisylogy and Pathology of the Blood Supply of Bones. The Journal of Bone and Joint Surgery 1968; 50: 766-783
- 50) Chund U, Kawaguchi H, Takato T, Nakamura K. Distinct Osteogenic Mechanisms of Bones of Distinct Origins. J. Orthop. Sci 2004; 9: 410-414
- 51) Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone Biology-2. J Bone Joint Surg 1995; 77: 1276-1289

- 52) Gil FTH, Gracia MAA, Pingarron MC, Jerez LB. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E151-157
- 53) Taljanovic MJ, Jones MD, Ruth JT, Benjamin JB, Sheppard JE, Hunter TB. Fracture Fixation. *RSNA* 2003; 23: 1569-1590
- 54) Ege. R. Kırık İyileşmesi. In *Travmatoloji:Kırıklar Eklemler ve Diğer yaralanmalar Cilt1*. Ankara: Bizim Büro Basımevi. 2001:55-94
- 55) Selvi F. Deneysel Olarak Oluşturulan Kırıklara Bifosfanat İlaç Kullanımının Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. İstanbul. 2008
- 56) Marsh DR, Li G. The biology of fracture healing: optimising outcome. *British Medical Bulletin*. 1999; 55 (No 4): 856-869
- 57) Jensen JE, Jensen TG, Smith TK, Johnston DA, Dudrick SJ. Nutrition in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg*. 1982; 64A:1263-1272
- 58) Raikin SM, Landsman JC, Alexander VA, et al. Effect of nicotine on the rate and strength of long bone fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1998; 353: 231-237
- 59) Sarmiento A, Schaeffer JF, Beckerman L, et al. Fracture healing in rat femora as affected by functional weight-bearing. *J Bone Joint Surg* 1977;59A:369-375
- 60) Meadows TH, Bronk JT, Chao EYS, Kelly PJ. Effect of weight bearing on healing of cortical defects in the canine tibia. *J Bone Joint Surg* 1990; 72A: 1074-1080
- 61) Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA: The role of growth factors in the repair of bone: Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg*. 2002; 84A: 1032-1044
- 62) Richardson DHS. 1975: *The Vanishing Lichens*. David and Charles
- 63) Richardson DHS. *Lichens as Pollution Monitors*. 1992: Richmond Publishing

- 64) Taylor TN, Hass H, Remy W, Kerp H. The oldest fossil lichen. *Nature*. 1995; 378: 244
- 65) Baron G. 1999; *Understanding Lichens*. Richmond Publishing Slough. England
- 66) Dobson FS. 2005; *Lichens: An Illustrated Guide to British and Irish Species*, by Fifth Edition Richmond Publishing
- 67) <http://www.earthlife.net/lichens/intro.html>
- 68) Altun D. *Usnea longissima* Ach. Likenin Drosophila Melanogaster' İn Çeşitli Gelişim Parametreleri Ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, ERZURUM. 2007
- 69) Aslan A. Erzurum-Kars-Artvin arasında yer alan bölge likenleri üzerine taksonomik incelemeler. Doktora tezi, Uludağ üniversitesi Fen bilimleri enstitüsü, BURSA. 1995
- 70) <http://tr.wikipedia.org/wiki/Likenler>
- 71) Armstrong RA. Lichens, Lichenometry And Global Warming. *Microbiologist*. 2004; 5(3): 32-35
- 72) Lawrey JD. Biological role of lichen substances. *Biyologist*. 1986; 89: 111–122
- 73) Müler K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2001; 56: 9–16
- 74) İçlim A, Dığrak M, Bağcı E. Bazı bitkisel ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Tr J Biology*. 1998; 22: 119–125
- 75) Harmala P, Hiltunen R, Caldentey KM, Laakso T, Kauppinen V. Isolation and in vitro cultivation of lichen alga and their antimicrobial properties. *Fitoterapia*. 1992; 63 (3): 3217-3225
- 76) Dülger B, Gücin F, Aslan A. *Cetraria islandica* (L.) Ach. likeninin antimikrobiyal aktivitesi. *Tr. J. Biology* 1998; 22: 111–118.

- 77) Dülger B, Gücin F, Kara A, Aslan A. *Usnea florida* (L.) Wigg. likeninin antimikrobiyal aktivitesi. *Tr. J. Biology* 1997; 21: 103–108
- 78) Vartia KO. Antibiotics in lichens. I. *Ann-Med Ex Biol Fenn.* 1950; 27: 46-54
- 79) Huneck S. New results on the chemistry of lichen substances. *Fortschr-Chem-Org-Naturst.* 2001; 81: 1-276
- 80) Culberson CF. 1969. *Chemical and Botanical guide to Lichen Products.* The Univ of North Carolina Press Chapel Hill
- 81) Aslan A, Yazici K, Karagoz Y. Lichen flora of the Murgul district Artvin, Turkey. *Israel J Plant Sci.* 2002; 50 (1): 77-81
- 82) PURVIS, O. W., COPPINS, B. J., HAWKSWORTH, D. L., JAMES, P. W., MOORE, D. M., 1992: *The Lichen Flora of Great Britain and Ireland.* Natural History Museum Publications in association with the British Lichen Society, London, 710 pp.
- 83) Huneck S, Yoshimura I. 1996. *Identification of lichen substances.* Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York, p.491
- 84) Krischak GD, Augat P, Sorg T, Blakytyn R, Kinzl L, Claes L, Beck A. Effects of diclofenac on periosteal callus maturation in osteotomy healing in an animal model. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2007; 127: 3-9
- 85) Gardner MJ, van der Meulen CH, Demetrakopoulos D, Wright TM, Myers ER, Bostrom MP. In Vivo Cyclic Axial Compression Affects Bone Healing in the Mouse Tibia. *Journal of Orthopaedic Research.* 2006; 24(8): 1679-1686
- 86) Beck A, Krischak G, Sorg T, Augat P, Farker K, Merkel U, Kinzl L, Claes L. Influence of diclofenac (group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) on fracture healing. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2003; 123 : 327–332

- 87) Shefelbine SJ, Augat P, Claes L, Beck A. Intact fibula improves fracture healing in a rat tibia osteotomy model. *Journal of Orthopaedic Research*. 2005; Vol. 23, n°2: 489-493
- 88) Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 213-225
- 89) Allen HL, Wase A, Bear WT. Indomethacin and aspirin: effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. *Acta Orthop Scand* 1980; 51: 595–600
- 90) Nakajima A, Shimoji N, Shiomi K, Shimizu S, Moriya H, Einhorn TA, Yamazaki M. Mechanisms for the enhancement of fracture healing in rats treated with intermittent low-dose human parathyroid hormone (1–34). *J Bone Miner Res* 2002; 17:2038–2047
- 91) Cruess RL, Dumont J. Fracture healing. *Can J Surg* 1975; 18 (5): 403-413
- 92) Solheim E: Current concepts review: Growth factors in bone. *International Orthopaedics*. 1998;22:410-16
- 93) Dijke PT, Fu J, Schaap P, Roelen BAJ: Signal transduction of bone morphogenetic proteins in osteoblast differentiation. *J Bone Joint Surg* 2003;85A Supp(3):34-38
- 94) Bostrom MPG: Expression of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 ;355Supp:116-23
- 95) Bostrom MPG, Asnis P: Transforming growth factor beta in fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 ;355Supp:124-31
- 96) Radomsky ML, Thompson AY, Spiro RC, Poser JW: Potential role of fibroblast growth factor in enhancement of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 ;355Supp:283-93
- 97) Rasubala L, Yoshikawa H, Nagata K, Lijima T, Ohishi M: Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2003;41:173-78

- 98) Claes L, Willie B. The enhancement of bone regeneration by ultrasound. Review. Prog in Biophysics and Mol Bio. 2007; 93: 384–398
- 99) O’Sullivan ME, Bronk JT, Chao EYS, et al: Experimental study of the effect of weight bearing on fracture healing in the canine tibia. Clin Orthop Relat Res. 1994 ;302:273-83
- 100) Scott G, King JB: A prospective, double-blind trial of electrical capacitive coupling in the treatment of nonunion of long bones. J Bone Joint Surg 1994;76A:820-26
- 101) Lima AFM, Rahal SC, Volpi RS, Granjeiro JM, Taga R, Cestari TM. Effect of bovine bone morphogenetic proteins on radius fracture healing in rabbits. Acta Cirúrgica Brasileira. 2007; Vol 22 (4): 260-265
- 102) Petroianu A, Corsetti RA, Alberti LR. The Effect of The Presence of Muscle Tissue in a Bone Healind Site. REV. HOSP. CLÍN. FAC. MED. S. PAULO. 2004; 59(4): 193-197
- 103) Matos MA, Araújo FP, Paixão FB. Histomorphometric evaluation of bone healing in rabbit fibular osteotomy model without fixation. Journal of Orthopaedic Surgery and Research 2008; 3:4: 1-5
- 104) Öztürk A, İlman AA, Sağlam H, Yalçınkaya U, Aykut S at all. The effects of phytoestrogens on fracture healing: experimental research in New Zealand white rabbits. Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery. 2008;14(1):21-27
- 105) Holstein JH, Klein M, Garcia P, Histing T, Culemann U at all. Rapamycin affects early fracture healing in mice. British Journal of Pharmacology. (2008); 154: 1055–106
- 106) Xiang Z, Markel MD. Bromodeoxyuridine Immunohistochemistry of Epon-embedded Undecalcified Bone in a Canine Fracture Healing Model. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1995; Vol. 43, No. 6, pp. 629-635.

- 107) Paralkar VM, Borovecki F, Ke HZ, Cameron KO, Lefker B at all. An EP2 receptor-selective prostaglandin E2 agonist induces bone healing. *PNAS*. 2003; vol. 100: 6736–6740
- 108) Petrizzi L, Mariscoli M, Valbonetti L, Varasano V, Langhoff JG, Rechenberg BV. Preliminary study on the effect of parenteral naloxone, alone and in association with calcium gluconate, on bone healing in an ovine "drill hole" model system. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2007; 8:43: 1-9
- 109) Bonnarens F, Einhorn TA Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res*: 1984; 2:97–101
- 110) Nakajima F, Nakajima A, Ogasawara A, Moriya H, Yamazaki M. Effects of a Single Percutaneous Injection of Basic Fibroblast Growth Factor on the Healing of a Closed Femoral Shaft Fracture in the Rat. *Calcif Tissue Int*. 2007; 81:132–138
- 111) Jackson RA, McDonald MM, Nurcombe V, Little DG, Cool SM: The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model. *J Orthop Res*. 2006; 24(4):636-644
- 112) Goldberg VM, Powell A, Shaffer JW, Zika J, Bos GD, Heiple KG. Bone grafting: role of histocompatibility in transplantation. *J Orthop Res* 1985;3:389-404
- 113) Peterson B, Zhang J, Iglesias R, at all. Healing of Critically Sized Femoral Defects, Using Genetically Modified Mesenchymal Stem Cells from Human Adipose Tissue. *TISSUE ENGINEERING*. 2005; V(11) N(½): 120-129
- 114) Cebesoy O, Tutar E, Kose KC, Baltaci Y, Bagci C. Effect of strontium ranelate on fracture healing in rat tibia. *Joint Bone Spine*. 2007;74: 590-593
- 115) Endo K, Sairyō K, Komatsubara S, Sasa T at all. Cyclooxygenase-2 inhibitor delays fracture healing in rats. *Acta Orthopaedica* 2005; 76 (4): 470–474

- 116) Kerimoglu S, Livaoglu M, Sönmez B, Yulug E at all. Effects of Human Amniotic Fluid on Fracture Healing in Rat Tibia. Journal of Surgical Research. 2008; 152(2):28:1-7
- 117) Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, at al. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic and histomorphometric parameters in rats. J. Orthop. Res 1991; 9:383-390
- 118) Ege. R. Kırıkların etyopatolojisi ve biyomekaniği In Travmatoloji:Kırıklar Eklemler ve Diğer yaralanmalar Cilt1. Ankara: Bizim Büro Basımevi. 2001:1-33
- 119) Luger E J, RochkindS, Wollman Y, Kogan G, Dekel S. Effect of Low-Power Laser Irradiation on the Mechanical Properties of Bone Fracture Healing in Rats. Lasers in Surgery and Medicine. 1998; 22: 97–102
- 120) Wang J. W, Xu S. W, Yang D. S, Lv R. K. Locally applied simvastatin promotes fracture healing in ovariectomized rat. Osteoporos Int. 2007; 18:1641–1650
- 121) http://www.hammaddeler.com/index.php?option=com_content&view=article&id=5149&Itemid=437

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI**

ORTOPEDİ ve TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Kemik Kırık İyileşmesinde *Dolichousnea longissima*(Ach.) Articus. Liken Türünden Elde
Edilen Usnik Asidin Etkilerinin İncelenmesi.(Rat Modellerinde Deneysel Çalışma)

Dr. Hamdi ÇOLAK

Uzmanlık Eğitime başlama Tarihi : 01.12.2004

Uzmanlık eğitimini Bitirme Tarihi : 21.01.2010

Uzmanlık Sınav Tarihi : 21.01.2010

Tez Danışmanı

: Doç. Dr. Ömer Selim YILDIRIM

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Orhan KARSAN

Jüri Üyesi


: Doç. Dr. Erhan VAROĞLU

Jüri Üyesi

: Prof. Dr. Naci EZİRMİK

Jüri Üyesi

: Yrd. Doç. Dr. Canan ATALAY


Prof. Dr. Orhan KARSAN

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Başkanı

OCAK - 2010
ERZURUM