



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

**FAVİPİRAVİR VE HİDROKSİKLOROKİNİN RATLARDA KIRIK
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

DR. GİRAY TEKÇE
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DOÇ. DR. MEHMET ARICAN (TEZ DANIŞMANI)

DÜZCE-2022



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FAVİPİRAVİR VE HİDROKSİKLOROKİNİN RATLARDA KIRIK
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**DR. GİRAY TEKÇE
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DOÇ. DR. MEHMET ARICAN (TEZ DANIŞMANI)

DÜZCE-2022

ÖNSÖZ

Her zaman desteğini gördüğüm ve tezimin hazırlanma aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mehmet ARICAN'a çok teşekkür ederim.

İhtisas eğitimine başladığım 2017 Ekim ayından bu yana yetişmemde büyük emeği bulunan, bizlerden esirgemediği bilgi ve tecrübelerini taşıyacağım, değerli hocam Prof. Dr. Zafer ORHAN'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Beş yıllık asistanlık döneminde bizlere çok şey öğreten, bize yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan saygıdeğer hocalarım, Doç. Dr. Okan Karaduman, Doç. Dr. Yalçın Turhan, Doç. Dr. Erdem Değirmenci hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca üzerimdeki emekleri yadsınamaz olan ve bana her konuda her zaman destek olan asistan kardeşlerim Dr. Mücahid Osman Yücel, Dr. Sönmez Sağlam Dr. Y. Emre Bulum, Dr. Zafer Özel, Dr. Volkan Tural, Dr. R.Emin Dalaslan, Dr. Erman Aytekin, Dr.Mustafa Toker, Dr.İlyas Kaban, Dr.Celal Armağan, Dr. Mücahit Çelik, Dr. Görkem Kasapoğlu ve Dr. Mehmet Akif Köse, Dr. İbrahim Kozoğlu, Dr. İzzet Camcı, Dr. İsa Alioğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Tezimle ilgili yardımlarından ötürü Patoloji Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Sinem Kantarcıoğlu Coşkun hocama, beraber çalışmaktan zevk duyduğum hastanemiz klinikleri ve ameliyathanelerinde görevli, hemşire, teknisyen ve diğer çalışanlarına, bu çalışmanın gerçekleşmesinde laboratuvar imkânlarını ve yardımlarını esirgemeyen Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca hayatım boyunca her zaman desteklerini arkamda hissettiğim babam, annem, kardeşim aynı zamanda iş arkadaşım ve ağabeyim Dr. Yıldırım Tekçe'ye, kardeşlerime şükranlarımı sunarım.

NİSAN 2022 Dr. Giray TEKÇE

ÖZET

Amaç: Kırık iyileşmesi ya da kırığın kaynamaması, pek çok faktörün bir arada etkileşimde bulunduğu bir süreci ifade eder. Bu sürecin değişik basamaklarına etki eden birçok tedavi, fiziksel ve biyolojik terapi yöntemleri olduğu gibi kırığın kaynamamasına ya da geç kaynamasına neden olan birçok biyolojik, kimyasal ajan vardır. Bu çalışmada, sıçan femur kırığı modelinde günümüzde Covid-19 tedavisinde ülkemizde ve dünyada sıklıkla kullanılan Favipiravir ve Hidroksiklorokin'in kırık iyileşmesi ya da kırığın kaynamaması üzerindeki radyolojik, histolojik etkileri değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 2.5 aylık ve ortalama 300±50 gr ağırlığında 48 adet Wistar-Albino türü erkek sıçanda; kontrol grubu (grup1, n:12), favipiravir grubu (grup2, n:12), hidroksiklorokin grubu (grup3, n:12) ve favipiravir+hidroksiklorokin (grup4, n:12) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Tüm gruplar 15 ve 30. günde sakrifiye edilerek radyolojik ve histopatolojik açıdan değerlendirilmek üzere 6'şar adet sıçandan oluşan 8 alt gruba ayrıldı. Hayvanlar, kontrollü sıcaklık (23-25°C) ve 12:12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü olacak şekilde kafeste takip edildi. Radyolojik değerlendirmede Lane ve Sandhu'nun, histopatolojik olarak ise Hue ve arkadaşları'nın önerdiği skorlama kullanıldı.

Sonuçlar: Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 15. gün histolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). Hidroksiklorokin grubunun; Favipiravir ve Favi+Hidroksi grubuna göre 15. gün histolojik skorlama ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,0001$). Ayrıca Kontrol grubunun; Favipiravir ve Favi+Hidroksi gruplarına göre 15. gün histolojik skorlama ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,043$, $p=0,023$). Diğer grupların 15. gün Histolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 30. gün histolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,887$). Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 15. gün radyolojik skorlama dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,330$). Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 30. gün radyolojik skorlama dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,618$).

Çıkarımlar: Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Favipiravir+Hidroksiklorokin tedavisinin Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kırık iyileşmesi üzerine radyolojik ve histolojik olarak olumsuz ya da pozitif etkisi bulunmamaktadır.

ABSTRACT

Objective: Fracture healing or non-union of the fracture refers to a process in which many factors interact together. There are many treatments, physical and biological therapy methods that affect different stages of this process, as well as many biological, chemical agents that cause the fracture to be non-union or delayed union. In this study, the radiological and histological effects of Favipiravir and Hydroxychloroquine, which are frequently used in our country and around the world in the treatment of Covid-19, on fracture healing or fracture nonunion in the rat femur fracture were evaluated.

Materials and Methods: In this study, 48 Wistar-Albino male rats weighing an average of 300 ± 50 grams at 2.5 months of age; they were divided into 4 groups as control group (group1, n:12), favipiravir group (group2, n:12), hydroxychloroquine group (group3, n:12), and favipiravir+hydroxychloroquine (group4, n:12). All groups were sacrificed on the 15th and 30th days and divided into 8 subgroups consisting of 6 rats, to be evaluated radiologically and histopathologically. Animals were monitored in the cage with controlled temperature ($23-25^{\circ}\text{C}$) and a 12:12 hour light/dark cycle. The scoring suggested by Lane and Sandhu was used for radiological evaluation, and the scoring recommended by Hue et al. for histopathological evaluation.

Results: A statistically significant difference was observed between the Favipiravir, Hydroxychloroquine, Favi+Hydroxy and Control groups 15th day histological scoring averages ($p=0.0001$). Hydroxychloroquine group; compared to the Favipiravir and Favi+Hydroxy groups, the 15th day histological scoring averages were found to be statistically significantly higher ($p=0.001$, $p=0.0001$). In addition, The histological scoring averages of the control group on the 15th day were found to be statistically significantly higher than the Favipiravir and Favi+Hydroxy groups ($p=0.043$, $p=0.023$). There is no statistically significant difference between the 15th Day Histological Scoring averages of other groups ($p>0.05$). There is no statistically significant difference between the 30th Day histological scoring averages of Favipiravir, Hydroxychloroquine, Favi+Hydroxy and Control Groups ($p=0.887$). No statistically significant difference was observed between the Favipiravir, Hydroxychloroquine, Favi+Hydroxy and Control groups radiological scoring distributions on day 15 ($p=0.330$). No statistically significant difference was observed between the 30th day radiological scoring distributions of Favipiravir, Hydroxychloroquine, Favi+Hydroxy and Control groups ($p=0.618$).

Conclusions: Favipiravir, Hydroxychloroquine and Favipiravir+Hydroxychloroquine treatment did not have radiological and histological negative or positive effects on fracture healing compared to the Control group.

KEY WORDS, Fracture healing, Rat, Favipiravir, Hydroxychloroquine, Favipiravir+Hydroxychloroquine



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kemik Doku ve Histolojisi.....	2
2.1.1. Kemik hücreleri.....	4
2.1.1.1. Osteoblastlar.....	4
2.1.1.2. Osteositler.....	5
2.1.1.3. Osteoklastlar.....	5
2.1.1.4. Osteoprogenitor Hücreler:.....	6
2.1.1.5. Kemik Yüzey Döşeyici Hücreler:	6
2.1.2. Kemik Matriksi	6
2.1.3. Periosteum ve Endosteum	7
2.2. Kemik Tipleri	8
2.3. Kemiğin Oluşumu	10
2.3.1. İntramembranöz Kemikleşme	10
2.3.2. Enkondral Kemikleşme	11
2.4. Kalsifikasyon Mekanizması	14
2.5. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenme	14
2.6. Kemik Fizyolojisi	15

2.6.1. Destek ve Koruma.....	15
2.6.2. Şekillenebilme Özelliği	15
2.6.3. Kalsiyum Deposu	15
2.6.4. Fosfat	16
2.6.5. Beslenme	17
2.6.6. Hormonal Faktörler	17
2.7. Kırık Tanımı ve Tipleri	18
2.7.1. Kırık Tanımı.....	18
2.7.2. Kırık Belirti ve Bulguları	19
2.7.3.1. Travmaya Ait Genel Belirti ve Bulgular:	20
2.7.2.2. Kırığa Özgü Belirti ve Bulgular:	21
2.7.2.3. Radyolojik İnceleme:	21
2.8. Kırık İyileşmesi (Kaynaması)	23
2.8.1. Kırık İyileşmesinin Evreleri	23
2.8.1.1. Primer Kırık İyileşmesi:	23
2.8.1.2. Tam Temasla (Kontakt) İyileşme:.....	23
2.8.1.3 Boşlukla (Gap) İyileşme:	24
2.9. Kırık İyileşmesinin Kontrolü	29
2.9.1. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	29
2.10. Kırık Tedavisi Sonucu Kemik İyileşmesi	29
2.10.1. Alçı ve Ateller	29
2.10.2. Açık Redüksiyon İnternal Fiksasyon	30
2.10.3. İntramedüller Çiviler:	31
2.10.3. Eksternal Fiksatörler	32

2.11. Kırık Kaynamaması.....	32
2.11.1 Sistemik Etmenler	33
2.11.1.1 Osteoporoz	33
2.11.1.2 Protein Eksikliği	33
2.11.1.3. Diabetes Mellitus.....	33
2.11.1.4. Sigara.....	34
2.11.1.5. NSAİİ İlaçlar	34
2.11.2. Lokal Etmenler	34
2.11.3. Sınıflama	36
2.11.3.1. Canlı (Vasküler) Kaynamamalar.....	36
2.11.3.2. Cansız (Avasküler) Kaynamamalar	37
2.12. Kırık Kaynamamasında Tedavi Yöntemleri	38
2.12.1. Biyolojik Canlandırma Seçenekleri	39
2.12.2. Tespit Yöntemleri.....	39
2.13. Covid-19.....	41
2.14. Favipiravir	42
2.15. Hidroksiklorokin	43
3.MATERYAL VE METOD	44
3.1 Çalışma Planı.....	44
3.2.Cerrahi Teknik.....	48
3.3. Radyolojik İnceleme	52
3.4. Histopatolojik inceleme.....	54
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	56
4.BULGULAR	57

5.TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
6.1.Sonuçlar.....	67
6.2.Öneriler.....	69
7.KAYNAKLAR.....	70
8.EKLER	85
8.1.Şekil Listesi	85
8.2.Tablo Listesi	87



SİMGELER VE KISALTMALAR

COVID-19	Koronavirüs hastalığı 2019
FAVİ	Favipiravir
HİDROKSİ	Hidroksiklorokin
BMP	Kemik morfojenik protein
BMD	Kemik mineral yoğunluğu
Ca ⁺²	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
COX	Siklooksijenaz
ECDGF	Endoteliyal hücre kaynaklı büyüme faktörü
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
ECGF	Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
Gla	Gama-karboksiglutamik asit
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
LCDCP	Sınırlı temaslı dinamik kompresyon plağı
M-CSF	Makrofaj koloni uyarıcı faktör
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PG	Prostoglandin
PO ₄	Fosfat

PRP	Trombositten zengin plazma
PTH	Paratiroid hormon
RANKL	Nükleer kappa ligand reseptör aktivator
TGF- α	Dönüştürücü büyüme faktörü-alfa
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü-beta
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TNFR	Tümör nekrozis faktör reseptör
VEGF	Damar endotelyal büyüme faktörü
TLR	Toll-like receptor
MHC CLAS 2	Major doku uygunluk kompleksi 2

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemik dokusunun işlevleri; gövdeye mekanik destek olma, hareketi sağlama, beyin, kalp, akciğerler gibi yaşamsal organları koruma ve destek, kemik iliği içermesi nedeniyle, dolaylı olarak kan yapımı ve bazı mineralleri depolamasıdır (1,2).

Günümüzde Ortopedi ve Travmatoloji Kliniklerinin başlıca uğraştığı konularından biri kemik kırıklarıdır. Kırık, kemik ve ilgili yumuşak dokuların iç veya dış kuvvetlere bağlı olarak bütünlüğünün tam ya da kısmen bozulması olarak tanımlanmaktadır (1).

Kırık iyileşmesi genellikle yaşlı bireylerde düşük kemik kalitesi, osteoporoz, kemik oluşumundaki azalma, bozulmuş kemik şekillenmesi, gecikmiş periost reaksiyonu ve hücre farklılaşması ve ayrıca mezenşimal hücrelerin sayısında ve bölünme kapasitesindeki azalma gibi komplikasyonlar nedeniyle yavaş seyretmekte ve bu durum hastaların yaşam kalitesini oldukça düşürmektedir (3,4). Kırık iyileşmesi, pek çok faktörün bir arada etkileşimde bulunduğu bir süreci ifade eder. Bu sürecin değişik basamaklarına etki eden birçok tedavi, fiziksel ve biyolojik terapi yöntemleri vardır (5). Kırık iyileşmesi üzerine yapılan araştırmaların sayısı hergün artmasına rağmen, tam anlamıyla anlaşılamayan kırık iyileşmesi mekanizması ve bu mekanizmada etkili olan faktörler hala merak uyandırmaktadır. Yaşlı hastalarda ve kemik rejenerasyonunun bozulduğu genç hastalarda kemik iyileşmesini uyarmak ve aktifleştirmek için kemik metabolizmasını arttırabilen ürünler kullanılmaktadır (6).

2019 yılının son aylarında ortaya çıkan Covid 19 pandemisi dünyayı olduğu gibi ülkemizi de etkisi altına almıştır. Hastaneye kırık tedavisi açısından yatan birçok hasta yapılan tetkiklerde Covid 19 testi pozitif olup aynı zamanda kırığı olan hastalarda (özellikle cerrahi gerektiren kalça kırıklarında) bu enfeksiyonun mortaliteye ve morbititeye etkisi değerlendirilmektedir (7,8,9). Dünyada ve ülkemizde sıklıkla kullanılan Favipavir ve Hidroksiklorokin ilacı Covid 19 tedavisinde özellikle Çin, Japonya, Rusya ve ülkemizde faydası olduğu düşünülüp kullanılmıştır (10). Favipiravir şu anda genellikle influenza virüsü için kullanılmakta olan yeni bir ilaçtır. Bunun yanı sıra RNA bağımlı RNA polimeraz enzimini

doğrudan inhibe etmesi fakat hücrel RNA veya DNA polimerazı etkilememesi nedeniyle önemli bir etkisi vardır (11). Covid 19'un RNA bağımlı RNA polimeraz virüsü olması nedeniyle favipiravirin Covid 19 tedavisinde önemli rol oynayacağı düşünülmüştür (10,11,12). Covid 19 tedavisinde dünyada ve ülkemizde sıklıkla kullanılan diğer bir ilaç olan Hidroksiklorokin; romatoid artrit, sıtma ve sistemik lupus eritematozus gibi birçok romatolojik hastalıkta güvenle kullanılan antiinflamatuvar ve immünmodilatör bir ilaçtır. İmmünmodilatör etkilerini MHC class 2 antijenine etki ederek gösterdiği düşünülsede günümüzde Toll-like receptor (TLR)'e etki ettiği düşünülmektedir. İn vitro çalışmalar bu ilacın antiviral özelliğini ortaya çıkarmış olup Covid 19'un terapötik potansiyeline ilgiyi artırmıştır (13,14) Bu çalışmada, sıçan femur kırığı modelinde Favipavir ve hidroksiklorokin kırık iyileşmesi üzerindeki radyolojik ve histolojik etkileri değerlendirilecektir. Sonuçlar literatüre kazandırılarak bilime katkı sağlanacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Doku ve Histolojisi

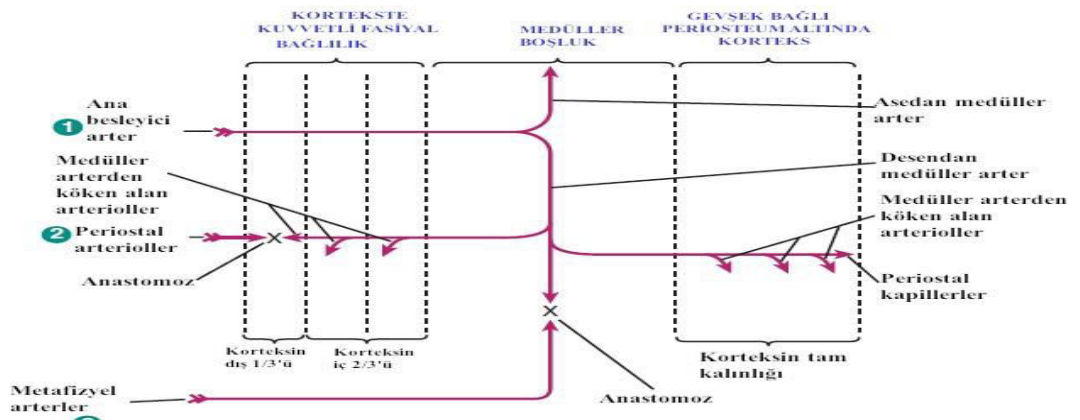
Kemik dokusu; hücreler, organik ve inorganik maddelerden oluşan, inorganik içeriği nedeniyle sertleşmiş bir destek dokusudur (3). Kemik dokusunun en önemli iki özelliği dengeyi sağlayan destek dokusu olması ve kalsiyum(Ca^{+2}), fosfat(PO_4)ve diğer iyonlara ait bir depo olarak işlev görmesidir (4). Kafatası, göğüs kafesinde olduğu gibi hayati organların olduğu vücudun önemli boşluklarını dışarıdan sararak korur (3). Kalsiyum, fosfat gibi minerallerin vücutta depolanması, salınması ve kan hücrelerinin sentezi kemik doku sayesinde gerçekleşir. Ayrıca kas kasılması ile oluşan kuvvetleri arttırarak bunları harekete dönüştüren bir kaldıraç sistemi oluştururlar (4).

Kemikler yüksek oranda vaskülerizedir ve kemik dokusu kardiyak çıkışın (output) yaklaşık %10-15'ini alır (4,15). Kemiklerin damarsal beslenmesi başlıca besleyici arterler, periostal arterler, epifizyel arterler ve metafizer arterlerden olmak üzere birçok kaynaktan kan alır (15,16).

Sistemik arterlerden köken alan besleyici arterler kortekste bulunan foramen nutrisiyadan girerek diyafizal korteks ve medüller kanala ulaşır ve burada çıkan ve inen küçük dallarına ayrılırlar. Endosteal kortekse ulaşan bu arterler arteriyollere ayrılarak haversian sistem yoluyla diafiz korteksinin üçte ikilik kısmına kanlanmasını sağlamış olurlar (6).

Besleyici arter sisteminin basıncı yüksektir. Periartriküler vasküler pleksuslardan metafizyal-epifizyal sistem çıkar (17). Düşük akımlı olan periosteal sistem ise primer olarak diafizyal korteksin yaklaşık üçte birini besleyen kapillerlerden oluşur (5). Düşük basınçlı periosteal sistem ve yüksek basınçlı besleyici arteriyel sistemin net etkisiyle olgun kemikte akım sentrifugaldır yani içten dışa doğrudur (Şekil 1). Yer değiştirmiş bir kırık oluştuğunda ise besleyici arter sistemi (endosteal sistem) bozulur ve basınç gradient tersine döner. Periosteal sistemin baskın hale gelmesi sonucu akım değişerek sentripedal hal alır yani akım dıştan içe doğru oluşur (17). Olgunlaşmamış henüz gelişmekte olan kemikte ise periost yüksek vaskülarize olduğundan yine kemikte arteriyal akım sentripedaldır. Venöz akım olgunlaşmış kemiklerde sentripedal yani dıştan içe doğrudur. Kortikal kapillerler boşaltıcı venöz sisteme drene olan venöz sinüzoidlere açılırlar (5).

Kemiğin mevcut sıvı bileşenlerinin %65'i ekstrasvasküler alanda, %6'sı Haversiyan alanda ve %6'sı laküner alanda, %3'ü kırmızı kan hücrelerinde ve %20'si diğer alanlardadır. Hipoksi, hiperkapni ve sempatektomi gibi durumlarda kemiğe kan akımı fizyolojik olarak artar (5).



Şekil 1. Uzun kemiklerin afferent vasküler sisteminin ana bileşenleri (5).

Kemik, özel bir bağ dokusuna sahiptir. İç ve dış yüzeyi hücre ve hücresel ürünlerle kaplı olan kemik matriksi organik ve inorganik bileşenlerden oluşur (6). Kemik matriksi genel olarak asidofildir. Bu yapının büyük bölümü protein, kollajen lif (özellikle tip I) ve glikozaminoglikanlardan oluşturduğu temel maddeden (amorf madde) oluşur (18). Kemik matriksinin başlıca organik bileşeni ise tip 1 kollajen olup kemiğin kırılmadan deforme olmasını sağlayan elastik özelliğini kazandırarak kemik dayanıklılığının artmasını sağlar (19). Kemik matriksi kemik iyileşmesinde görev alan büyüme faktörleri ve sitokinleride içermektedir. (20). Bununla beraber kemik dokuda bulunan inorganik elementler başlıca kalsiyum, fosfat, sitrat, magnezyum gibi maddelerdir. Kalsiyum ve fosfat; hidroksiapatit kristalleri şeklindedir ve kemik kollajenlerinin yanında amorf madde ile birlikte iç içe geçip organize olmuşlardır. Hidroksiapatit kristallerinin kemikteki önemi ise kollajenlerle birlikte kemik dayanıklılığında ve sertliğinde rol oynamasıdır. Ayrıca hidroksiapatit kristallerinin yüzeyindeki iyonlar su ile karışık ve kristalin etrafında su ve iyon tabakası oluşturur. Hidratasyon kabuğu denilen bu tabaka kristaller ile vücut sıvıları arasındaki iyon değişimini kolaylaştırır (21). Bu inorganik maddeler kemiğin net ağırlığının yaklaşık olarak yarısını oluşturmaktadırlar (4).

Kemik dokusu 4 tip hücreden oluşur. Bunlar osteositler, osteoklastlar, osteoblastlar ve osteoprogenitör hücrelerdir (18).

2.1.1. Kemik hücreleri

2.1.1.1. Osteoblastlar

Mezenkimal kök hücrelerin farklılaşması ile oluşurlar. Periostun kambiyum tabakasındaki osteoblastlar kemiğin enine büyümesini sağlarlar. Kemik yapısındaki matriksin yapımından ve salınımından sorumludur. Osteoblastlar ve osteositler kemiğin farklı bölgelerinde yerleşirler ve bu iki hücrenin ayrılmasında tanımlayıcıdır. Osteoblastlar kemiğin yüzeyine yerleşirken, kemiğin yüzeyinden uzakta olan yapıca Osteoblastlara benzeyen preosteoblastlar, yerleşim yeri ile osteoblastlardan ayrılır. Osteoblastlar karakteristik olarak, ışık ve elektron mikroskopunda yeni kemiğe komşu olarak görülürler. Aktif osteoblastlar ışık mikroskopunda güçlü bazofilik boyanırlar. Çekirdekleri egzantirik yerleşimlidir ve

kortikal kemikle komşu olan taraftan uzaktadır. Polarize görülürler. İnterlökinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin kaynaklı büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörleri osteoblastların farklılaşmasında indükleyici ajanlardır. Osteoblastlar üzerinde D vitamini, paratiroid hormon (PTH), Glukokortikoid, Östrojen ve Prostoglandin reseptörleri bulunur. D vitamini etkisi altında Osteokalsin aktivitesinde artış görülürken, PTH etkisi altında Alkalen Fosfataz (AP) aktivitesinde artış ve tip 1 kollajen oluşur. Osteoblastların endoplazmik retikulum, golgi ve salgı vezikülleri aracılığı ile osteokalsin (kalsiyumu bağlar) ve osteonektin, glikoproteinleri, glikozaminoglikanlar (GAG) ve alkalen fosfataz salgılama yeteneği vardır (22,23).

2.1.1.2. Osteositler

Osteoblastlardan kaynaklanırlar ve matriks lamelleri arasında bulunan lakunalar içine yerleşmişlerdir. Her lakunada bir adet osteosit vardır (4). Kemik hücrelerinin %90'ını osteositler oluşturur. Osteositler kemik homeostazının düzenlenmesine katkıda bulunurlar. Kemiğin esas hücreleri olup, kemiği korur ve desteklerler (24). Hücre dışı kalsiyum ve fosfat regülasyonunda görev alırlar. Parathormon(PTH) tarafından inhibe edilen osteositler kalsitonin tarafından direk stimüle edilirler (25,26). En tipik özelliklerinden biri de uzantılarıdır. Bu sitoplazmik uzantılar kanaliküller içinde seyredir. Bu şekilde her hücre lakünası içine gömülü kalmayıp birbirleriyle iletişim halindedirler (4).

2.1.1.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok büyük, ileri derecede dallanmış hareket kabiliyeti olan hücrelerdir. Hücre gövdesinin geniş kısmında 5–50 veya daha fazla çekirdek bulunur. Hücredeki dallar oldukça düzensiz, farklı biçim ve kalınlıktadır. Bu hücreler kemik rezorbsiyonun başladığı, enzimatik olarak açılmış Howship lakunası adı

verilen çukurcuklarda bulunurlar. Osteoklastlar kan kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana geldikleri için “mononükleer fagositoz sisteme” dâhil edirlir (27).

Sitoplazması genellikle asidofiliktir. Aktif osteoklastlarda, kemik matriksine bakan yüzey, düzensiz olarak katlanıp çoğu kez dallanarak, girintili çıkıntılı hale gelen fırçamsı bir kenar meydana getirir. Bu yapı küçük partiküllerin yakalanıp enzimatik aktivite ile muamele edilebilmeleri için uygun ortam oluşturur. Aynı zamanda aktif rezorbsiyon alanının da genişlemesini sağlar. Hücre içerisinde pek çok lizozomla birlikte, bol miktarda serbest polizom, bir parça granüler endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve gelişmiş Golgi kompleksi mevcuttur (27).

Ca²⁺ içeren kristaller kıvrımlar arasında görülebildiği gibi, sitoplazmik vakuollerde de izlenebilir. Bu olaylar hiçbir zaman hücre sitoplazmasında gerçekleşmez. Asid, kollajenaz ve proteolitik enzimleri salgılayarak hücre matriksine hücum ederler. Böylelikle kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve kemik rezorbsiyonu sırasında meydana gelen artıkların ortadan kaldırılmasına yardımcı olurlar (27).

2.1.1.4. Osteoprogenitor Hücreler:

Embriyogenik mezenkimal hücrelerden kaynaklanan osteoprogenitör hücreler kök hücre özelliğinde olup osteoblastlara farklılaşabilir ve kemik matriksini üreten hücrelerdir (27,28). Progenitör güreler periosteumun iç tabakasında bulunduğu gibi havers kanallarını çevreleyen endosteumda da bulunurlar. Mitoz ile bölünebilme yeteneklerini devam ettirebilen hücrelerdir. Diğer bir özellikleri ise kırık iyileşmesi ve kemik büyümesi gibi durumlarda osteoblastlara farklılaşabilmeleridir (28).

2.1.1.5. Kemik Yüzey Döşeyici Hücreler:

Tam işlevleri bilinmeyen bu hücreler dar ve metabolik yönden az aktif hücrelerdir. Bu hücrelerin aktif osteoblastlara dönüşme yeteneği olduğuna inanılmaktadır ve bu nedenle rezerv hücre oldukları düşünülmektedir (29).

2.1.2. Kemik Matriksi

Kemik bir bağ dokusu olup hücreler arası maddeye kemik matriksi adı verilir. Kemik matriksinin kuru ağırlığının kabaca %40'ı oranında organik, %60 oranında inorganik maddelerden meydana gelir. Organik matriksi tip 1 kollajen, proteoglikan gibi temel maddelerin yanında osteokalsin, siyaloprotein, osteopontin ve çeşitli sitokinler oluşturur. Kollojen kısım temel olarak Tip 1 kollajendir ve bu molekülün sonlanma bölgelerine mineral birikimiyle kalsifikasyon sağlanır. Osteokalsin, matriks dışı organik proteinler arasındadır ve osteokalsin düzeyi kemik döngüsünün bir göstergesidir. Osteokalsin, Paratiroid hormon (PTH) tarafından baskılanır ve 1–25 dihidroksi vitamin D tarafından aktive edilir (30). İnorganik bölümünde ise özellikle kalsiyum, fosfor ve bunlarla birlikte sitrat, sodyum, bikarbonat ve magnezyum da bulunur. Kalsiyum ve fosfor mineralleri birleşerek hidroksiapatit kristallerini ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) oluşturur. Kemik sertlik ve dayanıklılık özelliği hidroksiapatit kristalleri ve kollojen lifleri arasındaki ilişki ile sağlanır (31).

2.1.3. Periosteum ve Endosteum

Kemik dış yüzeyini örten zar periosteum, iç yüzeyindeki zar ise endosteumdur. Periosteum ve endosteum bağ dokusundan ve kemik yapan hücrelerden oluşmaktadır. Periosteum iki tabakadan oluşur; dış katman kollajen lif ve fibroblastlardan oluşan fibröz yapıdadır, periosteumun kollajen lif demetlerinden oluşan, “ Sharpey lifleri” , matriks içine girerek periosteumu kemiğe bağlar. Periosteumun iç katmanı ise fibroblastlara benzeyen, bölünüp farklılaşarak osteoblastları meydana getirme potansiyeline sahip, osteoprogenitör hücrelerden ve damarlardan zengin olup osteojenik tabakayı oluşturur bu tabakaya kambiyum tabakası da denir (32).

Kemik dokusunun bütün boşluklarını içten astar gibi saran bağ dokusu olan endosteum, kemik dokuya bitişik yüzünde tek tabaka halinde yassılaştırmış osteoprogenitör hücreler bulunur. Bu zarların temel görevi; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan osteoblastları

sağlamaktır. Bu nedenlerle periosteum ve endosteumun korunması kırık kaynaması açısından büyük önem taşır (32).

Kemik yüzeyini ve belirli boşlukları kaplayan bu iki bağ dokusu tabakası önemli rolleri üstlenmiş olup herhangi birisinin bozulması veya zedelenmesi durumunda kemik için çok önemli olan hayati önemi sahip fonksiyonlar da olumsuz etkilenir (32).

2.2. Kemik Tipleri

Mikroskopik olarak; birincil (olgunlaşmamış veya örgü (woven bone) kemik) ve ikincil, olgun veya lameller kemik olmak üzere iki farklı biyolojik ve mekanik özelliğe sahip kemik tipi olduğunu gösterilmiştir. Örgü kemik adından da anlaşılacağı üzere, daha az yoğun, daha yüksek hücre döngü oranı olan kollajen fibril yapılanmasının olmaması sebebiyle lamelli kemiğe göre yumuşak ve daha rahat deforme olabilen yapıdadır (5).

Tablo 1. Kemik Tipleri (5).

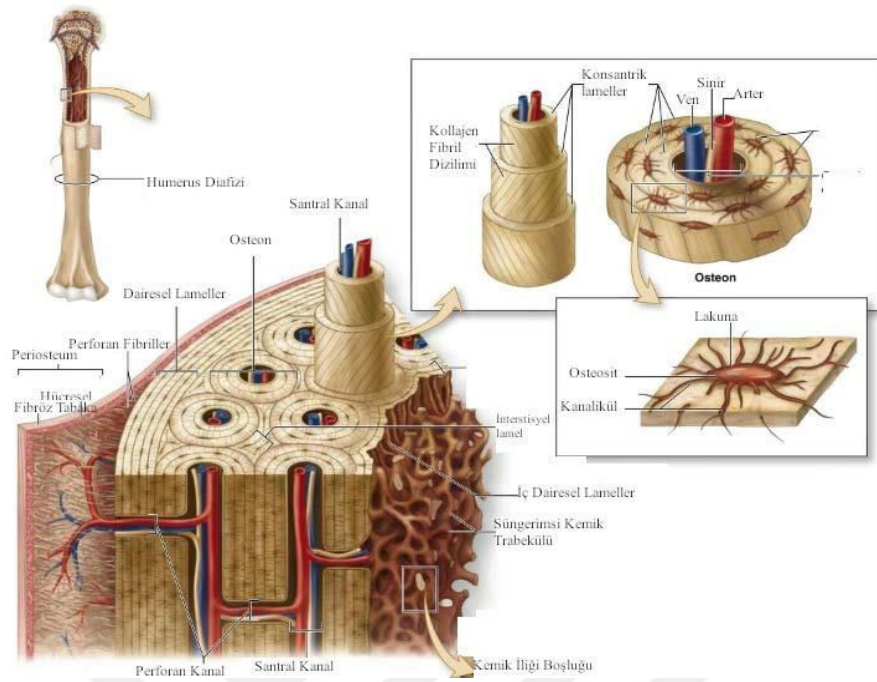
MİKROSKOPİK GÖRÜNÜM	ALT TİPLER	ÖZELLİKLERİ	ÖRNEKLER
Lamellar	Kortikal	Yapı stres çizgileri boyunca yönelmiştir. Güçlü	Femur cismi
Örgülü (Woven)	Kansellöz	Kortikal kemikten daha elastik	Distal femoral metafiz
	İmmatür	Stres yönelimli değildir	Embriyonik iskelet Kırık kallusu
	Patolojik	Rasgele organizasyon Artmış turnover Zayıf Esnek	Osteojenik sarkom Fibröz displazi

Makroskopik olarak kemik ise kompakt ve spongiyoz olarak iki kısımdan oluşur (Şekil 2). Enine kesilmiş kemik kesitleri incelenecek olursa yoğun kavitesiz sahalar kompakt kemiği, birbiri ile ilişkili çok sayıda kavitelerden oluşan kısımlar

süngerimsi kemiği (kansellöz-spongiyoz) gösterir. Hem kompakt kemikte hemde süngerimsi kemikte kemik kavitelerini ayıran trabeküllerin histolojik yapısı aynıdır **(24)**.

Uzun kemiklerin orta kısımları olan diyafiz bölgesini kompakt kemik yapısı oluşturur. Bütün kemiklerin dış yüzeyleri kortikal kemik yapısındadır. Kompakt kemik çevresel olarak kansellöz kemiği çevreler ve az miktarda kansellöz bulunur **(33)**. Kortikal kemiği osteonlar veya havers sistemleri oluşturur. Havers kanalları birkaç adet damar içerir. Haversian sistem uzunlamasına 40 cm ve çevresel olarak da 20 cm boyutlarına kadar çıkabilir. Silindirik yapılar oluştururlar. Osteonlar bu havers kanalları etrafına dizilen konsantrik lamellerden (havers lamelleri) oluşur. Havers kanalları, diğer havers kanalları, periost, volkman kanalları ve kemik iliği ile bağlantılar yapar. Periosteal ve endosteal yüzeylerden dokuya giriş yapan sinirler ve damarlar, bu bağlantılar sayesinde haversian sisteme ulaşırlar **(22,34)**.

Kansellöz Kemik (Süngerimsi / Trabeküler Kemik); kemiğin elastik, porozlu ve kemik yoğunluğunun az olduğu kısmıdır. Kemik trabekülleri süngerimsi yapıyı oluşturmak üzere birbiriyle anastomozlaşmışlardır. Kansellöz kemiğin trabekülleri arasında farklı büyüklüklerde boşluklar bulunur ve bu boşluklar birbirleri ile bağlantılıdır. Bu boşlukların içini kemik iliği doldudur. Spongiyoz kemik kortikal kemiğe nazaran daha güçsüzdür ve strese maruz kaldığında daha kolay kırılır. Bütün uzun kemiklerin ve bazı kısa kemiklerin iç iskeletini oluşturur. Vücut kemiklerinin hacimsel olarak %20'sini teşkil eder. Kompresive güçlere karşı direnci sağlar. Kanlanması daha fazla olması nedeni ile kortikal kemiğe göre daha hızlı iyileşir. Endosteum tarafından yenilenir ve düzenlenir **(35,36)**.



Şekil 2. Bir tibianın kalın bileme kesiti. Kortikal kompakt kemik ve trabekülalardan oluşmuş süngerimsi kemik yapısı

2.3. Kemiğin Oluşumu

İntramembranöz ve Enkondral olmak üzere iki tür kemikleşme vardır. İntramembranöz kemikleşme bağ dokusu katılımı ile oluşur. Enkondral kemikleşme ise kıkırdak dokunun katılımıyla oluşmaktadır. İlk oluşan kemik dokusu primer kemik, yani olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu kalıcı olmayıp yerini olgun lamelli kemik dokuya bırakmaktadır (37).

2.3.1. İntramembranöz Kemikleşme

Kıkırdak model olmadan oluşur (5). Çoğu yassı kemiğin kaynağı olan intramembranöz kemikleşme farklılaşmamış mezenkimal hücreler membranlar (tabakalar) oluşturacak biçimde kümелendiğinden dolayı bu şekilde isimlendirilmiştir.

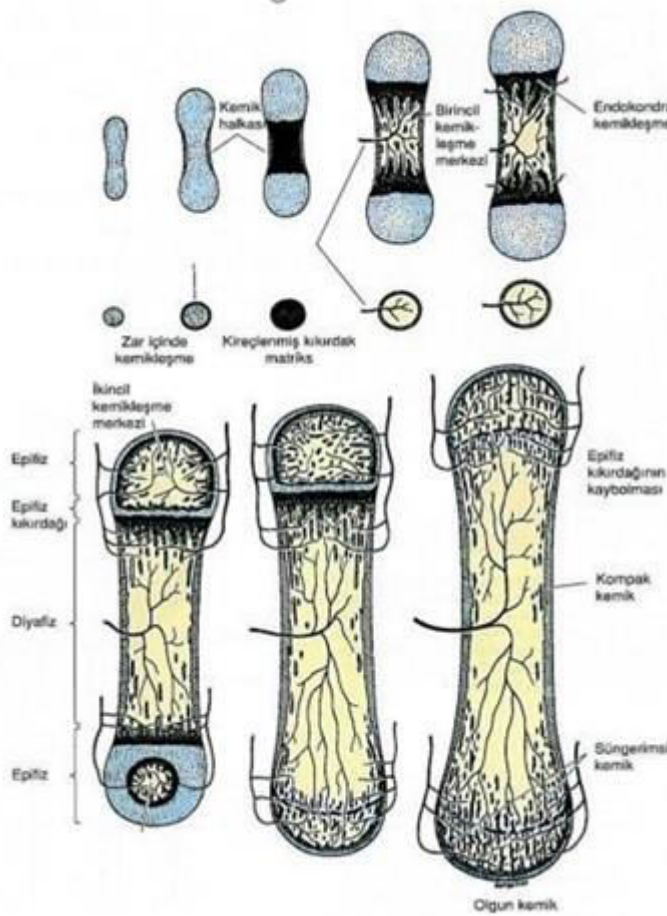
İntramembranöz kemikleşme kısa kemiklerin büyümesinde ve kemiklerin kalınlaşmasında önemli rolü vardır. Kafatası kemikleri (frontal, pariyetal, oksipital

ve temporal kemikler) ile klavikula bu tür kemikleşmeyle tipik örneklerdir. Bu kemikler membran kemikleri olarak da isimlendirilmişlerdir (4). Tabakalar oluşturmuş mezenkimal hücre kümelerindeki ossifikasyonun başladığı ilk noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Mezenkimal hücrelerin osteoblasta dönüşmesiyle kemikleşme başlar ve daha sonra mineralize olacak organik matrikste depolanır (38). Etrafı sarılmış osteoblastlar hücreler arası madde sentezini yaparak osteositlere dönüşürler. Ortaya çıkan bu kemik adacıklar iğnecik (spikül) olarak adlandırılırlar. Spiküller, kapillerler, kemik iliği hücreleri ve farklılaşmamış hücreleri içinde barındıran kaviteletin uzamış duvarlarının kesitleridir. Mezenkimal oluşumlar, aynı zamanlarda ortaya çıkarak, birleşip kemikleşme merkezinde süngerimsi yapıyı oluştururlar. Mezenkimal dokunun yoğunlaşma alanlarında hücreler bölünüp çoğalarak osteoblastları oluştururlar. Osteoblastlar kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumludur. Bazı ossifikasyon merkezleri radial olarak büyüyüp birleşerek, başlangıçtaki orjinal bağ dokusunun yerini alırlar. Henüz kemikleşmemiş olan bebeklerdeki suturalar (bingıldaklar) bağ dokusundan oluşup buna tipik örneklerdir. Doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin iç ve dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına göre ciddi oranda artmıştır. Bu şekilde iç ve dış tabaka olmak üzere iki tabaka oluşur. Bu iki tabaka arasındaki kısım (Diploe mesafesi) süngerimsi yapısını korur. İntramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu oluşturan ise bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleridir (4).

2.3.2. Enkondral Kemikleşme

Mineralize kıkırdığın model olarak kullanılıp kemik dokuya çevrilmesiyle meydana gelir (39). Uzun kemiklerin yapımı embriyolojik hayatta bu şekilde gerçekleşmektedir (39,40). Doğumdan sonra stabil olmayan koşullardaki kırık iyileşmesinde rol almaktadır (39,40,41). Enkondral kemikleşme, farklılaşmamış hücrelerin bir araya gelerek kondrositlere farklılaşıp kıkırdak matriksi sentezlemesiyle başlar. Hyalin veya hyalin benzeri kıkırdak oluşumu sırasında diafiz etrafında periost çevrelemesi görülür. Bazı bölgelerde kıkırdak matriks mineralize olur, kondrositler genişler. Damarlar kıkırdakı invaze ederek kan yoluyla gelen

hücreler kıkırdığın merkezini rezorbe eder ve medüller boşluğu meydana getirirler. Osteoprogenitör hücreler ise osteoblastlara dönüşüp mineralize kıkırdak üzerinde osteoid matriksi oluştururlar. Sonrasında kalsifiye kıkırdak ve immatür kemiğe osteoklastlar tarafından resorbe edilirler. Rezorbe olan kalsifiye kıkırdak ve immatür kemik karışımının yerine osteoblastlar tarafından matür lamellar kemik oluşturulur (40). Sonucunda periost şekillenir. Diyafizde meydana gelen kemikleşme primer kemikleşme olarak adlandırılır ve diafiz tamamen kemikleşinceye kadar devam eder. Primer kemikleşmeyi epifizdeki kemikleşme izler ve bunada sekonder kemikleşme merkezi denir (Şekil 3) (42).

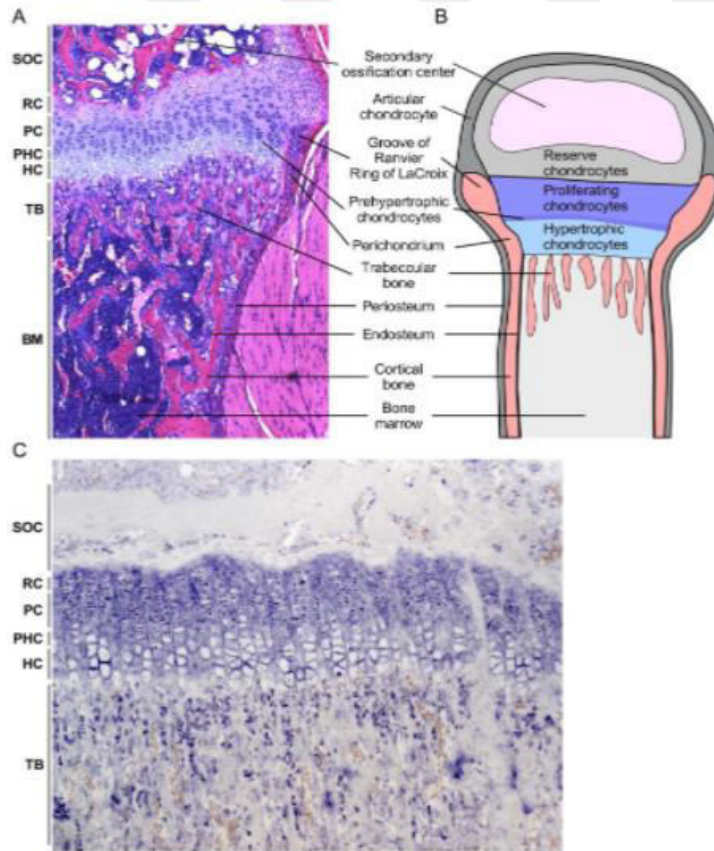


Şekil 3. Uzun kemiklerin endokondral kemikleşmesi. F-J fazları sıklıkla doğumdan sonra görülür (5).

Epifizdeki eklem kıkırdığı ise kemikleşmeye katılmaz. Uzun kemiklerin büyüme plağında meydana gelen ve kemiğin uzunlamasına büyümesini sağlayan olayları ise kısaca şöyle özetleyebiliriz (4).

Kıkırdak hücrelerinde görülen farklılaşmalar neticesinde doku birtakım zonlara (bölgelere) ayrılmaktadır (Şekil 4). Bu bölgeler;

1. Dinlenme zonu: Hücrelerinde değişiklik görülmeyen normal hiyalin kıkırdaktan oluşur.
2. Proliferasyon zonu: Burada kıkırdak hücreleri hızla bölünüp üst üste dizilerek kemiğin uzun eksenine paralel kolonlar meydana getirirler.
3. Hipertrofi: Sitoplazmalarında glikojen birikmiş büyük kıkırdak hücrelerinden oluşur. Hücreler çok sayıda vakuol içerir
4. Dejenerasyon ve kalsifikasyon: Kıkırdak hücreleri dejenere olup ölmeye başlar. Hücreler öldükten sonra onlara ait genişlemiş lakünalar açılarak kapiller damarlar ve osteoprogenitör hücreler tarafından işgal edilir. Bu arada kıkırdak matriksine hidroksi apatit kristallerinin çökmesiyle kalsifikasyon başlar.
5. Kemikleşme: Endokondral kemikleşme yoluyla kemik dokusu oluşumu başlar (43,44,45).



Şekil 4. Epifiz plağı 5 gelişim katmanını gösteren ışık mikroskopisi fotoğrafı (46).

2.4. Kalsifikasyon Mekanizması

Kalsifikasyon mekanizmasıyla ilgili genel olarak kabul edilmiş bir hipotez hala bulunmamaktadır. Kollajen fibriller üzerine Ca^{+2} tuzlarının çökmesi kalsifikasyonu başlatmış olur (4). Bunu proteoglikanlar ve Ca^{+2} bağlamada yüksek afinitesi olan glikoproteinler (osteonektin) başlatır (47). Osteonektinin hem hidroksiapatite hem de kollajene seçici olarak bağlandığı ve kemikteki mineraller ile kollajen fazlarını birbirine bağladığı böylece muhtemelen normal iskelet dokusunda aktif mineralizasyonu başlattığı ifade edilmiştir (48). İntrasitoplazmik veziküller içinde Ca^{+2} tuzlarının çökmesi belki de osteoblastların yardımı ile hızlandırılıp yoğunlaştırılır ve gerektiğinde ekstraselüler aralığa salgılanması sağlanır. Ayrıca kemikleşme yüzeylerinde bulunan alkalin fosfataz henüz osteoblastlar tarafından üretilip bilinmeyen bir yolla kalsifikasyona yardımcı olur (4).

2.5. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenme

Kemiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken (rezorbsiyon) aynı anda diğer bir bölümün yapımı (apozisyon) ile oluşur. Gelişim ve büyüme sırasında, iskelet “modeling” diye isimlendirilen bir proses ile kemiğin bir bölgesinden kemiğin kaldırılması ve başka bir bölgesinde deposite edilmesi ile şeklini ve büyüklüğünü kazanmak için yontulur. İskelet olgunluğa eriştikten sonra, rejenerasyon, eski kemiğin yeni kemikle aynı lokasyonda periodik olarak replasyonu ile devam eder (49). Bu prosese “remodeling” denir ve her 10 yılda yetişkin iskeletinin tamamen rejenerasyona uğramasından sorumludur (49). Kemik remodelingi iskelet gelişiminin erken dönemlerinde başlar. Resorpsiyon osteoklastların görevidir. Yeni kemik oluşumu osteoblastların görevidir. Her iki proses de osteositler tarafından kontrol edilir (50). Böylece kemik büyürken aynı zamanda şekli de muhafaza edilir. Çocuklarda kemik daha hızlı şekillenir (4).

2.6. Kemik Fizyolojisi

2.6.1. Destek ve Koruma

Kemikler vücudun ağırlığını taşıyan iskeleti oluştururlar. İskelet kasları tendonlar aracılığıyla periosteumun bağ dokusu ile birlikte kemik içine girerler. Uzun kemikler kaldıraçlardan oluşmuş sistemleri meydana getirmek suretiyle, kasların kasılması ile oluşan kuvvetleri arttırırlar. Kemik dokunun en önemli fonksiyonu iskeletin hareketi ve vital organların korunabilmesi için gerekli olan sertliği sağlamaktır (4).

2.6.2. Şekillenebilme Özelliği

Kemik büyümesi canlının içinde bulunduğu fizyolojik süreç göz önünde bulundurulmak üzere iki farklı şekilde açıklanır. Kemiklerin yaşam boyu fizyolojik etkilere ve biyomekanik kuvvetlere karşı kademeli olarak gösterdiği tepki sonucu şekil değiştirmesi “modellenme” (şekillenme, modeling) olarak tanımlanır (51,52). Fötal yaşamda iskelet oluşuktan sonraki dönemden itibaren tüm yetişkinlik boyunca, normal yapının korunması ile eski ve mikro düzeyde hasar gören kemiklerin uzaklaştırılması ve yerine yenisinin yapılması için kemik dokuda yıkım ve yapım olaylarının dengeli bir şekilde devam etmesi durumu ise “yeniden şekillenme” (remodeling) olarak adlandırılır (52,53,54). Erişkinlikten önceki dönemde kemik büyümesi, metabolik aktivitenin yıkımdan daha çok yapım tarafında kalmasının sonucudur. Yetişkinlerde normal kemik yapının devamı için osteoklastik ve osteoblastik aktivite denge halinde olmalıdır (53).

2.6.3. Kalsiyum Deposu

Kalsiyum vücudumuzdaki en çok bulunan katyon ve miktar olarak da en fazla bulunan beşinci elementtir. Bütün hücrelere gerekli olup vücudun fizyolojik dengesinin sağlanmasında görev alan iyonlardandır (55). Vücutta bulunan toplam

Ca^{+2} miktarının %99'u kemik dokuda bulunur. Kan ve dokulardaki miktarları çok iyi dengelenmiştir. Ca^{+2} koagülasyon mekanizmalarında, kas ve sinir fonksiyonlarında, ve pek çok başka alanda (endokrin sistem, kalp-damar sistemi, gastrointestinal sistem vb.) rol oynar (5). Kan ve kemik arasında, devamlı bir Ca^{+2} alışverişi vardır. Kemik dokudan günlük yaklaşık 400mg Ca^{+2} salınır. Ca^{+2} plazmada genellikle albumine bağlı olarak bulunur (56). Serum kalsiyumunun primer hemostatik düzenleyicileri PTH ve 1-25 dihidroksi vitamin D3'tür. Diyetle alınan Ca^{+2} duodenumdan aktif transportla jejunumdan pasif difüzyonla emilir ve süratle kemiklerde depo edilir. Kalsiyumun fazlası dışkı ve idrarla atılarak, Kan Ca^{+2} düzeyinin yükselmesine engel olunur. Kan Ca^{+2} miktarı azaldığında ise kemikteki Ca^{+2} serbest hale getirilir. Kemikten kalsiyum çekilmesi hızlı ve yavaş olmak üzere iki yolla olur. İlk mekanizmada, iyonların basit olarak hidroksiapatit kristallerinden önce interstisiyel sıvıya, oradan da zamanla kana geçmesidir. Bu saf mekanizma süngerimsi kemikte olur. Olgun kemikte bile az kalsifiye olmuş yeni lamelcikler kalsiyumu kolaylıkla alır ve verir (4).

Kemikten kalsiyumun serbestleşmesindeki ikinci yol ise hormon bağımlıdır. PTH osteoklastları aktive ederek matriksin rezorpsiyonunu başlatır ve kemikten Ca^{+2} serbestleşmesi sağlanmış olur. Bir diğer hormon olan tiroid bezinin parafoliküler hücrelerinde sentezi yapılan kalsitonin matriks rezorpsiyonunu inhibe eder. Osteoklast işlevlerini inhibe eder. Kemik üzerindeki etkisi PTH etkisinin tersidir (4).

Kan kalsiyum seviyesinin en düşük olduğu vakit sabah saat 02:00-04:00, en yüksek olduğu vakitse akşam saat 8:00'dir. Kalsiyum düzeyi yaşla beraber de değişiklik gösterir. Yenidoğan döneminde en yüksek seviyededir. 50 yaş üstü erkeklerde serum kalsiyum düzeyi zamanla düşer. 15 dakika ayakta kalmakla serum kalsiyum seviyesinde %4-7 oranında bir artışa sebep olur (57).

2.6.4. Fosfat

Organik fosfat ya da inorganik yapıdaki fosfor, insan vücudunda yaygın bir şekilde bulunan bir elementtir. Yumuşak dokularda fosfatın birçoğu organik formda ya da hücrelerdeki makro moleküllerin yapısında bulunur. Normal plazma düzeyi 2,5-4,5 mg/dL'dir.(57). Fosfor, kemik mineralinin önemli bileşeni olmasına ek

olarak, enzim sistemlerinde ve moleküler etkileşimlerde açısından da önemlidir. Toplam vücut fosfatının %85 kadarı kemikte bulunur. Fosfat çoğunlukla plazmada serbest olarak bulunur. Fosfat idrarla atılabildiği gibi geri emilimi ise böbrek prksimal tübülleriindir (5).

2.6.5. Beslenme

Kemik sağlığında beslenmenin rolü oldukça önemlidir. Besinler, mineraller ve vitaminler açısından zengin dengeli bir diyet benimsemek kemik sağlığına önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Doğru beslenme, kemik hastalıklarının hem önlenmesinde hem de tedavisinde rol oynayan iskelet sağlığının temel bir parametresidir. Kemiğin ana bileşeni kalsiyumun diyetle yeterli alımı kemik kaybını önemli ölçüde azaltabilir (58). Günlük kalsiyum kayıplarını telafi etmek için diyetle yeterli kalsiyum alımı zorunludur. . Süt ve süt ürünleri en iyi kalsiyum kaynağıdır ancak yeşil yapraklı sebzeler (örneğin ıspanak), brokoli, badem, baklagiller ve deniz ürünleri gibi gıdalarda da önemli miktarda kalsiyum bulunur. Önerilen kalsiyum alımı, bireyin yaşına göre değişir (58).

D vitamininin ise daha önce sözü edilen kalsiyumun barsak emilimindeki rolüne ek olarak, in vitro deneylerden anlaşıldığı kadarıyla doğrudan kemikleşme üzerine de etkisi vardır (4). Çok fazla D vitamini ise toksiktir ve pek çok yumuşak dokunun kalsifikasyonuna sebep olur (59).

C vitamini de kemiği doğrudan etkileyen vitaminler arasında olup, osteoblast ve osteositlerin sentezledikleri kollajen için şarttır. C vitamini yetersizliği kollajen liflerin meydana gelişini değişikliğe uğratarak kemik büyümesini ve kırık onarımını olumsuz yönde etkiler (60).

2.6.6. Hormonal Faktörler

Kalsiyum, fosfat ve D vitamini metabolizmasını etkileyerek kemik mineral dengesinde kilit role sahiptir. Plazmadaki kalsiyum seviyesini ve böbrekteki fosfat filtrasyonunu düzenler. Sürekli salınımı osteoklastik aktiviteyi uyarırken; aralıklı ve dengeli salınımının osteoprogenitör etkileyerek hücreleri, osteoblastik aktiviteyi

arttırarak kırık iyileşmesini uyardığı ve hızlandırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, paratiroid hormon kullanılan hastalarda kemik kütlesinin arttığı, kırık riskinin azaldığı, kırık iyileşmesinin hızlandığı görülmüştür (61). Düşük dozlarda, trabeküler kemik oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir (62).

Kalsitonin hem kompakt, hem detrabeküler kemik yapımının artışı sağlar aynı zamanda PTH'un antagonistidir. Kalsitonin düzeyi ile yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı mevcuttur. Ancak iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır. İnsülin ve büyüme hormonu gibi hormonlar anabolizan hormonlardır ve kırık iyileşmesini proteine bağlı Ca^{+2} artışı etkileyerek olumlu yönde etkilerler. Growth hormon, kallus hacminde artış sağlar. Tiroid hormonu da PTH gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardımcı olan hormonlardandır (63,64).

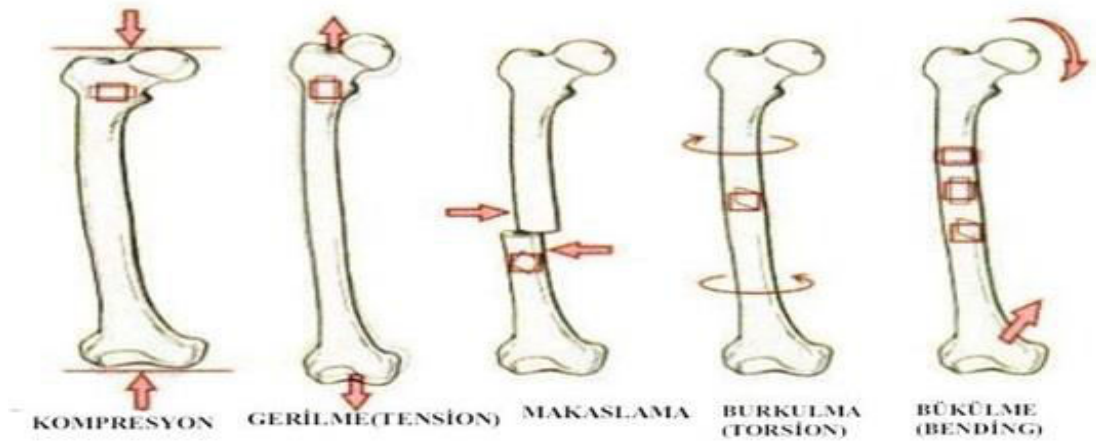
Kortizon, mezanşimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlattığından kırık iyileşmesini yavaşlatır. Aynı zamanda, kallus oluşumunu, FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonistik etki yaratarak kırık kaynamasını olumsuz yönde etkiler (64).

2.7. Kırık Tanımı ve Tipleri

2.7.1. Kırık Tanımı

Kemik dokusu; endokrin, genetiksel, damarsal ve travma kaynaklı etkilere bağlı makroskopik veya mikroskobik değişiklikler gösterebilen dinamik bir dokudur (65). Dıştan veya içten etki eden kuvvetlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulmasına kırık denir. Bu kuvvetlerin şiddetine ve kemiğin bu şoku absorbe edebilme yeteneğine göre kırıklar ufak bir çatlaktan (fissür), bir veya birçok kemiğin kırılmasına ve hatta komşu eklemlerde çıkık oluşturabilmesine (kırıklıçıkık) kadar değişiklikler gösterebilir. Kırığı oluşturan kuvvet sadece kemik dokuda ayrılma değil, beraberinde kemiğin etrafındaki yumuşak dokuları (deri, kaslar, tendonlar, ligamentler, damarlar, sinirler) ve hatta komşuluğundaki organlarda da hasar oluşturabilirler (19).

Kırığı oluşturan sebepler ile kırık lokalizasyonları yaşlara göre farklılıklar gösterir. Yeni doğan döneminde doğum travmaları, çocuklarda düşme, dövülme ve trafik kazaları, gençlerde spor ve trafik kazaları, orta yaşlarda trafik ve iş kazaları ve ileri yaşlarda düşmeler ve tümöral olaylar kırık yapan başlıca nedenlerdir. Yeni doğanlarda doğum travmasına bağlı olarak en çok klavikula, femur cismi ve humerus kırılır. Çocuklarda humerus suprakondiler kırıkları başta olmak üzere dirsek çevresi ve önkol kemikleri ile femur cisim kırıkları sık görülür. Genç ve orta yaşlarda tibia, femur ve radius distali en çok kırılan bölgelerdendir. İleri yaşlarda femur boynu, trokanterik bölge, humerus proksimali ve radius distali en çok kırık görülen bölgelerdendir (19). Tamamen normal anatomi ve fizyolojiye sahip bir kemikte dışardan etki eden kuvvetler ve vücut ağırlığının taşınabilmesi için gereken kas ve ligamentlerin kasılması gibi vücudun içinden etki eden kuvvetlerin şiddeti, doğrultusu, hızı ve etkileme süresine göre kırıklar meydana gelir (Şekil 5) (65).



Şekil 5. Kırık oluşturan kuvvetlerin yönleri (65).

2.7.2. Kırık Belirti ve Bulguları

Kırıkların tanısını doğru koyabilmek için, dikkatli ve sistematik alınan anamnezin yanında sistemik ve lokal fizik muayene belirti ve bulgularını ortaya koymak ve radyolojik bulgular ile bunları korele etmek gerekir (41). Anamnez, bilinci yerinde olanların kendisinden veya bilinci yerinde olmayanların çevresindekilerden detaylı olarak alınabilir. Kırıkla beraber etrafındaki kas ve

tendonlarla, onu örten fasya ve cilt de yaralandığı için belirtilerin bir bölümü kırığa özgü olmayıp, bu belirtiler aynı tür travmaların kırık oluşturmaksızın meydana getirdikleri yumuşak doku lezyonlarında da görülürler.

Kırık olduğu zaman ise bazı belirti ve bulgular sadece kırığa özgüdür. Bu sebeplerle kırıklarda görülebilecek tüm belirtiler travmaya ait genel belirtiler ve kırığa özgü belirti ve bulgular diye iki aşamada değerlendirilir.

2.7.3.1. Travmaya Ait Genel Belirti ve Bulgular:

Ağrı ve duyarlılık: Tüm travmalarda ağrı olur fakat kırık sonrası ortaya çıkan ağrı daha şiddetlidir. Hastanın doğrudan travma bölgesinde olduğunu ifaden ettiği spontan ağrı, travma bölgesine bası uygulamakla meydana gelen yada artan direkt ağrı veya uzaktan zormayla ortaya çıkan veya artan indirekt ağrı olabilir. Hastanın bu spontan, direkt ve indirekt ağrıyı aynı lokalizasyonda hissetmesi kırık lehine bir bulgudur.

Hematom: Kırık sonrası kırık uçlarında bulunan damarların yaralanması veya kırığı oluşturan darbenini etkisiyle meydana gelir. Hematomun hızla büyümesi durumunda damar yaralanması olasılığı akla getirilmelidir.

Ekimoz: Cilt altına yayılan hematom nedeniyle oluşan ciltteki görünümüdür. Travmanın erken dönemlerinde örülmesi masif kanama ve kırık habercisi olabilir. Ekimozun rengi zamanla yeşile ve sarıya dönüşür. Tamamen kaybolması 3 haftayı bulabilir. Ekimoz yer çekiminin etkisiyle yer değiştirir. Dirsek iç kısmında ve dirsek ekleminin hemen üst kısmında görülmesi humerus üst uç, uyluk arkasında görülmesi durumunda femur üst uç kırıkları olabileceği akılda tutulmalıdır.

Hareket Kısıtlılığı: Kırık oluştuğunda kemiğin kaldıraç kolu fonksiyonu ortadan kalkabileceği için ve ağrıya engel olabilmek için hareketler sınırlandırılır.

2.7.2.2. Kırığa Özgü Belirti ve Bulgular:

Hastanın duruşu: Bazı kırıklarda hastanın duruşu bize kırık hakkında bilgi verebilir. Örneğin femur kırıklarında bir tarafta eğer adduksiyon, dış rotasyon ve diğer tarafa göre kısalık görülebilir.

Deformite: Kırık uçlarının birbirinden ayrılmasına deplasman, uçların birbirlerinin üzerine binmesine overriding, fragmanların birbirinden uzaklaşmasına distraksiyon, öne, arkaya veya yana açılmasına angulasyon, kırık uçlarının kendi eksenini etrafında dönmesine ise rotasyon denir.

Krepitasyon: Kırık uçlarının birbirine sürtünmesi sonucu palpasyonda hissedilen bir kırırtı hissidir. Tesadüfen tespit edildiğinde kesin kırık olduğunu gösterir. Ancak krepitasyon varlığını araştırmak nörovasküler yaralanmalara yol açabileceğinden yapılmamalıdır.

Anormal hareket: Bir kemikte normalde olmaması gereken anatomiye aykırı olarak gözlenen harekettir. Çok değerli ve kırık olduğunu gösteren bir bulgudur. Ancak krepitasyonda olduğu gibi anormal hareket olup olmadığını aramak hasarı arttırabileceğinden önerilmemektedir.

Palpasyon belirtileri ve kısalık: Kırık şüphesi bulunan bir kemik palpasyonla çok dikkatli incelenmelidir. Kemikler cilde en yakın kısımlarından palpe edilirler. Patella ve olekranon kırıklarında kırık uçlar arasında aralık hissedilebilir. Komşu eklemler de dikkatlice muayene edilir. Kemikte kısalık olup, olmadığına bakılır ve sağlam tarafla karşılaştırılır. Kırıktan şüphe edilen ekstremitedeki tüm periferik nabızlara bakılmalı ve periferik duyu muayenesi yapılarak refleksler kontrol edilmelidir.

2.7.2.3. Radyolojik İnceleme:

Travma sonrasında acil servise başvuran hastalardan sağlıklı öykü almak her zaman mümkün olmaz. Bu durumda fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri daha fazla önem kazanmaktadır. Acile başvuran hastalarda uygulanacak tedavinin başarılı olabilmesi için erken tanı konulması önemlidir. Bu amaca ulaşmada görüntüleme

önemli bir role sahiptir. Son 30 yılda görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler, acil hastalara yaklaşımı da değiştirmiştir. Dijital radyografi ile birlikte grafilerin basılma ve dolayısıyla tedaviye başlama süresi ciddi oranda kısalmıştır **(66,67)**.

Radyografi değerlendirilirken bazı temel ilkeler göz önünde bulundurulmalıdır. Radyografideki patolojiyi değerlendirmeden önce radyografinin uygunluğuna bakılmalıdır. Öncelikle görüntü kalitesi düşük radyografiler kabul edilmemelidir, zira bazı patolojilerin gözden kaçma olasılığı yüksektir. Özellikle ekstremiteler yaralanmalarında iki yönlü grafiler alınmalıdır. Bu yaklaşımla var olan patolojilerin belirlenme olasılığı artar ve bazı patolojilerin daha iyi anlaşılması mümkün olur. Standart dışı çekilmiş radyografiler ile tanı koymaya çalışılmamalıdır. Acil servislerde yaralanma ihtimali olan iki komşu eklemün uygun pozisyon verilmeden çekilmesi sık karşılaşılan bir durumdur. Bununla birlikte kırık şüphesi olan kemiğin proksimal ve distalindeki eklemlerin görüntülenmesi önemlidir. Bir radyografide patolojiyi tanımlayabilmek için anatomiye hakim olunması gerekmektedir. Hekim, her türlü radyografiyi yorumlarken hasta ve ekstremitenin pozisyonunun doğruluğundan emin olmalıdır. Özellikle hava-sıvı seviyesinin önemli olduğu durumlarda X-ışınlarının yatay kullanıldığı radyografiler tercih edilmelidir. Örneğin dizdeki efüzyon veya hemartrozu, hastanın sırtüstü pozisyonda olduğu diz ekstansiyonda iken alınan diz yan radyografisinde görmek mümkün olabilir **(67,68)**.

Ultrasonografi acil serviste özellikle karın içi yaralanmalarda batın içi serbest sıvının araştırılmasında ve solid organ yaralanmasının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bunun dışında yumuşak doku yaralanmalarında, özellikle kas tendon yaralanmalarında fizik muayene bulgularının tanı koymak için yetersiz kaldığı durumlarda USG destekleyici olabilmektedir **(67,68)**.

Bilgisayarlı tomografinin ise acil serviste özellikle travma olgularında bütün vücudu gösterebilmesi en önemli özelliğidir. Yüksek dozda X-ışını ve kontrast madde verilmesi kullanımını sınırlamaktadır. Yine eklem içi kırıklarda, pelvis kırıklarında, vertebra kırıklarında, patolojik kırıklarda ve şüpheli durumlarda bilgisayarlı tomografinin yeri önemlidir **(67,68)**.

MR görüntülemenin ise başlıca endikasyonu beyin ve omurilik yaralanmalarıdır. Yumuşak dokuyu görüntülemeye bilinen üstünlüğüne karşın ekstremiteler yaralanmalarında acil MR görüntülemenin pratikte kullanımı yoktur **(67)**.

2.8. Kırık İyileşmesi (Kaynaması)

2.8.1. Kırık İyileşmesinin Evreleri

Kırık iyileşmesi birçok anatomik, biyomekanik, biyokimyasal faktörün etkileşimiyle kemiğin bütünlüğünü sağlamaya yöneliktir. Kemik; birçok dokudan farklı olarak, hasarlı bölgenin biyokimyasal ve biyomekanik olarak tamamen yeniden şekillenmesiyle iyileşir. Kırık iyileşmesi kırık olduğu anda başlar ve kırık uçlarının düzenli kemik dokusu ile birleşmesine kadar devam eder (69). Kırık iyileşmesi iki şekilde incelenir.

1. Doğrudan/direkt iyileşme (primer iyileşme)
2. Dolaylı/indirekt (sekonder) iyileşme

2.8.1.1. Primer Kırık İyileşmesi:

Kırık iyileşmesinin doğal sürecinde nadiren primer iyileşme görülür. Fragmanlar arasında hareketin olmadığı durumlarda, anatomik redükte pozisyonda doku kanlanmasında herhangi bir bozukluk yok ise, kallus dokusu oluşmadan, osteoblast ve osteoklast aktivitesiyle gerçekleşen iyileşmedir. Kırık, tam denge ve katı (rijid) tespit mevcudiyetinde primer olarak iyileşir. Bağımsız sonuçtan ziyade biyomekanik koşulların bir sonucudur (70,71). Primer kemik iyileşmesi; tam temasta (kontakt) iyileşme ve minimal boşluktaki (gap) iyileşme olarak iki farklı şekilde gerçekleşebilir. Her iki şekilde de anatomik olarak düzgün, biyomekanik olarak dayanıklı lamellar kemik oluşur (71).

2.8.1.2. Tam Temasla (Kontakt) İyileşme:

Primer iyileşmede kırık fragmanları arasındaki mesafe 0,01 mm den az ise fragmanlar arası gerim %2'den azdır ve kontakt iyileşme görülür (72). Kırığa yakın bölgedeki osteonların uçlarında cutting cone (kesici konik uç) denilen üniteler bulunur. Bu ünitelerin tepe kısmındaki osteoklastlar, kırık boyunca günde 50– 100 mikrometre hızla ölü kemik dokusunu rezorbe ederek ilerler; damarlanmaya ve arkadan gelen osteoprogenitör hücrelere yol açar (73). Cutting cone ünitesinin arka

kısımındaki osteoblastlar, kemik matriksini, yeni Haversian sistemleri oluşturur. Haversian sistemlerin damarlanmasıyla mezenkimal kök hücreler bu bölgeye taşınır. Köprüleşen osteonlar olgunlaşarak yeniden şekillenir ve lamellar kemik oluşur; böylece periosteal kallus oluşumu görülmeden iyileşme gerçekleşir (71).

2.8.1.3 Boşlukla (Gap) İyileşme:

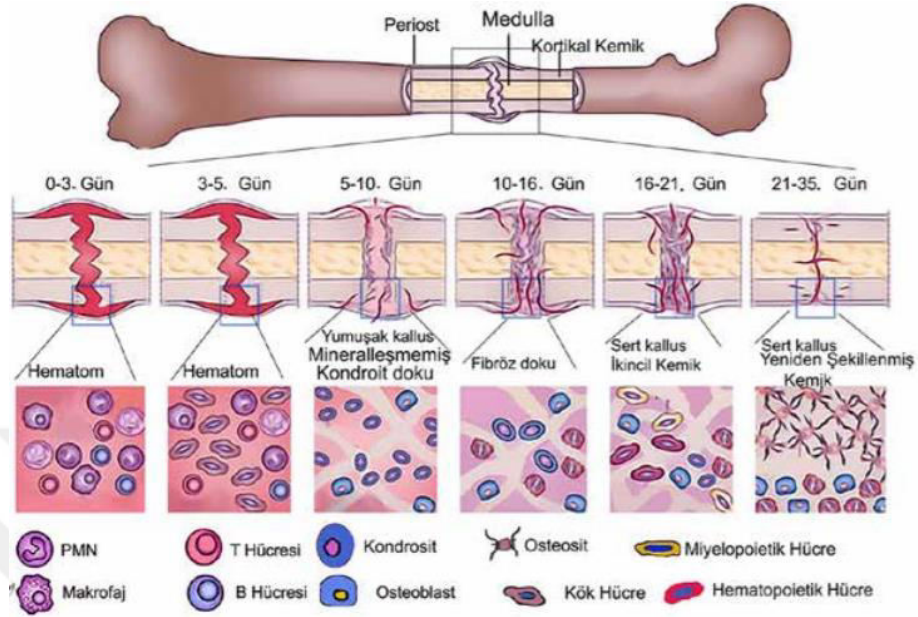
Primer iyileşmede anatomik redüksiyon ve stabil şartlarda kırık fragmanları arasındaki mesafe 800 mikrometre – 1 mm’den az ise gap iyileşme görülür (74). İlk olarak kırık hattında lamellar kemik oluşumu uzun aksa dik bir şekilde gerçekleşir, damarlanan, osteoprogenitör hücreler içeren osteonlar oluşur. Bu evre 3–8 hafta sürer, ardından yeniden şekillenme gerçekleşir. Bu yeniden şekillenme süreci enkondral kemikleşme kadar uzun olmasa da kemiğin anatomik ve biyomekanik yeterliliğinin sağlanması için gereklidir (74). İlk olarak kırık hattında lamellar kemik oluşumu uzun aksa dik bir şekilde gerçekleşir, damarlanan, osteoprogenitör hücreler içeren osteonlar oluşur. Bu evre 3–8 hafta sürer, ardından yeniden şekillenme gerçekleşir. Bu yeniden şekillenme süreci enkondral kemikleşme kadar uzun olmasa da kemiğin anatomik ve biyomekanik yeterliliğinin sağlanması için gereklidir (74).

Kırık uçları arasında direkt bağlantı varsa, osteonların uzanımıyla lamellar kemik oluşumu gerçekleşebilir; buna kontakt iyileşme denilir. Kırık uçları arasında boşluk 1 milimetreden küçük olduğunda osteoblastlar örgü kemik oluşturur ve yeniden şekillenme ile normal lamellar kemik dokusuna dönüşüm gerçekleşir ve bu gap iyileşmesidir (74).

2.8.1.2. Sekonder Kırık İyileşmesi:

Birçok kırık sekonder iyileşir. Sekonder iyileşmede kırık fragmanları arasında hareket olduğunda ilk olarak yumuşak kallus, sonrasında da sert kallus oluşumu gerçekleşir. Kırık bölgesinde subperiosteal alanda intramembranöz kemikleşme ile medüller sert kallus, kırık uçlarında ve periost dışında enkondral kemikleşme ile yumuşak kallus oluşur. Sekonder iyileşme radyolojik ve histolojik olarak üç fazda incelenir. Bu dönemler inflamatuvar faz, tamir fazı ve remodelizasyon fazı olarak

isimlendirilirler. Histolojik olarak iyileşme süresindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz (Şekil 6) (70,71).



Şekil 6. Sekonder kemik iyileşmesinin aşamaları.

İnflamatuvar faz, hematoma, pro-inflamatuvar faz, hipoksik faz, anti-inflamatuvar faz, revaskülarizasyon fazı, organize bağ dokusu aşamalarını içerir; Onarım fazı, yumuşak kallus fazı ve sert kallus fazından oluşur; ; Yeniden şekillenme fazı ise ardışık ve iç içe geçmiş dönemlerden oluşur. (Bu fazlar kesin sınırlarla ayrılmış olmayıp, birbiri içine geçmiş süreklilikte dokunun bölgelerinde devam eder). Ayrıca her iyileşme döneminde yoğun bulunan primer hücre çeşitleri gösterilmiştir (70,71).

İnflamasyon (Hematoma, Yangı) Fazı(1–4 gün): Bu aşama kırığın hemen ardından başlar. Kemik ve periostu besleyen kan damarları kırık sırasında yırtılır ve kırık bölgesi çevresinde hematoma oluşmasına neden olur. Hematom pıhtılaşır ve sonraki iyileşme için geçici çerçeveyi oluşturur. İnflamatuvar cevapla birlikte kırık çevresinde ve kırık uçları arasındaki hematoma koagülasyonla oluşan fibrin, onarıcı hücrelerin migrasyonunu kolaylaştıran iskelet görevi görür ve trombositlerden büyüme faktörleri salgılanır. Hematom hematopoietik kök hücrelerin kaynağı ve büyüme faktörlerinin kaynağını oluşturur. Kemik hasarı, tümör nekroz faktörü-alfa

(TNF- α), kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler) ve interlökinler (IL-1, IL-6, IL-11, IL-23) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasıyla sonuçlanır. Bu sitokinler, bölgedeki temel hücre biyolojisiyi uyarak makrofajları, monositleri ve lenfositleri çeker. Bu hücreler, hasarlı, nekrotik dokuyu çıkarmak için birlikte hareket eder ve bölgedeki iyileşmeyi uyarmak için vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi sitokinler salgılar.. İnflamatuvar sitokinlerin uzun süreli salınımının kemik üzerindeki olumsuz etkileri bilinmektedir; fakat kısa süreli kontrollü inflamatuvar yanıt kırık iyileşmesinde kritik öneme sahiptir. Akut inflamatuvar yanıt, ilk 24 saatte en yüksek seviyeye çıkar ve 7. güne kadara devam eder **(75)**. Başlangıç evresinde TNF alfa, IL1, IL6, IL11 ve IL18 düzeyinde artış görülür. TNF alfa ilk 24 saatte en yüksek seviyeye ulaşır ve 72. saatte tekrar normal seviyeye iner, kemotaktik etkisiyle ikincil inflamatuvar etki yaratır **(76)**. İnflamatuvar ve mezenkimal hücrelerin farklılaşmasını uyarıcı etkilerini osteoblast ve osteoklastlar üzerindeki TNFR1 ve TNFR2 reseptörleri üzerinden gösterir. TNFR2'nin sadece kırık iyileşmesi safhasında eksprese edilmesi, bu reseptörün özellikli olduğunu düşündürür. İyileşmede birçok interlökinin etkisi vardır; fakat IL1 ve IL6'nın daha önemli ve kritik olduğu bilinmektedir. Makrofajlarla IL1 düzeyi artması, osteoblastlardan IL6 salınımını artırır; kırıkta kallus gelişimini; ILR1 ve ILR2 reseptörlerini etkileyerek damarlanmayı uyarır. IL6 sadece akut fazda salgılanır; VEGF salınımını artırıcı, damarlanmayı, osteoblast ve osteoklast farklılaşmasını uyarıcı etki yaratır **(77)**.

İnflamasyon fazında hasarlı, nekrotik dokular yok edilir. VEGF'nin salınması bölgede anjiyogeneze yol açar ve hematoma içinde fibrin açısından zengin granülasyon dokusu gelişmeye başlar. Daha fazla mezenkimal kök hücre bölgeye gelir ve farklılaşarak fibroblastlara, kondroblastlara ve osteoblastlara dönüşür. Sonuç olarak kırık hattındaki kemikte bulunan kollojenden zengin mezenkimal hücreler, fibroblastlar, endosteal yüzeydeki osteoblastlar çoğalarak granülasyon dokusu oluşturur.. Aynı zamanda osteoprogenitör hücrelerinde granülasyon dokusu oluşmasında katkıları vardır **(78)**.

Tamir (Reperasyon) Fazı (2- 40 gün): Hasarlı dokunun yerini iyileşme dokusuna bırakmasının ardından matriks üretimi ve artan hücre sayısı ile birlikte onarım süreci de başlamış olur. Bu süreçte BMP2'nin mezenkimal hücre göçü çoğalması ve farklılaşmasında önemli role sahip olduğu bilinmektedir. Sekonder

iyileşmede hem intramembranöz hem de endokondral kemikleşme gerçekleşir. Fibrin açısından fazla oranda bulunan granülasyon dokusu hematomdan sonra oluşmaya başlar (40). Kırık fragmanları arasındaki merkez bölgede ve periostun dış kısımlarında endokondral kemikleşme başlar, kırıkta ve fibröz içeriği fazla olan yumuşak kallus meydana gelir. Oluşan yumuşak kallus matriksin mineralizasyonu, kırıkta hücrelerinin apoptozu, vaskülarite artışı, osteoblast çoğalması ve endokondral kemikleşme ile sert kallusa dönüşür. Yumuşak kallus oluşumunun 7-9.günlerde başladığı, matriksde Tip 2 kollajen ve proteoglikan miktarlarında artış olduğu yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (79). Kırık bölgesindeki kemik fragmanları subperiosteal alanda birbirine bağlayan intramembranöz kemikleşme ile sert kallus oluşumu gerçekleşir. İntramembranöz kemikleşmede mezenkimal kök hücreler osteoblastlara farklılaşır ve direkt kemik dokusu oluşumu olur. Kırıkta oluşumu ve endokondral kemikleşme TNF beta (TNF B2 ve 3) etkisiyle uyarılırken, intramembranöz kemikleşme için BMP5 ve 6 gerekli hücre çoğalmasını sağlar (80).

Kırık sonrası yeniden kanlanmanın sağlanması kırık iyileşmesinin gerçekleşmesi için en önemli basamaklardan biridir. Kan damarları endokondral kemikleşmede kondrosit apoptozu, hücrelerin ve matriks dokusunun uzaklaştırılması ile bu bölgeye doğru büyür ve ilerler. Angiogenesis VEGF'ye ve anjiyopoetine bağımlı olarak iki yoldan gerçekleşir. Anjiyopoetin 1 ve 2 seviyeleri iyileşmenin erken dönemlerinde artar (81). Angiogenesisde kritik öneme sahip VEGF osteoblastlardan ve hipertrofik kondrositlerden salınır, damarlanmada kritik role sahiptir. Endotelial mezenkimal hücre çoğalmasını uyarır, damar invazyonunu sağlayarak avasküler kırıkta dokusunun vasküler kemik dokusuna dönüşümünü sağlar. Damarlanmada BMP'ler VEGF ile sinerjistik etki gösterir ayrıca mekanik uyarı kırık bölgesinde VEGFR-2 reseptörü üzerinden anjiyogenik etki gösterir (81). Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF), nükleer kappa ligand reseptör aktivatör (RANKL), osteoprotegerin ve TNF-alfa etkisiyle mineralize kırıkta doku rezorpsiyonu başlar ve bu sayede sert kallus yumuşak kallusun yerini alır. Osteoblast ve osteoklast üzerinde M-CSF, RANKL, osteoprotegerin'in örgü kemik yapımında etkisi olduğu düşünülmektedir. TNF-alfa'nın mezenkimal kök hücre uyarıcı etkisi yanında kondrosit apoptozunu başlatması etkisi de vardır (80). Kallus dokusundaki bulunan kondrositlerin sitoplazmasında ayrıştırılan kalsiyum granülleri ekstrasellüler matrikse

taşınarak burada bulunan fosfat ile birleşir ve mineral depolanması başlar. Kalsiyum ve fosfat depolarından apatit kristaller oluşur. Yapılan çalışmalarda Tip 1 kollajen, osteokalsin, osteonektin ve alkalen fosfataz seviyelerine bakılarak sert kallus oluşumunun 14. günde en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Mineralize kırıldak örgü kemik ile yer değiştirdikçe sert kallus oluşumu artar ve iyileşme dokusu mekanik olarak daha rijid hale gelir. Kırık uçları birleşip kortikal kemik uçları devamlılığı sağlanana kadar onarım devam eder. İyileşme dokusu oluşumunun hızı, miktarı, içeriği ve şekli değişkenlik gösterebilir. Kemiğin kansellöz ya da kortikal yapısı, çevre yumuşak doku desteği, stabilitesine göre iyileşme değişikendir (82).

Yeniden Şekillenme (Remodeling) Fazı: Her ne kadar sert kallus dokusu rijid ve stabiliteyi sağlayan bir doku olmasına rağmen normal kemiğin biyomekanik özelliklerine sahip değildir. Oluşan bu kallusun kavitesi olan lamellar kemiğe dönüşmesi için yeniden şekillenme sürecine ihtiyaç vardır. IL-1 ve TNF alfa seviyeleri rezorbtif fazda artmıştır (82). Bir yandan osteoblastların oluşturduğu lamellar kemik bir yandan osteoklastların meydana getirdiği sert kallus rezorpsiyonu denge içinde gerçekleşir. Kırık sonrası 3.–4. Haftalardan itibaren başlayan bu süreç, klinik iyileşme sonrası yıllarca devam edebilir. Kemiğe özgü alkalen fosfataz ve osteokalsin değerlerinin gerilemediği artmış osteoblastik ve osteoklastik aktivite sinyallerinin uzun yıllar devam ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (83). Kemik, maruz kaldığı streslere bağlı olarak yeniden şekillenir. Aksiyel yüklenmeyle birlikte kristalize dokuda oluşan elektriksel polariteye bağlı elektropozitif konveks yüzeyde osteoklast, elektronegatif konkav yüzeyde osteoblast aktivitesini uyarır. Eksternal kallus dokusu lamellar kemiğe internal kallus medüller kaviteye dönüşür. Onarım fazında oluşan örgü kemik, lamellar kemikle yer değiştirir ve iyileşme süreci tamamlanır. Başarılı yeniden şekillenme süreci için yeterli kanlanma ve mekanik stabilitede dengeli artış, kritik bir role sahiptir. İyileşme bölgesindeki hücre ve dokuların değişiminin, aslında parçalar arası hareketten çok bölgesel gerilme ve hidrostatik basınca bağlı olduğu da bildirilmektedir. Kemikte kaliteli iyileşme elde edebilmek için birbiriyle ilişkili anatomik, biyomekanik ve biyokimyasal süreçlerin iyi yönetilmesi gerekmektedir (84).

2.9. Kırık İyileşmesinin Kontrolü

2.9.1. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Genel olarak yerel ve sistemik kategorilere ayrılabilen kırık iyileşmesini birçok faktör etkiler. Kırıkların yaklaşık %10'unda iyileşme sorunları görülür. Kırığın stabilitesi (hareketin fazla olması olumsuz), elektriksel uyarı (elektromanyetik alan ya da direk akım şeklinde olumlu), yeni kırıklarda ses dalgaları (olumlu), kırık bölgesindeki kan akımının durumu (kan akımının iyi olması olumlu), nikotin kullanımı (olumsuz), büyüme faktörleri (BMP, TGF- β , PDGF, IGF-II olumlu) hormonlar (kortizon olumsuz, kalsitonin, TH, PTH, GH olumlu), hastanın genel durumu (beslenme bozukluğu, işlevsel kayıp, eşlik eden sorunların fazlalığı olumsuz), damar-sinir yaralanması varlığı (olumsuz), çevre yumuşak dokuların durumu (hasarlanma fazlaysa olumsuz), yerel patolojik durumların varlığı (olumsuz), kırığa neden olan enerji (enerjinin yüksek olması olumsuz), tutulan kemiğin özelliği (metafizler bölge kırıkları daha şanslı) ve kemik kaybının durumu (kayıp fazlaysa olumsuz) kırık iyileşmesi üzerine etkili faktörler olarak özetlenebilir (85).

2.10. Kırık Tedavisi Sonucu Kemik İyileşmesi

Geçmişte kırıklar genellikle alçı ve atelle takip edilip tedavisi planlanmasına rağmen cerrahi tekniklerin ve implantların geliştirilmesi sonucunda; kemiğin biyolojik iyileşme hızını olumlu olarak etkilemesinin yanı sıra daha stabil kemik kaynamasına neden olmuşlardır. Bu modern ve etkin tedavi yöntemleri olarak alçı ve atelin yanı sıra eksternal ve internal fiksatörler bulunmaktadır (86).

2.10.1. Alçı ve Ateller

Alçı ile tespit; acil servislerde ve ortopedi polikliniklerinde, kırık ve çıkıkların geçici veya kalıcı tespiti amacı ile kullanılır. Bunun yanı sıra, yumuşak doku travmaları ve diğer bazı kasiskelet hastalıkları tedavisinde de sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Alçı materyali ile tespit iki temel şekilde uygulanır. Birincisi, alçının daha çok geçici tespit amacı ile kullanıldığı atel uygulamasıdır. Dokuyu çevresel

olarak sarmadan uygulanan bu yöntem, kolay ve hızlı bir tespite olanak sağlar. Ancak, desteğin tüm dokuda çepeçevre olmaması, hasta uyumunun düşük olmasına ve gereken hareketsizliğin sağlanamamasına yol açar. İkinci uygulama şekli ise daha sıklıkla, kırık ve çıkıkların kalıcı tedavisinde kullanılan sirküler alçı uygulamasıdır. Çok daha stabil bir tespit sağlayan bu yöntemde, yumuşak doku şişliği, ağrı ve kompartman sendromu gibi komplikasyonlar meydana gelebilir. Atel ya da sirküler alçı ile tespitten en fazla oranda yararlanıp en az komplikasyonla tedaviyi sağlamak için; alçıyı doğru endikasyon, uygun materyaller ve doğru teknik kullanarak yapmak ve istenen tedavi sonucuna ulaşınca en kısa sürede çıkartmak gerekir (87).

2.10.2. Açık Redüksiyon İnternal Fiksasyon

Uzun süre hareketsizliğin hem ekstremitte hem hasta için avantajlı olmadığı, komplikasyon risklerinin fazla olduğu kırıkları cerrahi yöntemlerle tedavi etmek gerekir. Son 150 yılda bilimdeki ilerlemeyle, çeşitli cerrahi implantlar ve yöntemler geliştirilmiştir. 1800'lerde ilk olarak Lister tarafından patella kırığına internal fiksasyon yapılmıştır. Bundan sonra, yapılan implantlarda sınırlı biyolojik ve mekanik bilginin olmasına bağlı korozyon, yetersiz stabilite, enfeksiyon gibi komplikasyonlar gelişmiştir (88). Yapılan araştırmalarla elde edilen yeni bilgiler ışığında, hem implant (materyal, tasarım) teknolojisinde hem cerrahi yaklaşımlarda yenilikler olmuştur. İnternal fiksasyon ile kırık hattında kompresyonu sağlanarak başarılı kaynama elde edilmesinden sonra dinamik kompresyon plağı geliştirilmiş, ancak bu tasarımın plak altında kortekste kemik kaybına ve gecikmiş kaynamaya neden olması üzerine, korteksin kanlanması bozmaması amacıyla sınırlı temaslı dinamik kompresyon plağı (LCDCP) geliştirilmiştir. Bu tip tespitte dikkat edilmesi gereken en önemli hususlar kırığın yeterli fiksasyonu, plağın özelliği, yerleştirilen vida sayısı ve pozisyonlarına dikkat etmek cerrahi esnasında yumuşak dokudaki hasarı minimal seviyeye indirerek periosteal kanlanmayı bozmadan tedavi etmektir (89).

Aslında internal fiksasyon için kullanılan plakların ve vidaların cinsine ve uygulama şekline göre elde edilecek tespitin dengesi kısmi veya mutlak stabil olabileceğinden iyileşme sekonder veya primer kemik iyileşmesi şeklinde olabilir.

Çok parçalı kırıklarda anatomik redüksiyon için geniş cerrahi yaklaşımlar gerektiğinden bu tür kırıklarda kırık hattını açmadan köprü plaklama yöntemiyle kanlanmanın korunması amaçlanır (56). Burada, köprülü plaklar eksternal fiksatör gibi davranarak esnek tespit sağlar ve kallus ile iyileşme görülür. Burada plak atel olarak kullanıldığında, plağa kilitlenebilir vidaların avantajı kullanılır (82). Ancak, kompresyon amaçlı konulan plaklarda (bazı transvers ve kısa oblik kırıklar, eklem içi kırıklar için) ve çekirme vidalarında ve gergi bandı (k-teli ve 8 şeklinde serkraj ile Zuggurtung tekniği) yoluyla kemiğin gerilen tarafına uygulanan katı tespit ile mutlak denge sağlandığından, kallus oluşmaksızın primer kemik iyileşmesi görülür. Nötralizasyon veya destek amaçlı konulan plaklarda da harekete izin vermesi nedeniyle sekonder iyileşme, kallus oluşumu görülür. Çekirme vidaları uzun oblik kırıklarda 2–3 vida ile tespit sağlayabilirken, oblik veya transvers kırıklarda yüksek oranda sıkıştırma sağlamalarına karşın işlevsel yüklenme, döndürme ve eğilme kuvvetlerine karşı gelecek kaldırma kolları yoktur. Yine 1–2 çekirme vidası ile yapılan kırık tespitinde katı bir tespitle hareketsizlik sağlansa da yüklenmeye karşı zayıf olduğundan, beraberinde köprüleyen atel prensibi ile (köprülü plak) kırık bölgeye binen yük azaltılabilir (82).

2.10.3. İntramedüller Çiviler:

İntramedüller çivi tasarımları 1800’lü yıllardan beri geliştirilmektedir. Bugünkü modern intramedüller implantların öncüsü Kuntscher’dir.

Yeni nesil çivilerde statik kilit vidalarıyla rotasyonel olarak daha stabil, dinamik deliklere yerleştirilebilen kilit vidalarıyla kompresyona izin veren tasarımlar geliştirilmiştir. Yerleştirilmeden önce medüller kanalın reamerize edilmesi ve çivinin endosteal yüzeyel oturması yoluyla stabilite güçlendirilmiştir.

PFN (proksimal femoral nail) gibi intramedüller cihazlar da, yaylanma katsayısı çok düşük olduğundan, sıkıştırma (kompresyon) için uygun değildir. Bunlar, kilitli çivileriyle birlikte erken dönemde kısa süreli bir sıkıştırma sağlayabilseler de tedavi sürecinde kırık redüksiyonu metafiz kısalığına ve kilitleme çivileri çevresinde rezorpsiyona neden olur. İntramedüller çiviler, ayrıca elastic çivi

gibi değişik esneklikte çiviler de, göreceli denge sağlayarak kallus oluşumu yoluyla (sekonder) iyileşme sağlar (82).

2.10.3. Eksternal Fiksatorler

Hasta uyumsuzluğu ve pin dibi enfeksiyonları gibi potansiyel problemleri nedeniyle, diğer yöntemlerle tedavisi uygun olmayan kırıklarda kullanılır. Ciddi ekstremite yaralanmalarında fiksasyon yöntemi olarak kullanılır. Yüksek enerjili açık kırıklarda, internal implantlar enfeksiyon riski nedeniyle tercih edilmemektedir. İnternal fiksasyondan farklı olarak, ameliyat sonrası dönemde modifiye edilebilir, rijiditesi ayarlanabilir bir yöntem olması avantajlıdır. Kemik boyunun uzatılması için kullanılabilir.

Eksternal fiksatorler kırık tespitinde cerrahın esnekliği kontrol edebildiği yegâne sistemdir. Tespitin sertliği, cihazın tipine, elemanlarının kemiğe göre dizilimine, cihaz ile kemik arası veya çiviler arası mesafeye, çivi sayı ve kalınlıklarına, gerginliğine göre değişebilmektedir. Tespitin katılığı (rijiditesi) değiştirilebilir olduğundan, göreceli (rölatif) ya da mutlak stabilite ile primer veya sekonder iyileşme görülebilir. Ancak, tek yanlı fiksatorler, çemberimsi fiksatorlere göre esas olarak atelleme esasına dayalı bir tespit sağladıklarından, esnek tespit sağlar ve yük altında kırık uçlarının birkaç milimetrelik hareketleri olabilir ve bu da kallus oluşumunu uyarır (82).

2.11. Kırık Kaynamaması

Bir kırığın kaynamadığını söyleyebilmek için genel kabul görmüş bir tanım henüz mevcut değildir. Eğer bir kırık beklenen sürede kaynamazsa bir kaynama geçikmesinden bahsedilir. Birçok araştırmacı beklenen kaynama süresinin üzerinden 2-3 ay geçmesine rağmen kırıkta klinik ve radyolojik ilerleme sağlanamıyorsa bu durumu kaynamama olarak kabul edilmektedir (90).

Kırığın kaynamaması için birçok etmen gerekir ve farklı patolojik sebeplerle farklı kaynamama tipleri olduğu bilinmektedir. Bu etmenlerin iyi değerlendirilmesi doğru tedavi için çok önemlidir. Lokal ve sistemik etmenler olmak üzere iki temel

grupta incelenir. Sistemik olarak malnutrüsyon, diabet, sigara bağımlılığı, osteoporoz ve non-steroid antiinflatuar ilaçlar söylenebilir. Lokal etmenler ise enfeksiyon, yetersiz dolaşım, biyomekanik dengesizlik, redüksiyon sonrası yetersiz kemik teması ve yaralanmanın şiddeti olarak sayılabilir (90).

2.11.1 Sistemik Etmenler

2.11.1.1 Osteoporoz

Osteoporoz ve kemik iyileşmesi arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır. Mevcut klinik kanıtlar yetersiz olsada osteoporozdaki yavaşlamış kemik metabolizmasının, kallusun olgunlaşmasındaki gecikmeden ve kırık iyileşmesindeki yavaşlamadan sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Osteoporozun medikal tedavisine kırık iyileşmesinin erken dönemlerinde başlanması önerilmektedir. Ayrıca osteoporotik hastalarda internal ya da eksternal tespitlerle erken harekete başlanması ve uzun süre hareketsiz kalmasının engellenmesi de gereklidir. Östrojenin kadınlarda menapoz sonrası oluşan düşük düzeyleri, 55 yaş üstü kadın ve erkekler arasındaki kaynama oranlarını kadınlar aleyhine değiştirmektedir (91,92)

2.11.1.2 Protein Eksikliği

Uzun kemik kırıklı olgulardaki artmış katabolizma ve belirgin üriner protein kaybı negatif nitrojen dengesine sebep olmaktadır. Bunların sonucunda oluşabilecek protein eksikliği ise kırık iyileşmesi sürecinde kırık kallusunun miktarından ziyade kompozisyonunu yani mekanik gücünü etkilemektedir. Guarniero ve ark, uzun kemik kırıklarının iyileşmesinde nutrisyonel protein desteğinin olumlu etkilerini göstermişlerdir. Ayrıca Vitamin B6 eksikliğinin de, gelişen kallusun olgunlaşması ve kırığın kaynamasında önemli rolü olan Glikoz-6 fosfat düzeylerinde düşmeye sebep olarak kemiği etkileyebileceği gösterilmiştir (93,94,95).

2.11.1.3. Diabetes Mellitus

Temel olarak vasküler ve nöropatik etkilerle kırık kaynamasını olumsuz etkilemektedir. Diabetli hastalarda hem kollajen oluşumunda hem de iyileşme sürecinde etkili hücrelerde belirgin azalma gösterilmiştir (96). Aynı şekilde parapleji, kronik alkolizm, spina bifida, siringomyeli ve lepra gibi hastalıklarda nöropati ve koruyucu propiyosepsiyonun negatif yönde etkilenmesi sebebiyle kemik iyileşmesini olumsuz yönde etkilenmektedir (97).

2.11.1.4. Sigara

Sigara içenlerde kaynamama ve geç kaynamanın görülme sıklığındaki artma istatistiksel olarak gösterilmiştir. Nikotin kırık iyileşmesi sürecinde hücreler üzerine olumsuz etkileriyle makrofaj ve fibroblastların hem olgunlaşmasını hemde çoğalmasını bozmaktadır. Ayrıca vazokonstriksiyon yaparak doku perfüzyonunda da azalmaya hipoksi ve iskemiye yol açmaktadır. Bu durum ortalama periferik oksijen saturasyonunun sigara içenlerde % 78.5 iken içmeyenlerde % 92.9 olarak bulunmasına bağlanmıştır (98,99).

2.11.1.5. NSAİİ İlaçlar

Bu ilaçlar da osteojenik aktiviteyi ve kırık iyileşmesini olumsuz etkilerler. Buna nasıl sebep oldukları henüz tam aydınlatılamamış olsa da osteoblastik aktiviteyi azalttıkları düşünülmektedir. Özellikle NSAİİ'leri kullanma süresi 4 haftayı geçtiğinde ve cerrahi sonrası ağrı kesici olarak kullanıldıklarında, kaynamama ve NSAİİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilmiştir(17). Cox-2 spesifik olan ilaçların daha az özgün olanlara göre kemik iyileşmesini daha olumsuz etkiledikleri gösterilmiştir (100,101).

2.11.2. Lokal Etmenler

Lokal Etmenler Kırık bölgesinde dolaşımın bozulması, kemik iyileşme sürecini doğrudan etkilemektedir. Dolaşımın bozulması parçalı, deplase ya da açık

kırıklar gibi yüksek enerjili kırıklarda kemiği çevreleyen yumuşak dokunun ve dolayısıyla besleyici arterlerin zedelenmesi sonucu oluşur. Kırığı yaratan enerji ne kadar yüksekse çevre yumuşak dokular ve kemikteki dolaşımsal hasar da o derece yüksek olmaktadır. Kemik parçalarının devaskülerize olduğu, periostun sıyrıldığı ve parçalandığı durumlarda oluşan nekrotik parçalar ve geniş defektler atrofik kaynamamalar için ciddi risk oluşturmaktadırlar. Kardalani ve arkadaşları, tip III açık kırıklarda kaynamama oranını % 20-30 arasında bildirmişlerdir **(102,103)**.

Metafiz bölgesindeki kırıklar diyafiz kırıklarına göre daha çabuk kaynamakta ve kaynamama oranları daha düşük bulunmaktadır. Bunun sebebi metafiz bölgesinde kemiğin daha iyi kanlanması ve daha çabuk rejenere olmasıdır. Periostta ve kırık parçalarında ciddi hasar olsa bile sıklıkla kaynama problemi oluşmamaktadır **(104)**. Kırığa cerrahi müdahale sırasında yaratılan yumuşak doku ve dolaşım hasarı da kaynamama gelişiminde etkili bir faktördür. Kırık iyileşmesinde çok etkili olan sitokinler, osteoblastlar ve diğer mediatörleri içeren hematoma boşalması, kemik ve periostun, çevredeki kas ve diğer yumuşak dokularla bağlantısının kesilmesi gibi kırık iyileşmesini olumsuz etkileyecek durumlar cerrahi yaklaşım sırasında en alt düzeyde tutulmaya çalışılmalıdır **(105)**.

Dolaşımı bozarak kırık kaynamasını olumsuz etkileyen faktörlerden biri de kompartman basıncında ki artmadır. Bu durum yumuşak dokulara ve kırık hattına gelen kan akımında azalmaya neden olur. Fasyotomi yapılmasındaki gecikmeyle kırık iyileşme süresindeki uzama arasındaki ilişki literatürde gösterilmiştir **(106)**.

Kırık tespitinin dengesi ve bunun sonucu kırık hattında oluşan mekanik durum kırık iyileşmesi etkiler. Bu etkilenme sonucu hem parçalar arası hareketin frekans ve magnitudü kırık kallusunun boyutunu değiştirir hem de mezenşimal hücrelerin osteoblast yada kondrojenik hücrelere dönüşümü etkilenir.

Parçalar arası kemik teması kırık iyileşmesi için önemli bir gerekliliktir. Yumuşak dokunun kırık parçalarının arasına girmesi, kemik kaybı, parçalar arası kötü dizilim, ya da ayrılma sonucu defektler ortaya çıkabilir. Oluşan bu defektlerin kırık iyileşmesi sürecinde köprülenmesi gerekir. Osteonal iyileşmede kortikal bir defektin köprülenebileceği mesafe hayvan deneylerinde en fazla 1 mm olarak bulunmuştur. Defektin büyüklüğü arttıkça, kırığın kaynamama ihtimalide artmaktadır. İnternal atellemede ise bu mesafe 2 cm' i geçmemelidir **(107)**.

Biyolojik tespit yöntemleriyle kaynamanın temel felsefesini oluşturan Perren'in gerilim teorisine göre kırık hattındaki boşluk ve hareketin miktarları sonucu oluşan gerilim kırık kaynamasını hücresel düzeyde etkilemektedir. Osteoblastlar yüksek gerilimli ortamdan hoşlanmazken, kondroblastlar ve fibroblastlar için uygun bir ortam oluşmaktadır (108).

Lokal etmenlerden olan enfeksiyon doğrudan kaynamama sebebi değildir. Ancak kırık hattında bakterilere karşı gelişen yangısal yanıt kemik ölümüne, kallusun devamlılığının bozulmasına, kemik parçaları arasındaki boşlukların genişlemesine ve dolayısıyla hareketin artmasına yol açarak kırığın kaynamasına olumsuz etkiler yapar. Ayrıca kemik kalitesinin olumsuz etkilenmesi neticesi oluşabilecek olan tespit gereçlerinde gevşemede kaynamama sebebi olabilir (109).

Çoklu yaralanma ise hem kas-iskelet sistemini hem de iç organları etkileyen sistemik bir rahatsızlıktır ve bir kırığın prognozunu kötü etkileyen faktörlerdendir. Ortama salınan toksinler ve serbest radikaller geniş bir spektrumda biyolojik hasara sebep olabilirler. Eğer çevre yumuşak dokularda da hasar mevcutsa bu durumda kırığın iyileşmesinin daha da kötüleşeceğini düşünmek gerekir (105).

2.11.3. Sınıflama

Kaynamamaları temel olarak biyolojik olarak aktif olanlar (canlı/vasküler) ve biyolojik olarak aktif olmayanlar (cansız/avasküler) olarak iki ana gruba ayıran Weber ve Cech'in 1976 da yaptığı sınıflama hala geçerliliğini korumaktadır (90).

2.11.3.1. Canlı (Vasküler) Kaynamamalar

Kallus yanıtının iyi olduğu yani kırık parçalarının biyolojisinin iyi olduğu kaynamamalardır. Burada sorunun çoğu mekanik denge kaynaklıdır. İyi kanlanan bir dokudaki hareket periostu uyarak yeni kemik oluşumunu tetiklemektedir. Yeterli denge olsa kemik kaynamaya hazırdır. Dolayısıyla mikro ya da makro-hareketin kırık iyileşmesi ile uyumlu kritik eşik seviyenin altına indirilmesi gerekmektedir. Sintigrafik olarak kanlanmalarının iyi olması nedeniyle yüksek aktivite gösterirler. Olgular genellikle uzuvlarını kullanabilirler ancak yorulma ya da yüklenme ile ağrı

oluşması önemli bir bulgudur. Radyolojik görünümüne göre fil ayağı, at ayağı ve oligotrofik olarak üç alt gruba ayrılırlar (90,110).

Fil ayağı kaynamamaların özelliği hipertrofik ve zengin bir kallus oluşumudur. Sıklıkla yetersiz tespit ya da erken yük verme nedeniyle oluşurlar. At ayağı kaynamamalarda ise kallus birinciye göre daha azdır. Sebep çoğunlukla başarısız plak-vida tespitidir. Metalin dayanabileceği sürede kaynama gerçekleşmez ise tespit materyali kırılır.

Bu tip kaynamamaların tedavisinde biyolojiyi iyileştirici bir ek tedaviye ihtiyaç duyulmaz asıl gerekli olan mekanik olarak varsa şekil bozukluğunun düzeltilmesi ve kaynamama sahasındaki dengenin arttırılmasıdır. Bu da kompresyon plaklama ya da oymalı kilitli intramedüller çivileme gibi internal ya da ilizarov gibi fiksatörlerle eksternal olarak sağlanabilir. Ancak yeterli denge sağlandıktan sonra fibröz kıkırdak kalsifiye olabilir ve yeni damarların penetrasyonu sonucu remodelasyon süreci işleyebilir. Kırık uçlarında rezeksiyon yapılması, canlı kemik dokuda kayıplara sebep olacağı için hatadır (97).

Oligotrofik kaynamamalarda ise kallus görülmez. Kırık uçları canlı olmasına rağmen kaynamamanın sebebi tespitin kırık uçları arasında kabul edilemez boşluklar bırakacak şekilde yapılmış olmasıdır. Kallusun yokluğu kaynamama sahasında hareketliliği arttırarak kemik iyileşmesi için uygunsuz bir ortam yarattığından dengenin arttırılması tedavi için şarttır. Vasküler olmalarına rağmen kemik oluşturmadıkları için kemik oluşumunu uyaran osteoprogenitor hücrelerin, osteoindüktif proteinlerin ve osteokondüktif matriksin elde edilebilmesi amacıyla dekortikasyon ve otojen kansellöz greft uygulanması önerilmektedir (111).

2.11.3.2. Cansız (Avasküler) Kaynamamalar

Bu kaynamama tipinde kemik parçaları cansızdır dolayısıyla biyolojik herhangi bir reaksiyon oluşturma kapasitesine sahip değildirler. Sintigrafik olarak zayıf kanlanmaları nedeniyle düşük aktivite gösterirler. Direkt grafilerde kallus görülmez.

Cansız kaynamamalar 4 alt tipe ayrılır. Kama şeklindeki cansız kaynamamalarda kanlanması bozuk bir ara parça mevcuttur. Bu parça ana

parçalardan birine kaynarken diğerine kaynamaz. İkinci tip olan parçalı kaynamalarda nekrotik parça sayısı birden fazladır. Üçüncü tip kayıplı (defekt) kaynamamalarıdır. Açık kırık ya da enfeksiyona ikincil olarak bir parça kaybı söz konusudur. Başlangıçta kırık uçları canlı olsada kaybın büyüklüğü kırık iyileşmesinin köprüleyebileceği mesafenin üstündedir. Zamanla bu uçlar da canlılıklarını yitirirler. Dördüncü tip olan atrofik kaynamamalar ise aslında ilk üç tipin zaman içinde geldiği noktadır. Kırık uçlarının uzun süre içinde kısmen incelendiği, uzuvda da kullanılmamaya bağlı kas atrofileri ve osteoporozun geliştiği genel bir tablodur **(110)**.

Oluşum sebebi esas olarak kırık hattına komşu kemik parçalarının yaralanmanın şiddeti yada kötü cerrahi teknikler neticesinde cansız hale gelmesidir. Kaynamanın sağlanabilmesi için sadece tespitin dengelenmesi yeterli değildir. Cansız kemiklerin uzaklaştırılması, kırık uçları arasındaki fibrotik dokuların temizlenmesi, canlı kemik uçlarının temasının sağlanması ve ilave olarak greftleme ile biyolojik canlandırmada tedaviye eklenmelidir

Cansız bir kemik de canlı bir kemiğe kaynayabilir ancak bunun olmasını sağlayan, nekrotik parçaları uzaklaştıran yeniden şekillenme sürecinin zaman içinde kısalık ve distal parçada osteopeniye yol açacağı unutulmamalıdır.

2.12. Kırık Kaynamamasında Tedavi Yöntemleri

Önceki konularda da bahsettiğimiz üzere birçok nedenden dolayı oluşan kırık kaynamamasının tedavisi planlanırken, kaynamama bölgesindeki son durum üç temel açıdan değerlendirilmedir. Bunlar; kaynamama bölgesindeki biyolojik durum, kaynamama bölgesindeki mekanik durum ve hasta ile ilgili sistemik sorunların olmasıdır.

Başlangıçta sorunun daha çok biyolojik olduğu (yüksek enerjili yaralanmalar da ya da biyolojiyi göz ardı eden cerrahi uygulamalar sonucu gelişenler) düşünülse de zaman içinde denge problemleri de kaynamama probleminin bir parçası haline gelmektedir. Başarılı sonuçlar alabilmek için kaynamama bölgesinde hem biyoloji hemde dengenin iyileştirilmesi gerekmektedir **(112)**.

Bunun için gerekli biyolojik çözüm avasküler bölümleri olan kemiklerin canlı kemiğe ulaştırılmasına kadar uzaklaştırılması ve otojen kansellöz greftlemedir. Mekanik olarak ise amaç, ek biyolojik hasar yaratmadan kaynama için gerekli ulaşılabilir dengeyi sağlayabilmektir. Bu ikisinin toplam sonucu olarak da dizilimi ve uzunluğu uygun şekilde sağlanmış bir kemikte tam kaynama elde edilmesi ana hedeftir (90).

2.12.1. Biyolojik Canlandırma Seçenekleri

Kaynamama bölgesindeki biyolojik durum ile gerekli cerrahi adımlar atıldıktan ve uygun mekanik ortam sağlandıktan sonra kaynayabilme potansiyeli ifade edilmektedir. Oldukça karmaşık olan bu süreç temel olarak damarlanma ve osteoprogenitor hücrelerin sahaya ulaşabilmesi olarak basitleştirilebilir (90).

Dekortikasyon, kaynamama bölgesini ilave kanlanma hasarı yaratmadan açığa çıkarmanın en basit ve etkili yoludur. Judet'in tekniğinde kaynamama bölgesinde kemikten osteotomla çevre yumuşak dokulara bağlantısı kesilmemiş kemik parçalar ayrılır. Bu teknikte hem dolaşıma zarar vermeden şekil bozukluğunu düzeltmek hemde cansız kaynamamalarda greftleme yapmak kolaylaşır (113).

Kansellöz otogreftler, dekortikasyon ile birlikte biyolojik canlandırmanın ana unsurlarıdır. Osteoindüktif, osteokondüktif ve osteojenik olmaları nedeniyle altın standart olarak kabul edilirler ve biyolojik olarak allogreftlerden ve diğer kemik preparatlarından çok üstündürler. Bu tip preparatlar (Demineralize kemik matriksi, hidroksiapatit, tricalsiyumfosfat, kemik morfojenik proteinleri vs) canlı hücreler elamanlar içermediğinden cansız bir ortamda herhangi bir iyileştirici etkileri olmaları söz konusu değildir. Kansellöz otogreftlerin dezavantajı ise alındığı sahaya verilen hasar ve sınırlı miktarda alınabilmeleridir (114,115,116).

2.12.2. Tespit Yöntemleri

Kırık tedavisindeki temel prensipler kaynamamaların tedavisinde de geçerli olduğundan seçilecek tespit şekli, akut kırık tedavisinde kullanılan tekniklerin aynısıdır (117).

Yumuşak dokulara nazik ve özenli davranılması hem taze kırıklarda hemde kaynamamalarda başarılı sonuçlar için çok özel bir öneme sahiptir. Ancak cilt kesisinin boyutu ile yumuşak dokuların sıyrılması ya da kemiğin dolaşımına verilecek hasar arasında bir ilişki mevcut değildir **(118)**.

Ameliyat öncesi planlama tüm kırık tedavilerinde olduğu gibi çok önemlidir. Şekil bozukluğunun olmadığı hipertrofik kaynamamaların çoğunlukla geleneksel şekilde açılması gerekmez. Bu tip seçilmiş kaynamamalarda sınırlı girişimsel teknikler kullanılabilir **(119)**.

Çok hareketli fakat ağrısız kaynamamalar ise gerçek sinovyal yalancı eklem oluşturmuş kaynamamalardır. Bunların kırık uçlarının canlılığını bozmadan klasik şekilde açık yöntemle canlandırılması gerekir **(97)**.

Büyük kemik kayıpları ya da geniş nekrotik kemikler olmadığında tek aşamalı cerrahi ile kaynama oranı % 95 civarındadır. Klasik plak-vida ile tespit ya da kanal içi çivileme, kaynamamaların çoğunda uygun tedaviyi sağlamada yeterlidir. Birçok araştırmacı içten tespit ile başarılı sonuçlar alındığını bildirmişlerdir **(117,118)**.

Plaklar, kaynamama tedavisinde hem şekil bozukluğunun düzeltilmesi hem sıkıştırma hemde aşılama gibi gerekliliklerin aynı zamanda sağlanmasına olanak verdiğinden oldukça kullanışlı gereçlerdir. Kemiğin dış bükey tarafına (gerilim tarafı) uygulanması daha uygundur. Kırık hattını köprüleyecek şekilde uygulandığında plak ile kemik arasının kaynamama bölgesinde kansellöz aşılarda doldurulması kaynamayı olumlu yönde etkilemektedir **(120)**.

Kanal içi çiviler ise kaynamama tedavisinde ya daha önce plak-vida gibi başka yöntemlerle ya da konservatif olarak tedavi edilmeye çalışılıp başarılı olunmadığı durumlarda yada başarısız kanal içi çivileme sonrası yeniden çivileme tedavisi şeklinde uygulanabilir **(121)**.

Yeniden çivileme, temel olarak eski çivinin çıkarılması, kanalın oyulması ve daha geniş çaplı bir çivinin yeniden yerleştirilmesi işlemidir **(122)**. Oyma işlemi periosteal kan akımını arttırarak ve yeni kemik oluşumunu uyarak biyoloji üzerinde olumlu etkilerde bulunurken, daha geniş çaplı çivi uygulanması da kortikal teması arttırarak mekanik denge üzerine olumlu etkiler oluşturur **(123)**. Ayrıca oyma işlemi esnasında oluşan ve içinde osteoblastları ve kök hücreleri barındıran debrislere kemik grefti etkisiyle kaynamama bölgesinde medüller iyileşmeye pozitif etkilerinin

olduğu literatürde gösterilmiştir (124). Hem biyoloji hemde mekanik üzerine olumlu etkileri nedeniyle kanal içi çiviler hem atrofik hem de hipertrofik kaynamamalarda kullanılabilirler (125). Ancak kanal içi çivilemenin kortikal çapın % 30-50'sine ulaşan kemik kayıplarında ve parçalı kırıklar sonucu oluşan kaynamamalarda kullanılması çok uygun değildir (126).

Eksternal tespit ile tedavide ise sıklıkla tercih edilen yöntem ilizarov'dur. Anafikir olarak distraksiyonun dokulardaki canlandırıcı ve gençleştirici etkisine dayanır. Yöntem batıya geldikten sonra hidroksiapatit kaplı yarım çiviler, karbonfiber halkalar ve Stewart Gough menteşeleri gibi teknolojik ilerlemeler kaydetse de temel felsefesi değişmemiştir. İlizarov yöntemi hem hipertrofik hem de atrofik kaynamamalarda uygulanabilir. Hipertrofik kaynamamalarda distraksiyon ve stabilite artışı ile kompresyona kıyasla daha çabuk kaynama elde etmek aynı zamanda kısalık ve deformiteleri de düzeltilebilmek mümkündür. Kırık uçlarının sklerotik olduğu durumlarda distraksiyona başlamadan önce bir süre kompresyon uygulanması önerilmektedir (127).

Kaynamama olgularında tek tek gereç ya da method mevcut değildir. Kırık kaynamasında olumlu sonuçlar elde etmek için cerrahın iyi planlama yaparak nedene yönelik teknikler geliştirmesi gerekmektedir.

2.13. Covid-19

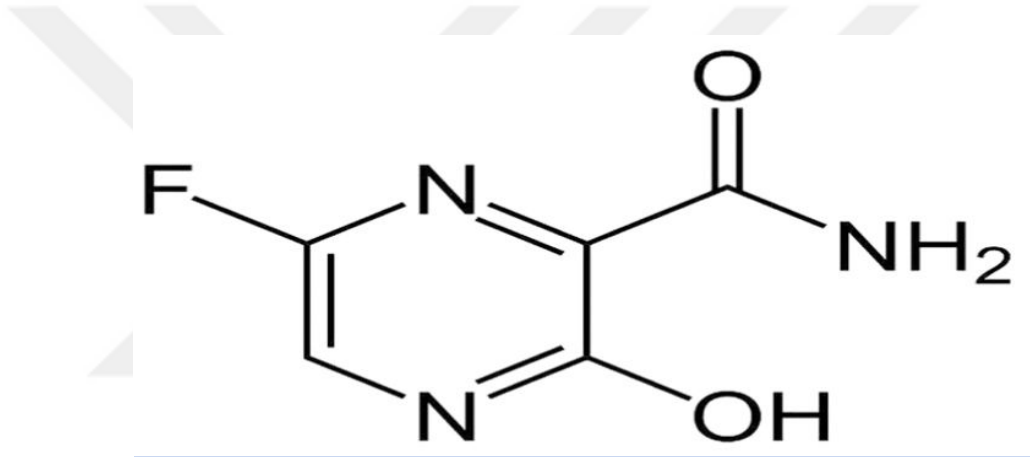
Yeni bir koronavirüs, SARS-CoV-2, Aralık 2019'da Çin'in Vuhan kentinde ortaya çıktı ve çok hızlı bir şekilde yayılarak dünyada pandemiye yol açtı. Patojen, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından resmi olarak koronavirüs hastalığı-19 (COVID-19) olarak adlandırılan yeni koronavirüs olarak doğrulandı. Böylece salgını kontrol altına almak için yoğun çalışmaların devam ettiğini söylemek mümkündür (128).

Şu an için dünyada COVID-19 için spesifik bir antiviral tedavi yoktur. Bu yüzden diğer viral enfeksiyonlar için onaylanmış veya geliştirilmekte olan ajanları kullanmak, bu yeni viral enfeksiyon için tedavi bulmanın potansiyel olarak en hızlı yollarından biridir. Böylece COVID-19 için kesin tedaviler tanımlanmaya devam

ettiğinden, mevcut antiviral ajanların ve Hidroksiklorokin gibi diğer ajanların COVID-19'a karşı kullanımına yönelik önemli ilgi halen mevcuttur (128,129).

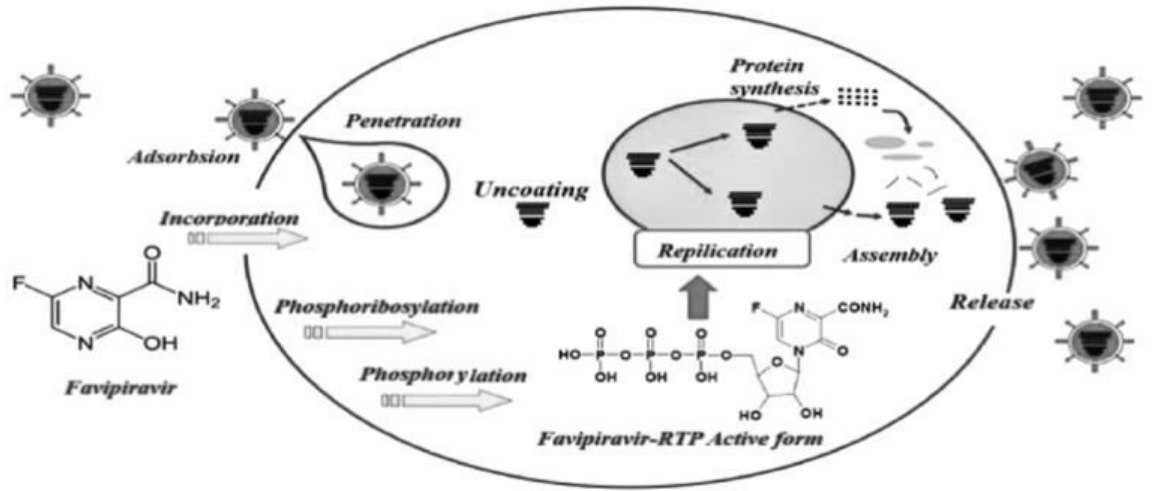
2.14. Favipiravir

Favipiravir, COVID-19 ile mücadelede potansiyel olarak kullanılacak ilaçlardan biridir. Bu ilaç, çeşitli RNA virüslerine (İnfluenza virüsü, rinovirüs ve respiratuar sinsityal virüsü gibi) karşı antiviral aktivite gösteren bir pirazin karboksiamid türevidir (130). T-705 olarak da bilinen Favipiravir, 2002 yılında influenza virüsü replikasyonunun bir inhibitörü olarak Japonya'da geliştirildi (130).



Şekil 7. Favipiravir'in kimyasal yapısı(T-705) (131).

Favipiravir, bir tür RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) inhibitörüdür. Konak enzimler tarafından T-705-ribofuranosil 5'-trifosfata dönüştürülür. Viral RNA'ya bağlı RNA polimeraz'ı seçici olarak inhibe eden bir nükleotid analogu olarak görev yapar ve böylece virüsün replikasyonunu engeller (130). Bu nedenle favipiravir, bir RNA virüsü olan SARS-CoV-2 üzerinde potansiyel antiviral etkiye sahip olabilir (132).



Şekil 8. Favipiravir'in aktivasyon mekanizmasının şematik gösterimi (130).

2.15. Hidroksiklorokin

Hidroksiklorokin (HCQ); Klorokin'in analogudur. Bu ilaçlar başlangıçta sıtmaya karşı olarak üretilmişlerdir, ancak aynı zamanda romatoid artrit ve lupus gibi diğer romatizmal hastalıklar için de kullanılabilirler. Hidroksiklorokin'in klinik güvenlik profili, klorokininkinden (uzun süreli kullanım sırasında) daha iyidir ve daha yüksek günlük doza izin verir (133). Hidroksiklorokin'in SARS-CoV-2'yi in vitro olarak inhibe ettiği çalışmalarda gösterilmiştir. Hidroksiklorokin, Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2'nin glikolizasyonuna müdahale edebilir ve böylece konak hücreler üzerindeki anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 ile SARS-CoV-2 Spike proteini arasındaki bağlanma etkinliğini azaltabilir (134,135).

COVID-19 hastalarında önde gelen ölüm nedenlerinden biri sitokin fırtınası adı verilen durumdur. Bazı hastalar hastalığın şiddetli semptomlarını gösterir. Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ve akut akciğer hasarı (ALI), sitokin fırtınasının ana patolojik komplikasyonları olarak COVID-19 hastalarında ortaya çıkan durumlardır. Hidroksiklorokin (HCQ), T hücresi aktivasyonunun ve farklılaşmasının azaltılmasının yanı sıra T hücreleri ve B hücreleri tarafından sitokin üretiminin azalması dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla hastalığın akut solunum sıkıntısı sendromuna ilerlemesinden sorumlu "sitokin fırtınasının" baskılanmasına önemli ölçüde katkıda bulunur (136). Haziran 2020'de ABD'de bu ilaçların potansiyel yan

etkilerinin, faydasından daha ciddi olduğu göz önünde bulundurularak acil kullanım onayı iptal edilmiştir (137).

3.MATERYAL VE METOD

3.1 Çalışma Planı

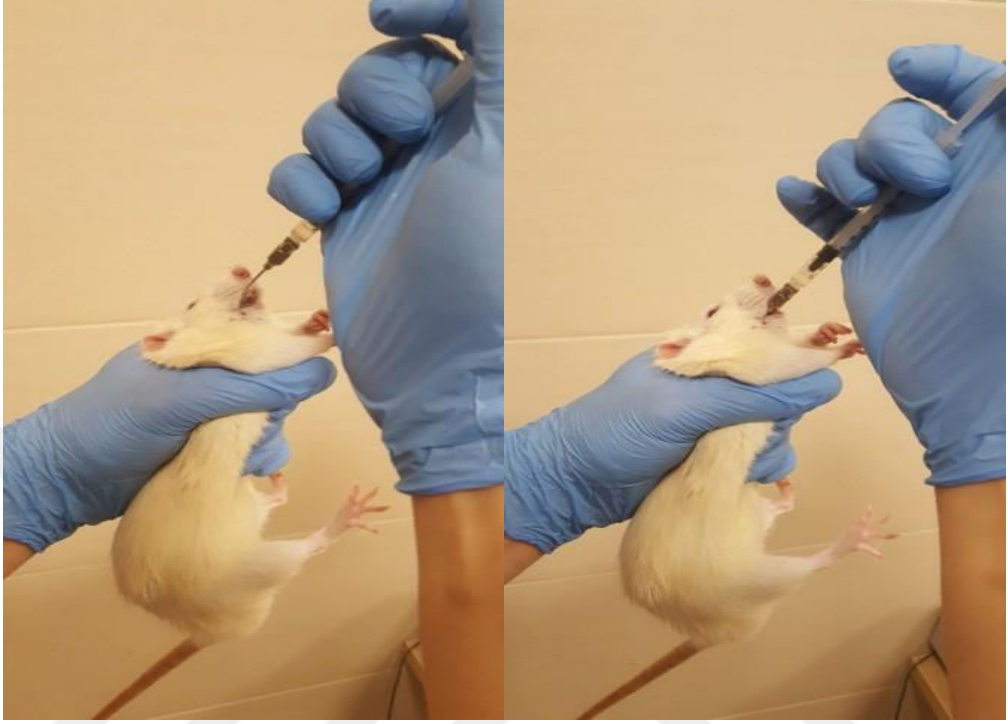
Bu çalışmada 48 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan (Düzce Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi) kullanılmıştır. Çalışma öncesi Düzce Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan (2021/9/4) gerekli izinler alındı. Çalışma Düzce Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapıldı. Bu çalışmada laboratuvar hayvan bakım ilkeleri izlendi.

Çalışmaya dahil edilen sıçanların ortalama yaşı 2,5 ay (2–3 ay) ve ortalama ağırlıkları 250 gram (200–300 gram) idi. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrılıp, her bir grupta 15 ve 30. gün sakrifiye edilmek üzere her bir kafeste 6 sıçan olacak şekilde laboratuvar ortamında preoperatif 1 hafta süre ile izlendiler. Çalışma süresince sıçanlara limitsiz şekilde musluk suyu (ad libitum) ve standart kemirgen yemi verildi. Hayvanlar kontrollü sıcaklık (23-25 ° C) ve 12:12 saatlik açık / karanlık döngüsü olan bir odada kafeste olacak şekilde takip edildiler. Müdahale öncesi, müdahale sırasında ve müdahale sonrasında hiç bir gruba antibiyotik profilaksisi uygulanmadı. Çalışma süresince ölen hayvan olmadı. Takiplerde hiçbir sıçanda yara yeri enfeksiyonu izlenmedi.

Operasyon sonrası 48 adet sıçan, Kontrol (grup 1, n:12), Favipiravir (grup 2, n:12) Hidroksiklorokin (grup 3, n:12) ve Favipavir+Hidroksiklorokin (grup 4, n:12) uygulanan olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

2. Gruba 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır (11,12). 3. Gruba 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır (13). 4. Gruba 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla; 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg

sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır (11,12,13) (Şekil 9).



Şekil 9. Kullanılan ilaçların gavaj yoluyla uygulanmasına ait görüntü.

Her bir grup kendi arasında 15. ve 30. gün ötenazi uygulanmak üzere 6'şar adet sıçan olacak şekilde ikiye ayrıldı;

A1.Kontrol grup 1a (n:6): Herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. 2 haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

A2.Kontrol grup 1b (n:6): Herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. 4 hafta sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

B1. Favipiravir grup 2a (n:6): 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 2 haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

B2. Favipiravir grup 2b (n:6): 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 4. haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötanazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

C1. Hidroksilorokin grup 3a (n:6): 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 2. haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötanazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

C2. Hidroksilorokin grup 3b (n:6): 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 4. haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötanazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

D1. Favipavir+Hidroksilorokin grup 4a (n:6): 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla; 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 2. haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötanazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

D2. Favipavir+Hidroksilorokin grup 4b (n:6): 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla; 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla uygulanmıştır. 4. haftanın sonunda anestezi altında servikal dislokasyon ile ötanazi uygulanarak radyolojik ve histolojik açıdan değerlendirilmiştir.

Çalışmada kullanılacak deney hayvanlarının gruplara göre dağılımı Tablo 2' de gösterilmiştir.

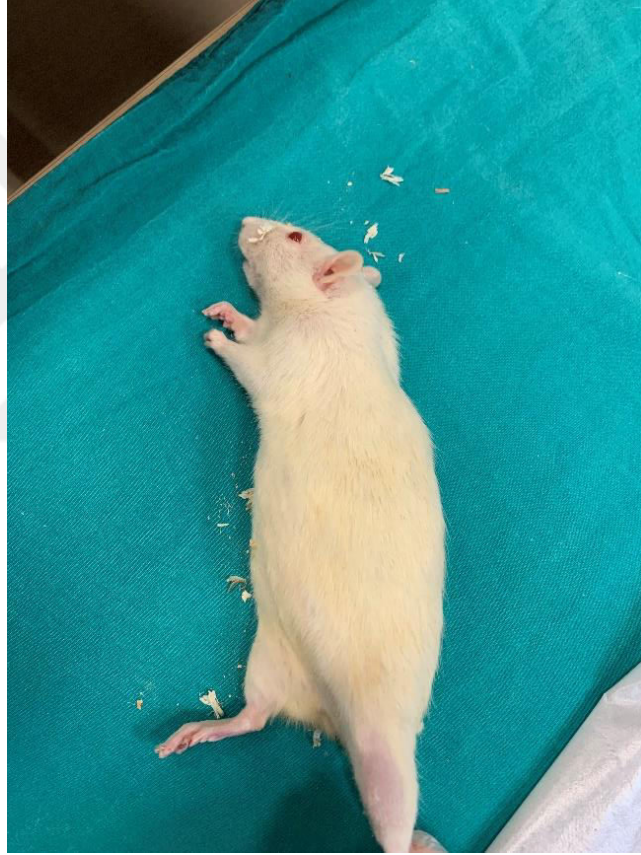
Tablo 2. Çalışmada kullanılacak deney hayvanlarının gruplara göre dağılımı

Gruplar	Sıçan sayısı	Tedavi süresi (gün)	Tedavi
Grup 1 (kontrol)	6	15	Yok
N:12	6	30	Yok
Grup 2 (Favipiravir) N:12	6	15	1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam
	6	30	30 1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam
Grup 3 (Hidroksiklorokin) N:12	6	15	Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam
	6	30	30 . Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam
Grup 4 (Favipiravir+Hidroksiklorokin) N:12	6	15	1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla; 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam
	6	30	1. Gün Favipiravir ~23 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere; 2-5. Günler ise 8.5 mg / kg sabah ve akşam olmak üzere gavaj yoluyla; 1. Gün Hidroksiklorokin 10 mg / kg sabah ve akşam; 2-5. Günler ise 3 mg / kg sabah ve akşam

Sıçanlara ötenazi uygulandıktan sonra sağ femurları kalça ve diz eklemlerinden dezartiküle edildi. Femur üzerindeki yumuşak dokular kallus dokusuna zarar verilmeden nazıkçe kemikten sıyrıldı. Tüm femurlar radyolojik ve histolojik olarak incelendi.

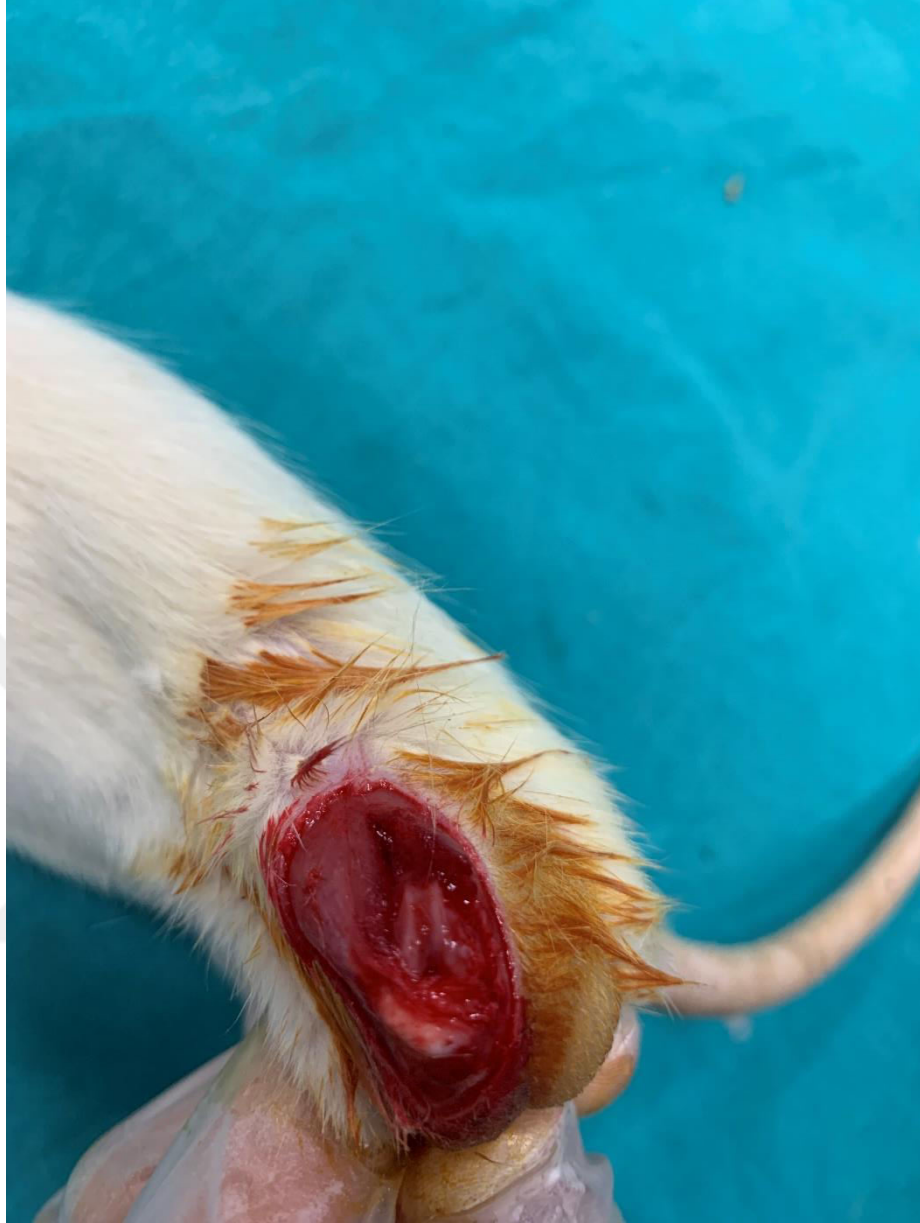
3.2.Cerrahi Teknik

Gerekli takip ve hazırlıkları yapılan sıçanlar müdahale odasına alındı. Her bir sıçanın ağırlığı elektronik tartı ile tartılarak anestezi ilaç dozu hesaplandı. Anestezi olarak Ketamin (Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) 50 mg/kg ve Xylazine (Bayer, İstanbul, Türkiye) 10 mg/kg kombinasyonu kullanıldı. Anestezi intraperitoneal olarak sol kasık bölgesinden uygulandı. Sıçanların sağ diz bölgeleri traş edildikten sonra povidon iyodür (Batticon®, ADEKA, Türkiye) ile boyandı (Şekil 10).



Şekil10. Cerrahi öncesi operasyon bölgesinin traş edilerek hazırlanması

Anteromedial olarak 1.5 cm'lik longitudinal insizyon ile cilt geçildi. Patella medialinden eklem kapsülü açıldı. Patella laterale devrilerek diz fleksiyona alındı. Femur alt uç interkondiller bölgeye ulaşıldı (Şekil 11).



Şekil 11. Diz anteromedial longitudinal insizyon sonrası patella laterale devrilerek femur interkondiller bölgenin ortaya konulması

Femur kondilleri arasından 1.2 mm'lik Kirschner teli (Tıpmad®, İzmir, Türkiye) femur proksimal bölgeden çıkacak şekilde yerleştirildi. Kanal içinde kalan tel kondilden dışarı taşmayacak şekilde femur kondilleri hizasından kesildi. Periostu eksize edilen grupta bu işleme ek olarak femur lateral longitudinal insizyonla femur ortaya kondu ve periostu bistüri yardımıyla eksize edildi (Şekil 12 A, B, C).



Şekil 12. Favipiravir uygulanan gruptaki cerrahi müdahale

Diz ekstansiyona alınarak patella redükte edildi. Kapsül 3/0 vicryl ile suture edildi. Cilt 2/0 ipek ile kapatıldı. Takiben yara yeri povidon iodyür ile silinerek sıçan ameliyat masasından alındı **(84)**. Buna göre hayvanın femuru özel olarak yaptırılan ve taban kısmı, hayvanın yerleştirildiği kısım, giyotin kısmı ve ağırlık kısmı olmak üzere dört parçadan oluşan künt giyotin sistemine yerleştirildi. Giyotin sisteminin ayar vidaları künt giyotininde sadece 1,5 mm hareket etmesine izin verecek şekilde ayarlandı. 500 gramlık ağırlık 35 cm yükseklikten serbest düşmeye bırakılarak kapalı kırık oluşturuldu (Şekil 13).



Şekil 13. Kırık modeli oluşturmak için kullanılan gyotin

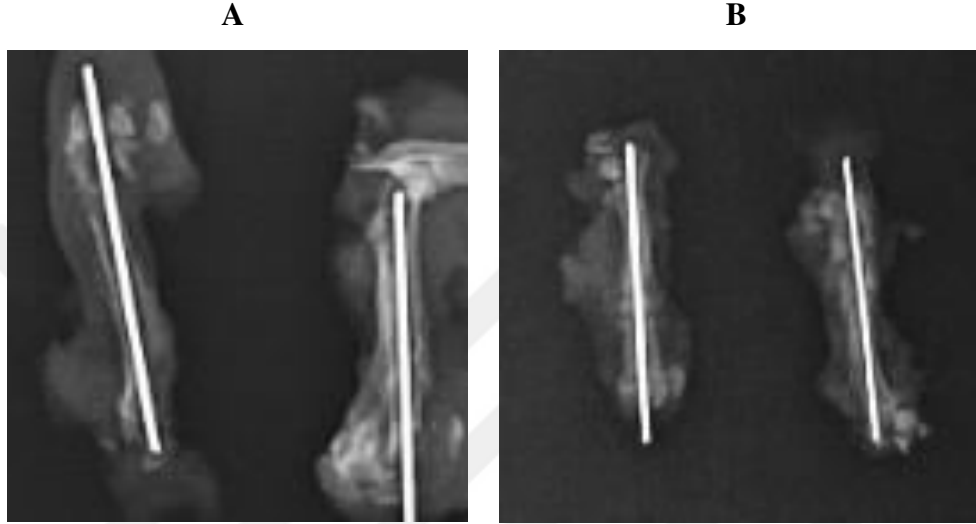
Klinik muayeneyi takiben oluşturulan kırık hemen direk radyografide radyolojik olarak görüntülendi (Şekil 14).



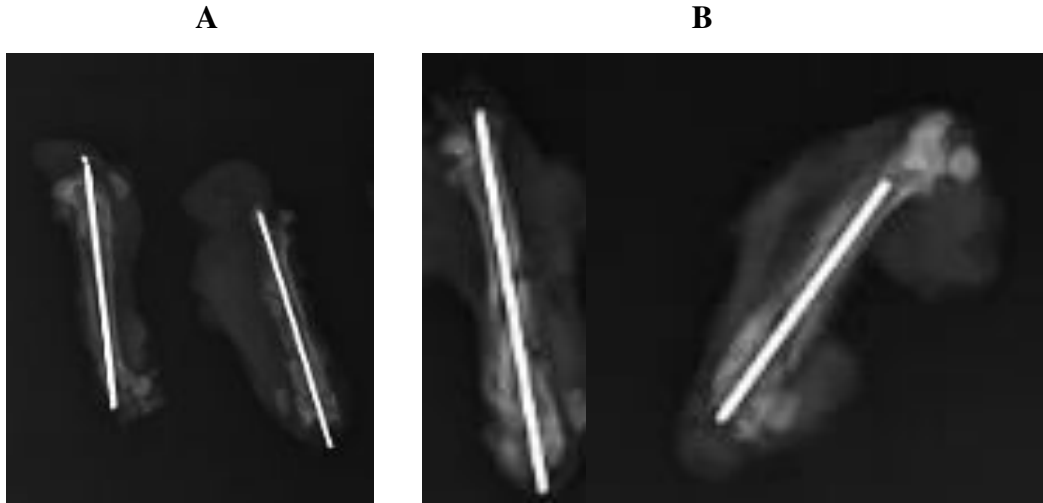
Şekil 14. Cerrahi sonrası 0. günde kontrol radyografisi

3.3. Radyolojik İnceleme

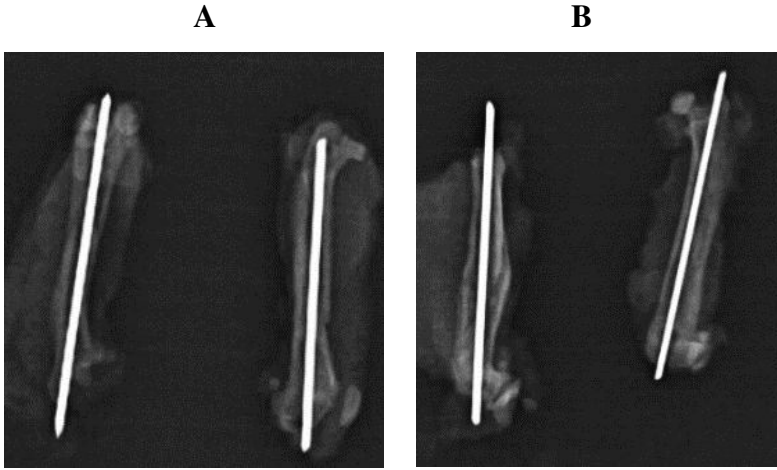
Sıçanlardan sakrifiye edilen tüm işlem uygulanmış femurlara 15 ve 30. gün ön arka ve lateral femur grafileri çekildi (Şekil 15 A, B) (Şekil 16 A, B) (Şekil 17 A, B) (Şekil 18 A, B).



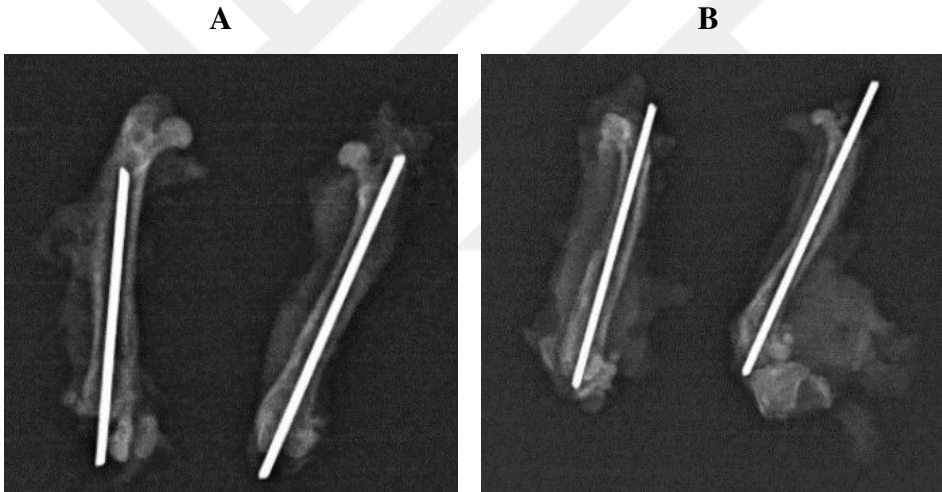
Şekil 15. Cerrahi sonrası 15. gün kontrol radyografileri, **A.** Favipiravir grubu, **B.** Hidroksiklorokin grubu.



Şekil 16. Cerrahi sonrası 15. gün kontrol radyografileri, **A.** Kontrol grubu, **B.** Favi+Hidroksi grubu.



Şekil 17. Cerrahi sonrası 30. gün kontrol radyografileri, **A.** Favipiravir grubu, **B.** Hidroksiklorokin grubu.



Şekil 18. Cerrahi sonrası 30. gün kontrol radyografileri, **A.** Kontrol grubu, **B.** Favi+Hidroksi grubu.

Radyolojik skorlamada Lane ve Sandhu'nun derecelendirme sistemi kullanıldı (85) (Tablo 3). Skorum, çalışmadan bağımsız iki ayrı ortopedist tarafından değerlendirildi.

Tablo 3.Radyolojik skorlamada Lane ve Sandhu'nun derecelendirme sistemi

Skor	Radyolojik bulgular
0	İyileşme yok
1	Kallus formasyonu
2	Kemiksel kaynama başlangıcı
3	Kırık hattının kaybolmaya başlaması
4	Tam kemiksel kaynama

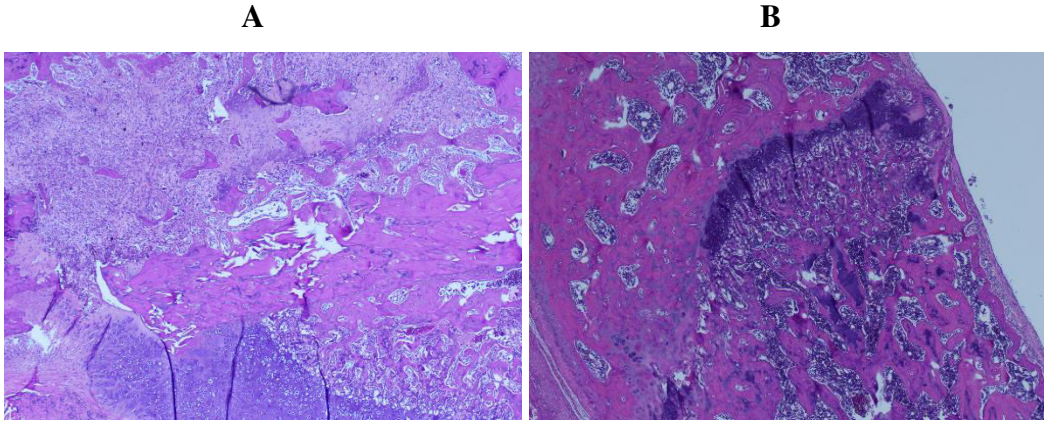
3.4. Histopatolojik inceleme

Tüm kırık femurları örten yumuşak dokular, periostu çıkarmadan sıyrıldı ve K teli kallus dokusuna zarar vermeden dikkatle çıkarıldı. % 7 lik formik asitte dekalsifiye etmeden önce femurlar % 4 paraformaldehitte 4°C de 48 saat fikse edildi.

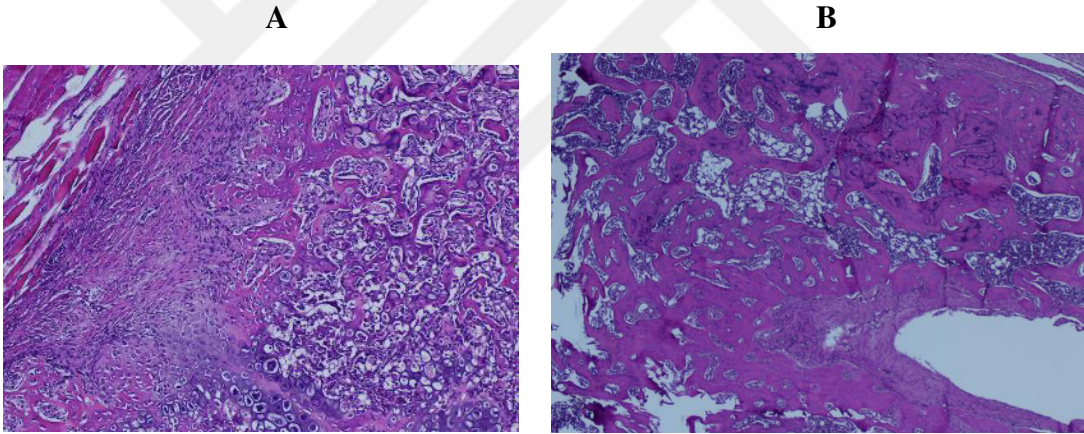
Dekalsifikasyon işleminden sonra örnekler parafin blok içine gömüldü ve 7 µm kesit alındı. Hematoksilen ve eozin boyası ile boyandı. Kırık iyileşmesi histopatolojik olarak Hue ve arkadaşları'nın önerdiği skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi (86) (Tablo 4) (Şekil17 A, B) (Şekil18 A, B) (Şekil19 A, B) (Şekil 20 A, B) (Şekil 21 A, B) (Şekil 22 A, B).

Tablo 4. Hue ve arkadaşlarının kırık iyileşmesi histopatolojik skorlama sistemi

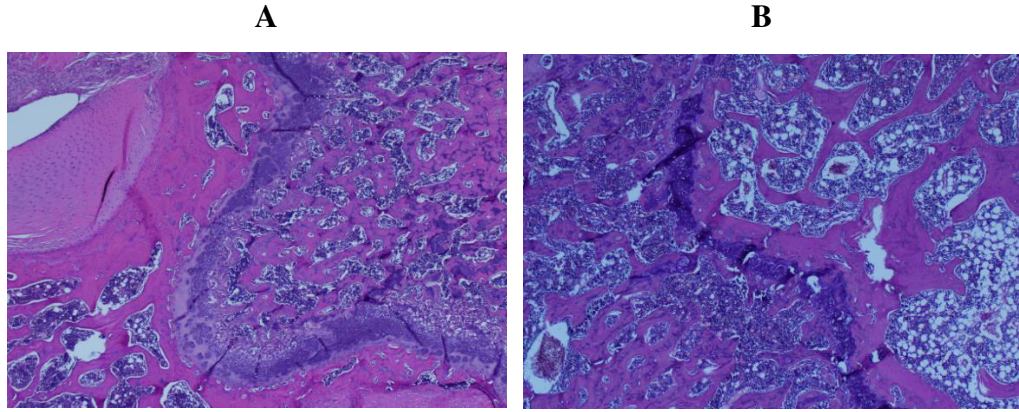
Skor	Kırık bölgesi histopatolojik bulguları
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz doku ve az oranda kıkırdak doku
3	Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak doku
4	Kıkırdak doku
5	Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür (woven) kemik
6	Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik
7	Ağırlıklı olarak immatür kemik ve az oranda kıkırdak
8	Tamamen İmmatür (woven) kemik
9	İmmatür kemik ve az miktarda matür kemik
10	Matür (lamellar) kemik



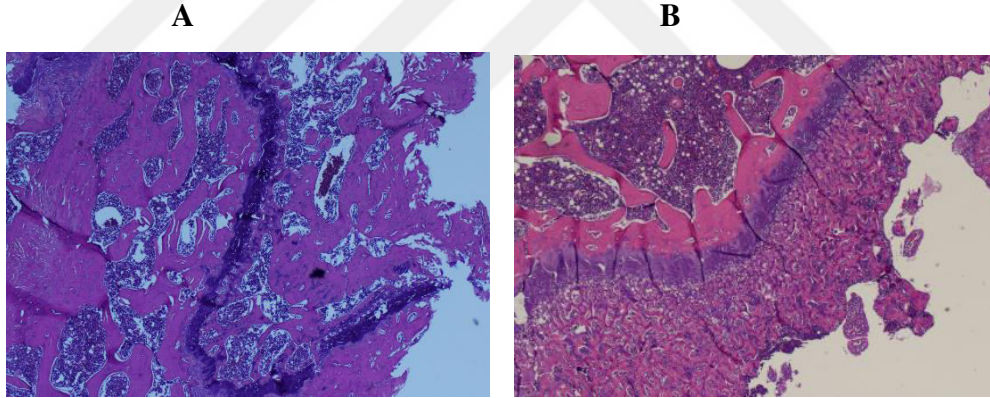
Şekil 19. A. Favipiravir grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. fibröz doku ve kıkırdak doku görülmekte (skor 3)(HE,x100), **B.** Favipiravir grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Yoğun olarak immatür kemik görülmekte (skor 8)(HE,x4)



Şekil 20. A. Hidroksiklorokin grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Tamamen İmmatür kemik görülmekte (skor 8)(HE,x4), **B.** Hidroksiklorokin grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Matür (lamellar) kemik görülmekte (skor 10)(HE,x4)



Şekil 21. A. Kontrol grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür (woven) kemik görülmekte (skor 5)(HE,x4), **B.** Kontrol grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik görülmekte (skor 6)(HE,x4)



Şekil 22. A. Favipiravir+Hidroksiklorokin grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden mikroskopik görüntü. Aynı oranda kıkırdak ve immatür kemik görülmekte (skor 6)(HE,x4), **B.** Favipiravir+Hidroksikloroki grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik görülmekte (skor 6)(HE,x4)

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (Utah, USA) paket programı ile yapılmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, median, interquartil range) yanı sıra Shapiro–Wilk normallik testi ile değişkenlerin dağılımına bakılmış, normal dağılım göstermeyen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi, alt grup karşılaştırmalarında Dunn’s çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

Tablo 5. Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir +Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde histolojik olarak istatistiksel değerlendirilmesi.

		Favipiravir	Hidroksiklorokin	Favi+Hidroksi	Kontrol	p†
		Grubu n:6	Grubu n:6	Grubu n:6	Grubu n:6	
Histolojik	15.Gün	4,33±0,52	7,00±0,89	4,17±0,75	6,00±1,52	0,0001
	30.Gün	7,83±1,47	7,33±2,81	8,17±1,17	7,67±1,51	0,887
	p*	0,0001	0,787	0,0001	0,088	

Tek Yönlü Varyans Analizi *Bağımsız t testi

Tablo 6. Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir +Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde histolojik olarak istatistiksel değerlendirilmesi.

Tukey Çoklu Karşılaştırma testi	p
Favipiravir Grubu / Hidroksiklorokin Grubu	0,001
Favipiravir Grubu / Favi+Hidroksi Grubu	0,991
Favipiravir Grubu /Kontrol Grubu	0,043
Hidroksiklorokin Grubu / Favi+Hidroksi Grubu	0,0001
Hidroksiklorokin Grubu /Kontrol Grubu	0,338
Favi+Hidroksi Grubu /Kontrol Grubu	0,023

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 15 .gün histolojik skrolama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$). Hidroksiklorokin grubunun; favipiravir ve Favi+Hidroksi gruplarının 15.Gün histolojik skrolama ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı

derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,0001$), Kontrol grubunun; Favipiravir ve Favi+Hidroksi gruplarının 15.Gün histolojik skorum ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,043$, $p=0,023$), Diğer grupların 15. gün histolojik skorum ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

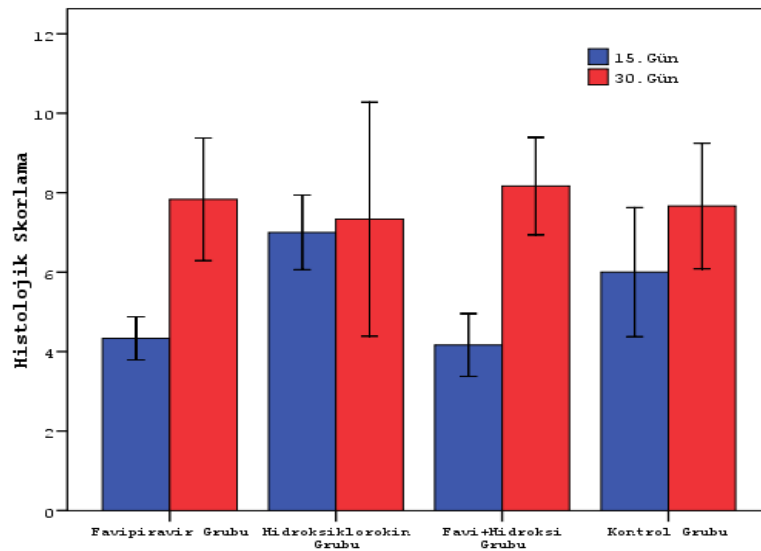
Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 30. gün histolojik skorum ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,887$).

Favipiravir grubunun 30. gün histolojik skorum ortalamaları 15. gün histolojik skorum ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,0001$).

Hidroksiklorokin grubunun 15. gün ve 30. gün histolojik skorum ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,787$).

Favi+Hidroksi grubunun 30. gün histolojik skorum ortalamaları 15. gün histolojik skorum ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,0001$).

Kontrol grubunun 15 ve 30. gün histolojik skorum ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,088$).



Şekil 23. Grupların 15 ve 30. gün histopatolojik olarak alınan değerlerin karşılaştırılması

Tablo 7. Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir +Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde radyolojik olarak istatistiksel değerlendirilmesi.

Radyolojik Skorlama		Favipiravir Grubu		Hidroksiklorokin Grubu		Favi+Hidroksi Grubu		Kontrol Grubu		p+
15.Gün	Kallus Formasyonu	5	83,33%	2	33,33%	3	50,00%	4	66,67%	0,330
	Kemiksel Kaynama Başlangıcı	1	16,67%	4	66,67%	3	50,00%	2	33,33%	
30.Gün	İyileşme Yok	0	0,00%	1	16,67%	0	0,00%	0	0,00%	0,618
	Kallus Formasyonu	0	0,00%	1	16,67%	0	0,00%	0	0,00%	
	Kırık Hattının Kaybolmaya Başlaması	4	66,67%	2	33,33%	4	66,67%	3	50,00%	
	Tam Kemiksel Kaynama	2	33,33%	2	33,33%	2	33,33%	3	50,00%	
p+		0,007		0,055		0,007		0,273		

Ki Kare testi

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 15. gün radyolojik skorlama dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,330$).

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 30. gün radyolojik skorlama dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,618$).

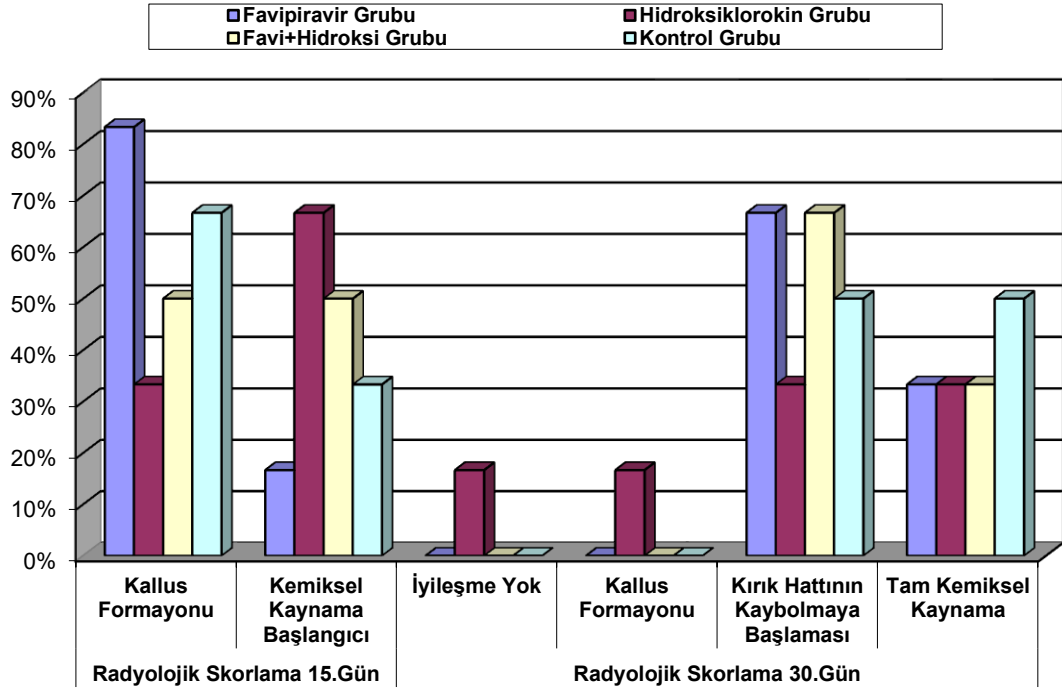
Favipiravir grubunun 30. gün radyolojik skorlama kırık hattının kaybolmaya başlaması ve tam kemiksel kaynama dağılımları 15. gün radyolojik skorlama dağılımlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,007$).

Hidroksiklorokin grubunun 15. gün ve 30. gün radyolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,055$).

Favi+Hidroksi grubunun 30. gün radyolojik skorlama kırık hattının kaybolmaya başlaması ve tam kemiksel kaynama dağılımları 15. gün radyolojik

skorlama dağılımlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,007).

Kontrol grubunun 15. gün ve 30. gün radyolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,273).



Şekil 24. Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir+Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde radyolojik değerlerinin karşılaştırılması

5.TARTIŞMA

Kırık iyileşmesi ortopedi ve travmatolojinin en sık tartışılan konularından biridir. Günümüzde halen yoğun araştırmaların yapıldığı bir alandır. Kemikte kırık kaynaklı iyileşmenin biyolojisi, hızla gelişen bir bilim olduğu gözardı edilmemelidir (139,140,141). Farelerle yapılan deneylerdeki gelişmeler, doku ve hücreye özgü iskelet yenilenmesi araştırmalarını mümkün kılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, kondrositlerin kemiğin iyileşmesi sırasında osteoblastlara dönüştüğü

anlaşılmıştır ve yalnızca birkaç yıl önce, yeni ufuklar açan yayınlar, rejenerasyon sırasında kemik oluşturan hücelere katkıda bulunan en önemli dokuların periosteum ve endosteum olduğunu kesin olarak bildirmiştir **(142)**.

Kemik iyileşmesi süreci, iyileşmenin ilerlemesi için gerekli olan çeşitli hücrelerel bileşenlere sahiptir **(143)**. Enflamatuvar hücreler (T hücreleri, B hücreleri, mast hücreleri, makrofajlar, eozinofiller ve nötrofiller), kırık ortamının ilk hücrelerel bileşenleridir. Bunu mezenkimal progenitör hücreler, endotelial hücreler, kondrositler, osteoblastlar ve son olarak osteoklastlar izler. Kırık iyileşme süreci, ayrı ayrı fazlarda olduğu kolaylıkla düşünülebilir. Bununla birlikte, iyileşmenin zamansal bölümlerinin önemli ölçüde örtüştüğünü ve ilişkili hücre tiplerinin bir arada var olduğunu bilmek önemlidir. Bu dikkate alınması gereken önemli bir kavramdır, çünkü hücreden hücreye sinyalleşme, hücre türleri arasında şüphesiz önemlidir. Örneğin, hem kondrositler hem de osteoblastlar, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üreterek kan damarı büyümesini destekleyebilir **(143)**. Tersine, endotel hücreleri, kemik morfogenetik proteini (BMP) üretimini yoluyla kemik oluşumunu destekler ve yeni çalışmalar, damar sisteminin kırıkta bir kalıp oluşumuna rehberlik ettiğini ve hipertrofik kondrositlerin osteoblastlara dönüşümünü uyardığını öne sürer **(144)**.

Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu yeni koronavirüs hastalığı 2019'un (COVID-19) küresel pandemisi Aralık 2019'da Çin'in Vuhan kentinde başladı ve o zamandan beri dünya çapında yayıldı. 15 Nisan 2020 itibariyle, 200'den fazla ülkede milyonlarca vaka ve ölüm gerçekleşti. Bu yeni Betacoronavirus, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü (SARS-CoV) ve Orta Doğu solunum sendromu koronavirüsü (MERS-CoV) ile benzerdir; Genetik yakınlığına dayanarak, muhtemelen bilinmeyen, memeli aracılığıyla insanlara yayılan yarası kaynaklı koronavirüslerden kaynaklanmıştır. Şu anda, herhangi bir potansiyel tedavinin COVID-19'dan şüphelenilen veya doğrulanmış hastalarda sonuçları iyileştirdiğine dair randomize klinik çalışmalarda hiçbir kanıt yoktur. 300'den fazla aktif klinik tedavi çalışması devam etmektedir **(145)**.

Şu an için dünyada COVID-19 için spesifik bir antiviral tedavi bulunmamakla birlikte diğer viral enfeksiyonlar için onaylanmış veya geliştirilmekte olan ajanları kullanmak, bu yeni viral enfeksiyon için tedavi bulmanın potansiyel

olarak en hızlı yollarından biridir. Böylece COVID-19 için kesin tedaviler tanımlanmaya devam ettiğinden, mevcut antiviral ajanların ve Hidroksiklorokin gibi diğer ajanların COVID-19'a karşı kullanımına yönelik önemli ilgi halen mevcuttur (128,129).

Biz bu çalışmada COVID-19 tedavisinde kullanılabilen favipiravir ve hidroksiklorokinin erkek sıçanlarda kırık kaynamasına olan etkisini radyolojik ve histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık. Literatür incelendiğinde sözü edilen ilaçların kırık kaynamasına etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır ve çalışmamız literatürde bu konuda yapılan ilk çalışmadır.

Yaptığımız çalışmada, ortalama yaşı 2,5 ay (2–3 ay) ve ortalama ağırlıkları 250 gram (200–300 gram) olan 48 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan üzerinde kapalı kırık oluşturularak Favipiravir ve Hidroksiklorokin kırık iyileşmesi üzerine etkisi incelendi. Sıçanlara cerrahi öncesi ve sonrası antibiyotik profilaksisi verilmedi. Operasyon sonrası 48 adet sıçan, ve rastgele kontrol (grup 1), Favipiravir uygulanan (grup 2), Hidroksiklorokin (grup 3) ve Favipavir+Hidroksiklorokin uygulanan (grup 4) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Her bir grupta kendi arasında 15. gün ve 30. gün 6'ar sıçan olmak üzere ötenazi uygulandı. Radyolojik skorlamada Lane ve Sandhu'nun derecelendirme sistemi ve histopatolojik olarak Hue ve arkadaşları'nın önerdiği skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi.

SARS-CoV2'nin tedavisinde kullanılan ilaçların etkileri ve yan etkilerinden bahsetmeden önce virüsün bazı organ ve sistemler üzerindeki etkilerinden bahsetmek gerekir. Zhang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, SARS-CoV-2'nin kan yoluyla akciğerler dışındaki diğer organlara yayılabileceği ve sonucunda SARS-CoV-2'nin patojenik özellikleri, bulaşma yolları ve enfeksiyon mekanizmaları ile; sindirim sistemi, ürogenital sistem, merkezi sinir sistemi ve dolaşım sistemi üzerindeki olumsuz etkileri olduğu gösterilmiş olup bununla birlikte bu virüsün iskelet sistemi üzerine etkisinde halen yeterli bir çalışma bulunmamaktadır (146).

Bir başka çalışmada Disser ve arkadaşları COVID-19 hastalarındaki erken bulguların, bu hastalıkla ilişkili kas-iskelet sistemi sekellerini tanımlanmıştır. 2002-2004 pandemisi sırasında SARS hastalarından elde edilen epidemiyolojik veriler; SARS-CoV-1 ve COVID-19 arasındaki genetik ve patolojik benzerliklere dayanarak sarkopeni ve osteoporoz sık bildirilmiştir. Böylece orta ve şiddetli

COVID-19 hastalarında kısa ve uzun vadeli olarak kas-iskelet sistemi komplikasyonlarını tahmin etmenin uygun olduğunu düşünülmüştür. Ayrıca bu çalışmada hem SARS hem de COVID-19'un hastalarda; damar iflamasyonunu, lökosit agregasyonunu ve pıhtılaşmayı artırdığına dayanarak büyük damaralarda pıhtı oluşturup ve böylece kemiğin mikrovasküler kan akışını bozup osteonekroz gelişimine katkı sağladığı düşünülmüştür (147).

Pandemi döneminde yapılan bir başka çalışmada ise Egol ve arkadaşları covid-19 pandemisi sırasında kalça kırığının mortalite ve komplikasyonlarını 115 hastada retrospektif, 138 hastada ise prospektif olarak değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada doğrulanmış veya şüphelenilen COVID-19 enfeksiyonu olanlarda kalça kırığı sonrası ölüm riskinin önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır. Bununla birlikte, COVID-19 pandemisi sırasında kalça kırığı nedeniyle tedavi edilen Covid-19 pozitif olan hastalar negatif olan hastalarla kıyaslandığında covid-19 pozitif olan hastaların genel olarak majör postoperatif komplikasyon riskinin fazla olduğu gözlemlenmiştir (148).

Çalışmamızın asıl konusu olan ve COVID-19 tedavisinde kullanılabilen favipiravir ve hidroksiklorokin kırık kaynaması üzerindeki etkileri ile ilgili literatürde henüz çalışma bulunmamaktadır.

Favipiravir; viral replikasyonu bloke eden bir ribonükleik asit (RNA) polimeraz inhibitörü olup, birçok RNA virüsüne etkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle COVID-19 ile mücadelede potansiyel olarak kullanılabilecek ilaçlardan biri olduğu düşünülmüştür (130). Favipiravir, sınırlı verileri doğrultusunda düşük yan etki profili sergilemekte olup, şimdiye kadar bildirilen yan etkiler arasında bulantı, kusma, diyare,döküntü, göğüste sıkışma, çarpıntı, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve hiperürisemi bulunmaktadır (149). Doi ve ark.'nın yaptığı ve 82 COVID'li hastanın dahil edildiği bir başka çalışmada ise favipiravir uygulanan hastalarda bildirilen toplam 144 olumsuz yan etkiden en yaygın olarak hiperürisemi (%84,1) gösterilmiş olup ardından serum trigliserid düzeylerinde artma (%11,0) ve serum ALT düzeylerinde artış (%8,5) olarak gösterilmiştir (150). Literatürde favipiravirin kırık iyileşmesi üzerine etkisiyle ilgili bir çalışma bulunamamış ve şu ana kadar bildirilen

yan etkileri arasında da kırık iyileşmesine olumlu ya da olumsuz etkisine dair bir bilgiye rastlanmamıştır.

Çalışmamızda kullandığımız bir diğer ajan olan hidroksiklorokin 50 yıldan beri sıtma tedavisinde kullanılan aminokinolinlerdir. Antimalaryal etkilerinin yanında immunomodülatör etkileri de bulunması nedeniyle, SLE, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde de uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Her ikisi de immün aktivasyonda rolü olan belli hücresel fonksiyonları ve moleküler yolları, kısmen hücrelerin endozom/fogozomlarında birikip lokal pH'yı yükselterek inhibe edebilir. COVID-19 salgını başladığında hidroksiklorokin bu mekanizmalarla, hücre içine endozomla alınan COVID-19'a karşı etkili olabileceği düşünülmüştür. Ek olarak COVID-19 salgınının başlangıcında böbrek kaynaklı Vero E6 hücrelerinde yapılan in vitro çalışmalarda, klorokin ve hidroksiklorokin COVID-19'a karşı oldukça etkili olduğu da gösterilmiştir. Doku kültüründeki in vitro deneyler, hidroksiklorokin endozomal pH'ı artırabildiğini, virüs-hücre füzyonunu önleyebildiğini ve ACE2 reseptörünün glikozilasyonuna ve dolayısıyla SARS-CoV-2 S proteininin ACE2'ye bağlanmasına müdahale edebildiğini göstermiştir (151). Hidroksiklorokin ilaç etkileşim potansiyeli düşük, kısa süreli kullanım için ucuz ve güvenilir bir ilaç olarak görülmektedir. Hidroksiklorokin genellikle iyi tolere edilir, ancak kardiyomiopati ve iletim kusurları dahil yaşamı tehdit eden ciddi yan etkiler bildirilmiştir (153). Yan etkilerinin başında; gastrointestinal bozukluklar, kardiyotoksisite, hipoglisemi ve uzun dönem kullanımında retinopati ve miyopati gelmektedir (152). Favipiravirde olduğu gibi hidroksiklorokin de kırık kaynamasına olumlu ya da olumsuz bir etkisi açısından literatürde henüz yayın bulunmamaktadır.

Kırık iyileşmesi üzerine yapılan birçok araştırma olup giderek artmasına rağmen; tam anlamıyla anlaşılamayan kırık iyileşmesi mekanizması ve bu mekanizmada etkili olan olumlu ya da olumsuz faktörler hala merak uyandırmaktadır. Ortopedi ve travmatoloji alanında sıklıkla kullanılan ilaçların kırık iyileşmesi üzerine etkileri klinik ve hayvan deneylerinde önem taşımaktadır (154,155,156). Örneğin, Jeffcoach ve arkadaşlarının çalışmasında, uzun kemik kırıklarının iyileşmesinde komplikasyonlar; NSAID alan hastalarda kontrol grubuna göre iki ila üç kat daha fazla meydana gelmiştir (153). NSAİ ilaçlardan olan,

rofekoksib, selekoksib gibi siklooksijenaz 2 (COX-2) inhibitörleri son yıllarda selektif antiinflamatuvar etkileri ve ağrı kesici özelliklerinin olması ve gastrointestinal yan etkilerinin az olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedirler. Yoon ve arkadaşları ise, Siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri, anjiyogenezi baskılayarak ve ayrıca potansiyel olarak osteoblast ve osteoklast fonksiyonlarına müdahale ederek kemik onarımını ve kemik oluşumunu baskıladığını göstermişlerdir (157). Yine Kellinsalmi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, parecoxib'in osteoklast farklılaşmasını inhibe ederek kemiğin yeniden şekillenmesini bozduğunu göstermişlerdir (158). NSAİ ilaçların kırık iyileşmesi üzerine etkisini araştıran Leonelli ve arkadaşları ise ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada rofecoxib'in kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği gösterip bu ilacın kırıklarda dikkatli bir şekilde kullanılmasını önerilmişlerdir.

Ortopedi ve travmatoloji kliniklerinde sıklıkla kullanılan bir başka ilaç gruplarından NSAİD grubu ilaçlardan diclofenak'ın ratlarda oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesinde olumsuz etki gösterdiği belirtilmiştir (159). Beck ve arkadaşları tarafından yapılan klinik çalışmada, cerrahi öncesi dönemde kullanılan NSAİD grubu ilaçların kırık iyileşme hızını yavaşlattığı bildirilmiştir (140). Ayrıca Burd ve arkadaşlarının yaralanma sonrası hastalardaki retrospektif çalışmalarında İndometasin alan hastalar ile almayan hastalar karşılaştırıldığında, kaynamama oranında anlamlı bir fark kaydedilmiştir (160).

NSAID kullanımının faydalı etkileri de bildirilmiştir. Bu ilaçların faydaları sadece analjezik ve antiinflamatuvar olmakla sınırlı değildir. Prostaglandin sentezinin inhibisyonu, patolojik kemik büyümesinin sınırlandırılmasına ve özellikle kalça cerrahisinden sonra oluşabilecek heterotropik ossifikasyon oluşumunu da baskılayabilir (161,162). Huub ve arkadaşları, kalça cerrahisinden sonra heterotropik ossifikasyonun azalması üzerine bazı NSAID'lerin (indometasin ve rofekoksib) etkisi olduğunu göstermişlerdir (163). Yine Driban ve arkadaşları, ibuprofen ile tedavi edilen sıçanlarda el eklemlerinin iltihabının ve erken eklem kıkırdak dejenerasyonunun azaldığını gösteren araştırmalarının sonuçlarını sunmuşlardır. Elde edilen sonuçlar ayrıca ibuprofen uygulaması sırasında IL-1 ve IL-6 konsantrasyonlarında bir azalmayı göstermiştir (164). Ayrıca Jain ve arkadaşları

sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında ibuprofen tedavisinin osteoklastları ve kemik inflamatuvar sitokinlerini (IL-1 β ve TNF- α) azaltarak trabeküler kemik kalitesini iyileştirebildiğini saptanmışlardır. Böylece Sunulan kanıtlar, ibuprofen ile sistemik tedavinin inflamasyonun ve kemik katabolizmasının azalmasına katkıda bulunduğunu böylece bunun da kemik iyileşmesine yardımcı olabileceği gösterilmiştir **(165)**.

Yine günümüzde kliniklerde sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin de kırık iyileşmesi üzerine etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Huddleston ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada terapötik siprofloksasin konsantrasyonlarına maruz bırakılan ratlarda, kırık onarımının erken aşamalarında iyileşmenin azaldığını gösterilmişlerdir. Böylece erken kırık onarımı sırasında siprofloksasin uygulamasının, kırık iyileşmesinin klinik seyrini tehlikeye atabileceği öngörülmüştür **(166)**. Natividad-Pedreño ve arkadaşlarının yaptıkları rat çalışmasında ise, ikinci kuşak sefalosporin olan sefuroksimin kırık iyileşmesini geciktirdiği sonucu belirtilmiştir **(167)**. Aminoglikozit grubu antibiyotiklerden biri olan gentamisin de kırık iyileşmesini yavaşlattığına dair yayınlar bulunmaktadır **(168)**.

Sitokinler ve büyüme faktörleri de sıklıkla kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmıştır. Kaipel ve arkadaşları yaptıkları bir hayvan çalışmasında VEGF(vasküler endotelial growth factor), PDGF (Platelet rich growth factor) ve BMP 2(Bone morphogenetic protein)'in kendi aralarında ve kontrol grubuyla kıyaslandığında kırık kaynamasına etkilerini histopatolojik, radyolojik ve biyomekanik veriler doğrultusunda değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada VEGF ve PDGF'in kırık kaynamasına herhangi bir uyarıcı etkisi olmayıp BMP' nin ise kemik oluşumu ve kaynama üzerinde ciddi bir etkisi olduğu bildirilmiştir **(169)**. Bir başka çalışmada da Street ve arkadaşları ise lokal olarak kırık bölgesine uyguladıkları Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF)'ün hem angiogenezi, hem de kırık iyileşmesini hızlandırdığına dair görüş belirtmişlerdir **(170)**.

Kırık iyileşmesi mekanizması ve bu mekanizmada etkili olan faktörler çalışmalarda incelenmektedir (141,170,171). Polat ve arkadaşları tarafından glutamin aminoasitinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi ratlar üzerinde incelenmiş ve histolojik olarak iyileşmeyi minimal arttırdığı belirtilmiştir (141). Aslan ve arkadaşları tarafından yapılan hayvan çalışmasında, tavşanlar üzerinde oluşturulan kemik defektlerine hyaluronik asit bazlı kemik greftleri uygulanmış ve histolojik olarak kaynama durumları incelenmiştir. Kontrol deneklerine göre hyaluronik asitle muamele edilmiş greftlerde kırık iyileşmesi anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirtilmiştir (171).

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardır. Bunların başında çalışmamız bir hayvan modeli çalışması olup, kırık iyileşmesi için kısa takip süresi yapılmıştır. İkincisi biyokimyasal parametreler olarak kemik yapım ve yıkım markırlarına bakılmamıştır. Üçüncü olarak, kırık iyileşmesinde kallus dokusunun imkan yetersizliğinden dolayı biyomekanik incelemesi yapılmamıştır. Literatürde favipiravir ve hidroksiklorokin kemik metabolizması üzerine yayınının az miktarda olması çalışmamızdaki en önemli kısıtlılığı oluşturmuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1.Sonuçlar

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 15. gün histolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p=0,0001$).

Hidroksiklorokin grubunun; Favipiravir grubuna ve Favi+Hidroksi grubuna göre 15. gün histolojik skorlama ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,0001$).

Ayrıca Kontrol grubunun; Favipiravir ve Favi+Hidroksi gruplarının 15. gün histolojik skorlama ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p=0,043$, $p=0,023$), diğer grupların 15. gün histolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 30. gün histolojik skrolama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,887$).

Favipiravir grubunun 30. gün histolojik skrolama ortalamaları 15. gün histolojik skrolama ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,0001$).

Hidroksiklorokin grubunun 15. gün ve 30. gün histolojik skrolama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,787$).

Favi+Hidroksi grubunun 30 .gün histolojik skrolama ortalamaları 15.Gün histolojik skrolama ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,0001$).

Kontrol grubunun 15 .gün ve 30. gün histolojik skrolama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,088$).

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 15. gün radyolojik skrolama dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,330$).

Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favi+Hidroksi ve Kontrol gruplarının 30. gün radyolojik skrolama dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,618$).

Favipiravir grubunun 30. gün radyolojik skrolama kırık hattının kaybolmaya başlaması ve tam kemiksel kaynama dağılımları 15. gün radyolojik skrolama dağılımlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,007$).

Hidroksiklorokin grubunun 15. gün ve 30. gün radyolojik skrolama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,055$).

Favi+Hidroksi grubunun 30. gün radyolojik skrolama kırık hattının kaybolmaya başlaması ve tam kemiksel kaynama dağılımları 15. gün radyolojik

skorlama dağılımlarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,007$).

Kontrol grubunun 15. gün ve 30. gün radyolojik skorlama ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,273$).

Sonuçta; Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Favipiravir+Hidroksiklorokin tedavisinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kırık iyileşmesi üzerine radyolojik ve histolojik olarak olumsuz ya da pozitif etkisi bulunmamaktadır.

6.2.Öneriler

Gelecekte, kırık hastasında cerrahi tedaviyi güçlendirecek ve kırık iyileşmesini hızlandıracak biçimde bir tedavi metodu tespit edilebilsin. Çalışmamız bir hayvan modeli çalışması olup, kırık iyileşmesi için daha uzun takip süresi olan ve daha fazla grubun yer aldığı bir hayvan çalışma modeli yapılabilir. Ayrıca, çalışmaya değerli kılmak için kırık iyileşmesinde özellikle biyokimyasal parametreler olarak son dönemlerde popüler olan kemik yapım ve yıkım markırlarına bakılabilir. Bu çalışmada, sıçan femur kırığı modelinde günümüzde Covid-19 tedavisinde ülkemizde ve dünyada sıklıkla kullanılan Favipiravir ve Hidroksiklorokin'in kırık iyileşmesi ya da kırığın kaynamaması üzerindeki radyolojik, histolojik etkileri değerlendirilmiştir. Laboratuvar koşullarının uygun olduğu bir ortamda kırık iyileşmesinde materyallerin biyomekanik incelemesi de yapılabilir. Kırık iyileşmesi üzerine yapılan kontrol, favipiravir grubu, hidroksiklorokin grubu ve favipiravir+hidroksiklorokin modelinde radyolojik ve histopatolojik değerlendirilmenin yapıldığı bu hayvan modeli çalışması, yapılacak diğer çalışmalara örnek teşkil eder.

7.KAYNAKLAR

1. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 129-82.
2. Ege R. Kırıkların Etiyopatolojisi. Travmatoloji, 4. Cilt, Kadioğlu Matbaacılık, Ankara, 2- 61, 1989.
3. Miller JD, McCreadie BR, Alford AI, Hankenson KD, Goldstein SA. Form and function of bone. In: Einhorn TA, O’Keefe RJ, Buckwalter JA, editors. Orthopaedic basic science. Foundations of clinical practice. 3rd ed. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2007. p. 129-59.
4. Fuchs R, Thompson K. W. R. and Warden, S. J. (2019). Bone biology. Bone Repair Biomaterials, 15–52.
5. Mescher A.L. Bone In: Junqueira's Basic Histology Text and Atlas, 14th ed. pp.138-160, McGraw-Hill Education, 2016.
6. Schmitz MR, DeHart MM, Qazi Z, Shuler FD. Orthopaedic Tissues. In: Miller MD, Thompson SR, editors. Miller Review of Orthopaedics, 7th ed. Philadelphia: Elsevier. pp.1–83. 2015
7. Buckwalter JA, et al: Bone biology-part II: formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function, J Bone Joint Surg Am. 77:1276– 1283, 1995
8. Hadfield JN, Gray AC. The Evolving COVID-19 Effect on Hip Fracture Patients. Injury. 2020 Jul;51(7):1411-1412. 6. Hadfield JN, Gray AC. The Evolving COVID-19 Effect on Hip Fracture Patients. Injury. 2020 Jul;51(7):1411-1412.
9. Egol KA, Konda SR, Bird ML, Dedhia N, Landes EK, Ranson RA, Solasz SJ, Aggarwal VK, Bosco JA 3rd, Furgiuele DL, Ganta A, Gould J, Lyon TR, McLaurin TM, Tejwani NC, Zuckerman JD, Leucht P; NYU COVID Hip Fracture Research Group. Increased Mortality and Major Complications in Hip Fracture Care During the COVID-19 Pandemic: A New York City Perspective. J Orthop Trauma. 2020 Aug;34(8):395-402.
10. Upadhyaya GK, Iyengar K, Jain VK, Vaishya R. Challenges and strategies in management of osteoporosis and fragility fracture care during COVID-19 pandemic. J Orthop. 2020 Jun 2;21:287-290.

10. Joshi S, Parkar J, Ansari A, Vora A, Talwar D, Tiwaskar M, Patil S, Barkate H. Role of favipiravir in the treatment of COVID-19. *Int J Infect Dis*. 2021 Jan;102:501-508. doi: 10.1016/j.ijid.2020.10.069. Epub 2020 Oct 30. PMID: 33130203; PMCID: PMC7831863.
11. 3. Caroline AL, Powell DS, Bethel LM, Oury TD, Reed DS, Hartman AL. Broad spectrum antiviral activity of favipiravir (T-705): protection from highly lethal inhalational Rift Valley Fever. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Apr 10;8(4):e2790.
12. Hanioka N, Saito K, Isobe T, Ohkawara S, Jinno H, Tanaka-Kagawa T. Favipiravir biotransformation in liver cytosol: Species and sex differences in humans, monkeys, rats, and mice. *Biopharm Drug Dispos*. 2021 May;42(5):218-225.
13. Masimirembwa CM, Naik YS, Hasler JA. The effect of chloroquine on the pharmacokinetics and metabolism of praziquantel in rats and in humans. *Biopharm Drug Dispos*. 1994 Jan;15(1):33-43.
14. Gavriatopoulou M, Ntanasios-Stathopoulos I, Korompoki E, Fotiou D, Migkou M, Tzanninis IG, Psaltopoulou T, Kastitis E, Terpos E, Dimopoulos MA. Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clin Exp Med*. 2021 May;21(2):167-179. doi: 10.1007/s10238-020-00671-y. Epub 2020 Oct 30. PMID: 33128197; PMCID: PMC7598940.
15. Tomlinson RE, Silva MJ. 2013. Skeletal blood flow in bone repair and maintenance. *Bone Res* 1: 311–322.
16. White AA 3rd, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg Am* 1977;59(2):188-92.)
17. Rhinelander F. W. Tibial blood supply in relation to fracture healing. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 105:34–81. 1974
18. J. A. Buckwalter, M. J. Glimcher, R. R. Cooper, and R. Recker, Bone biology. I: structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization, *Instructional Course Lectures*, vol. 45. pp. 371–386. 1996
19. Ottani V, Raspanti M, Ruggeri A. Collagen structure and functional implications. *Micron* 32:251–26.2001

20. Rabiei AA, Esfandiary E, SetayeshMehr M, Shamosi A, Mardani M, Dashti GR. Decalcified Bone Plastination by the new UP89 resin. *J Int Soc Plastination*. 24-51. 2012
21. Kotan LD. Silika metodu ile kemikten DNA ekstraksiyonu. Tez çalışması. Çukurova Üniversitesi 2010, Adana
22. Eşrefoğlu M. (2016). Genel Histoloji. 2. Baskı İ, Medikal Yayıncılık İ.
23. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int*. Published online 2015. doi:10.1155/2015/421746
24. J. A. Buckwalter, M. J. Glimcher, R. R. Cooper, and R. Recker, Bone biology. I: structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization, *Instructional Course Lectures*, vol. 45. pp. 371–386. 1996
25. Wojda SJ, Donahue SW. Parathyroid hormone for bone regeneration. *J Orthop Res*. 2018 Oct;36(10):2586-2594. doi: 10.1002/jor.24075. Epub 2018 Jul 23. PMID: 29926970.
26. TOTBİD Dergisi 2010;9(2):78-84
27. Aydın Bahattin Kerem. Pentoksifillin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi. Tez çalışması, 2007. İstanbul.
28. Fawcett DW, R.P.J.R., Concise Histology. 2002: (2.nd edition). p. s.88.
29. Majeska R, et al: Direct modulation of osteoblastic activity with estrogen, *J Bone Joint Surg Am*. 76:713–721. 1994
30. Brinker M. R OCD. Kemik. Yetkin H YM, editor. Ankara: Adya; 2006.
31. Fawcett DW, R.P.J.R., Concise Histology. 2002: (2.nd edition). p. s.88.
32. Rüedi TP MW, Colton CL, Dell'Oca AF, Holz U, Kellam JF, Ochsner PE Perren SM, Claes L. , İçinde:. Kırık Tedavisinde AO Kuralları. Ağuş H çe, editor: İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006.
33. Junqueira L.C. CJ. Basic Histology. L.C. J, editor: McGraw-Hill Companies; 2003. 141 p.
34. Michael H.Ross, Wojciech Pawlina Histology atext and atlas; 218-220
35. Fawcett DW, R.P.J.R., Concise Histology. 2002: (2.nd edition). p. s.88.

36. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3 Suppl 3:S131-9. Epub 2008/11/15. doi: 10.2215/CJN.04151206. PubMed PMID: 18988698; PubMed Central PMCID: PMC3152283.
37. Bayram N. Histoloji. Anadolu Üniv. Yayınları 1995;125-132
38. Akter F, Ibanez J. Bone and cartilage tissue engineering. In: Akter F, editor. Tissue Engineering Made Easy . 1st ed. New York: Elsevier Inc.pp. 77-98. 2016
39. Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. Cell. 26:99–105. 1981
40. Us Ali Kemal. Kırıklar hakkında genel bilgiler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü Ders Notları, Ankara, 2005
41. Derrick T. Spring KIN 480 lecture: Iowa State University. 2015
42. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R: Bone biology-II. In Pritchard DJ(ed). Instructional Course Lectures Volume 41, AAOS, 1996;387-99.
43. Junqueira LC, Carneiro J. (2013)
44. Kemik Doku Histolojisi. Nanomedicine. 1: 317-332.
45. Zhang X, Zhu J, Li Y, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling regulates epiphyseal cartilage development through β -catenin-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem*. 2013;288
46. Ornitz DM, Legeai-Mallet L. Achondroplasia: Development, pathogenesis, and therapy. Dev Dyn. 2017 Apr;246(4):291-309. doi: 10.1002/dvdy.24479. Epub 2017 Mar 2. PMID: 27987249
47. Seeman E, Delmas PD. Bone quality-the material and structural basis of bone strength and fragility. N Engl J Med. 354:2250–61. 2006
48. Özdemir B, Kurtiş B, Tüter G, Şengüven B, Yıldırım B, Özcan G. (2016). Osteocalcin and Osteonectin Expression after Double Application of Platelet-Rich Plasma in Rabbits. J Istanbul Univ Fac Dent. 50 (2): 1-9.
49. Hofbauer LC, Schoppet M (2004) JAMA 292, 490-495
50. McKee MD, Nanci A. Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair. Microsc Res Tech 1996; 33:141.

51. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda)*. 2016 May;31(3):233-45. doi: 10.1152/physiol.00061.2014. PMID: 27053737; PMCID: PMC6734079.
52. Nakashima T. [Regulation of bone homeostasis by bone cells]. *Clin Calcium*. 2013 Feb;23(2):218-28. Japanese. PMID: 23354089.
53. Wein MN, Kronenberg HM. Regulation of Bone Remodeling by Parathyroid Hormone. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018 Aug 1;8(8):a031237. doi: 10.1101/cshperspect.a031237. PMID: 29358318; PMCID: PMC6071549.
54. Loi F, Córdova LA, Pajarinen J, Lin TH, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*. 2016 May;86:119-30. doi: 10.1016/j.bone.2016.02.020. Epub 2016 Mar 2. PMID: 26946132; PMCID: PMC4833637.
55. Gürdöl F. Tıbbi Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2015:509.
56. Seeman E, Delmas PD. Bone quality-the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 354:2250–61. 2006
57. Wu AHB (Çeviren: K. Emerk). Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests. Tietz Laboratuvar Testleri Klinik Kılavuzu. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011.
58. Cashman K. D. Diet, Nutrition and Bone Health. *Journal of Nutrition*. 2007:2507S–2512S.
59. U.S. Department of Health and Human Services. Bone Health and Osteoporosis. A report of the US Surgeon General; Rockville MD. 2004
60. Ohlsson C, Bengtsson BA, Isaksson OG, Andreassen TT, Słotweg MC Growth hormone and bone. *Endocr Rev* 19:55–79. 1998
61. Peichl P, Holzer LA, Maier R, Holzer G. Parathyroid hormone 1-84 accelerates fracture-healing in pubic bones of elderly osteoporotic women. *J Bone Joint Surg Am*. 2011;93(17):1583-7. Epub 2011/09/15. doi: 10.2106/JBJS.J.01379. PubMed PMID: 21915572.
62. Reeve J MP, Parsons JA, Bernat M, Bijvoet OL, Courpron P Anabolic effect of human parathyroid hormone fragment on trabecular bone in involutional osteoporosis: a multicentre trial. *Br Med J* 1980;280:4.

63. Brinker Mark R, O'Connor D. Kemik. In: Miller M (Ed) Miller'ın Ortopedi Kitabı. Çeviri editörleri Yetkin H, Yazıcı M, Ankara, Adya, 1-44, 2006.
64. Kılıçoğlu SS: Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 55(2): 143-150, 2002.
65. Kılıçoğlu S.S. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 55(2): 143-150. 2002
66. Sack D. Increased productivity of a digital imaging system: one hospital's experience. Radiol Manage 2001;23:14-8.
67. TOTBİD Dergisi 2013;12(1):35-46
68. Allen MR, Hock JM, Burr DB. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. Bone 35:1003-1012. 2004
69. Rahn, BA. Bone healing: histologic and physiologic concepts. In: Fackelman GE, editor. Bone in Clinical Orthopedics. Stuttgart, NY. Thieme.Pp.287–326. 2002
70. Perren SM, Claes L. Kırık tedavisinde biyoloji ve biyomekanik. İçinde: Rüedi TP, Murphy WM, Colton CL, Dell'Oca AF, Holz U, Kellam JF, Ochsner PE, editörler (Ağuş H, çeviri ed.). Kırık Tedavisinde AO Kuralları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006. s.7–30.
71. TOTBİD Dergisi 2017; 16:455–475
72. Shapiro F. Cortical bone repair. The relationship of the lacunar-canalicular system and intercellular gap junctions to the repair process. J Bone Joint Surg Am 1988;70(7):1067–81.
73. Rahn, BA. Bone healing: histologic and physiologic concepts. In: Fackelman GE, editor. Bone in Clinical Orthopedics. Stuttgart, NY. Thieme; 2002. pp.287–326.
74. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. Injury 2011;42(6):551–5
75. Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. J Bone Miner Res 2002;17(3):513–20
76. Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. J Cell Biochem 2003;88(5):873–84.

77. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res* 2001;16(6):1004–14.
78. Sheen JR, Garla VV. Fracture Healing Overview. 2021 May 12. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan
79. Kanczler JM, Oreffo RO. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater*.15:100–14. 2008
80. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*.pp.7–21. 1998
81. Perren SM, Claes L. Kırık tedavisinde biyoloji ve biyomekanik. İçinde: Rüedi TP, Murphy WM, Colton CL, Dell'Oca AF, Holz U, Kellam JF, Ochsner PE, editörler (Ağuş H, çeviri ed.). Kırık Tedavisinde AO Kuralları. Nobel Tıp Kitabevleri. pp.7–30. 2006
82. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, Cook SD, Cierny G, Muschler GF, Zych GA, Calhoun JH, LaForte AJ, Yin S. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg Am*. 83- A Suppl 1(Pt 2):151–8. 2001
83. Gooi JH, Pompolo S, Karsdal MA, Kulkarni NH, Kalajzic I, McAhren SH, Han B, Onyia JE, Ho PW, Gillespie MT, Walsh NC, Chia LY, Quinn JM, Martin TJ, Sims NA. Calcitonin impairs the anabolic effect of PTH in young rats and stimulates expression of sclerostin by osteocytes. *Bone*. 2010
84. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. 42(6):551–5. 2011
85. Brinker MR, O'Connor DP. Basic sciences. In: Miller MD, editor. Review of orthopaedics. 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. p. 1-132
86. Perren SM, Claes L. Kırık tedavisinde biyoloji ve biyomekanik. İçinde: Rüedi TP, Murphy WM, Colton CL, Dell'Oca AF, Holz U, Kellam JF, Ochsner PE, editörler (Ağuş H, çeviri ed.). Kırık Tedavisinde AO Kuralları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006. s.7–30.
87. Boyd AS, Benjamin HJ, Asplund C. Splints and casts: indications and methods. *Am Fam Physician* 2009;80(5):491–9.

88. Uthoff HK, Poitras P, Backman DS. Internal plate fixation of fractures: short history and recent developments. *J Orthop Sci.* 11(2):118–26. 2006
89. Basumallick MN, Bandopadhyay A. Effect of dynamization in open interlocking nailing of femoral fractures. A prospective randomized comparative study of 50 cases with a 2-year follow-up. *Acta Orthop Belg.* 68(1):42–8. 2002
90. Chapman MW: Principles of treatment of nonunions and malunions. In: Chapman MW (ed), *Chapman's orthopaedic surgery.* 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, s:847-85.
91. Giannoudis P, Tzioupis C, Almalki T, Buckley R: Fracture healing in osteoporotic fractures: is it really different? A basic science perspective. *Injury* 2007, 38 (Suppl. 1):90- 9.
92. Esternai JL, Brighton CT, Heppenstall RB: Nonunion of humerus: Clinical, roentgenographic, scintigraphic and response characteristics to treatment with constant direct current stimulation of osteogenesis. *Clin Orthop* 1986, 211:228-34.
93. Day SM, DeHeer DH: Reversal of the detrimental effects of chronic protein malnutrition on long bone fracture healing. *J Orthop Trauma* 2001, 15(1):47-53.
94. Guarniero R, de Barros Filho TE, Tannuri U, Rodrigues CJ, Rossi JD: Study of fracture healing in protein malnutrition. *Rev Paul Med* 1992, 110(2):63-8.
95. Dodds RA, Catterall A, Bitensky L, Chayen J: Abnormalities in fracture healing induced by vitamin B6-deficiency in rats. *Bone* 1986, 7(6):489-95.
96. Macey LR, Kana SM, Jingushi S, Terek RM, Borretos J, Bolander ME: Defect of early fracture-healing in experimental diabetes. *J Bone Joint Surg [Am]* 1989, 71(5):722-33.
97. McKee M. D: Aseptic non-union. In: Thomas P. Rüedi, William M. Murphy (ed), *AO principles of Fracture Management,* AO publishing, Switzerland, 2001 s:753- 768.
98. Adam CI, KentingJF, Court-Brown CM: Sigarette smoking and open tibial fractures. *Injury* 2001, 32:61-5.
99. Brown CW, Orme TJ, Richardson HD: The rate of pseudoarthrosis (surgical nonunion) in patients who are smokers and patients who are nonsmokers: a comparison study. *Spine* 1986, 11(9): 942-3

100. Giannoudis PV, MacDonald DA, Matthews SJ, Smith RM, Furlong AJ, De Boer P: Nonunion of femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Bone Joint Surg [Br]* 2000, 82(5):655-660.
101. Gerstenfeld LC, Al-Ghawas M, Alkhiary YM: Selective and nonselective cyclooxygenase-2 inhibitors and experimental fracture-healing. Reversibility of effects after short-term treatment. *J Bone Joint Surg Am* 2007, 89(1):114-25.
102. Karladani AH, Granhed H, Karrholm J, Styf J: The influence of fracture etiology and type on fracture healing: a review of 104 consecutive tibial shaft fractures. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001, 121(6):325-8
103. Reed AA, Joyner CJ, Isefuku S, Brownlow HC, Simpson AH: Vascularity in a new model of atrophic nonunion. *J Bone Joint Surg Br* 2003, 85(4):604-10.
104. Uthoff HK, Rahn BA: Healing patterns of metaphyseal fracture. *Clin Orthop* 1981, 160:295-303
105. Calori GM, Albisetti W, Agus A, Iori S, Tagliabue L: Risk factors contributing to fracture non-unions. *Injury* 2007, 38 (Suppl 2):11-8
106. Court-Brown C, McQueen M: Compartment syndrome delays tibial union. *Acta Orthop Scand* 1987, 58:249-52.
107. Claes L, Augat P: Influence of size and stability of the osteotomy gap on success of fracture healing. *J Orthop Res* 1997, 15:577-84.
108. Perren SM, Cordey J: The concepts of interfragmentary strains. In: Uthoff HK, (ed), *Current concepts of internal fixation of fractures*, Springer, New York, 1980.
109. Hulth A: Current concepts in fracture healing. *Clin Orthop* 1989, 249:265-84.
110. Frölke J.P.M., Patka P: Definition and classification of fracture non-unions. *Injury* 2007, 38 (Suppl 2):19-22.
111. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet*. 366(9498):1736-43. 2005
112. Olson S, Hahn D: Surgical treatment of non-unions: A case for internal fixation. *Injury* 2006, 37(8):681-90
113. Judet PR, Patel A: Muscle pedicle bone grafting of long bones by osteoperiosteal decortication. *Clin Orthop Relat. Res.* 1972, 87:74-80.
114. Panagiotis, M: Classification of non-union. *Injury* 2005, 36 (Suppl 4): 30-7

115. Phieffer, L. S., and Goulet, J. A.: Delayed unions of the tibia. *J Bone Joint Surg Am.* 2006, 88(1): 206-16.
116. MK Sen, T Miclau: Autologous iliac crest bone graft: Should it still be the gold standard for treating nonunions? *Injury* 2007, 38(S1):75-80.
117. Mayo KA, Benirschke SK: Treatment of tibial mal-unions and nonunions with reamed intramedullary nails. *Orthop Clin North Am* 1990, 21:715-720
118. Johnson EE, Marder RA: Open intramedullary nailing and bone grafting for nonunion of tibial diaphyseal fractures. *J Bone Joint Surg Am* 1987, 69:375-378.
119. Rosen H: The Treatment of nonunions and pseudarthroses of the humeral shaft. *Orthop Clin North Am* 1990, 21:725- 730.
120. Ring D, Jupiter JB, Sanders RA, Quintero J, Santoro VM, Ganz R, Marti RK: Complex nonunion of fractures of the femoral shaft treated by wave-plate osteosynthesis. *J Bone Joint Surg Br.* 1997, 79(2):289-94.
121. Brinker MR, O'Connor DP: Exchange nailing of ununited fractures. *J Bone Joint Surg Am.* 2007, 89(1):177-88.
122. Court-Brown CM, Keating JF, Christie J, McQueen MM: Exchange intramedullary nailing. Its use in aseptic tibial nonunion. *J Bone Joint Surg Br.* 1995, 77:407-11.
123. Grundnes O, Utvag SE, Reikeras O: Restoration of bone flow following fracture and reaming in rat femora. *Acta Orthop Scand.* 1994, 65:185-90.
124. Frolke JP, Nulend JK, Semeins CM, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ: Viable osteoblastic potential of cortical reamings from intramedullary nailing. *J Orthop Res.* 2004, 22:1271-5.
125. Pihlajamaki HK, Salminen ST, Bostman OM: The treatment of nonunions following intramedullary nailing of femoral shaft fractures. *J Orthop Trauma.* 2002, 16:394- 402.
126. Templeman D, Thomas M, Varecka T, Kyle R: Exchange reamed intramedullary nailing for delayed union and nonunion of the tibia. *Clin Orthop Relat Res.* 1995, 315:169-75
127. Atkins RM: Principles of management of septic non-union of fracture. *Injury* 2007, 38 (Suppl 2):23-32.
128. Rothan H. A., Byrareddy S. N., *J. Autoimmun.* 2020, 109, 102433.

129. Lai C-C et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and corona virus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020:105924
130. Furuta Y., Gowen B. B., Takahashi K., Shiraki K., Smee D. F., Barnard D. L., *Antiviral Res.* 2013, 100, 446–454.
131. Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2017;93:449–463.
132. Rocha-Pereira J et al. Favipiravir (T-705) inhibits in vitro norovirus replication. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2012;424:777–780.
133. Biot C., Daher W., Chavain N., Fandeur T., Khalife J., Dive D. Design and synthesis of hydroxyferroquine derivatives with antimalarial and antiviral activities. *J Med Chem*. 2006;49:2845–2849
134. Zhou D., Dai S.M., Tong Q. COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression. *J Antimicrob Chemother*. 2020:dkaa114.
135. Yao X., Ye F., Zhang M. In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) *Clin Infect Dis*. 2020:ciaa237.
136. Patrì A, Fabbrocini G. Hydroxychloroquine and ivermectin: A synergistic combination for COVID-19 chemoprophylaxis and treatment? *J Am Acad Dermatol*. 2020 Jun;82(6):e221. doi: 10.1016/j.jaad.2020.04.017. Epub 2020 Apr 10.
137. Cristina Stasi, Silvia Fallani, Fabio Voller, Caterina Silvestri. Treatment for COVID-19: An overview, *Eur J Pharmacol*. 2020 Dec 15; 889: 173644.
138. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1987;18(2):213-25
139. Beck A, Salem K, Krischak G, Kinzl L, Bischoff M, Schmelz A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in the perioperative phase in traumatology and orthopedics effects on bone healing. *Oper Orthop Traumatol*. 2005;17(6):569–78.
140. Polat O, Kılıçoğlu SS, Erdemli E. A controlled trial of glutamine effects on bone healing. *Adv Ther*. 2007;24(1):154–60.

141. Shiraki M, Shiraki Y, Aoki C, Miura M. Vitamin K2 (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2000;15:515-521.
142. Bahney CS, Zondervan RL, Allison P, Theologis A, Ashley JW, Ahn J, Miclau T, Marcucio RS, Hankenson KD. Cellular biology of fracture healing. *J Orthop Res*. 2019 Jan;37(1):35-50. doi: 10.1002/jor.24170. Epub 2018 Nov 30. PMID: 30370699
143. Wang Y, Wan C, Deng L, et al. 2007. Hipoksi ile indüklenabilir faktör {alfa} yolu, iskelet gelişimi sırasında anjiyogenezi osteogenez ile eşleştirir. *J Clin Invest* 117 :1616-1626.
144. Hu DP, Ferro F, Yang F, et al. 2017. Kırık iyileşmesi sırasında kırıldaktan kemiğe dönüşüm, istilacı vaskülatür ve çekirdek pluripotens genlerinin indüksiyonu tarafından koordine edilir. *Geliştirme* 144 :221–234
145. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ and Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA*; 323: 1824-1836, 2020.
146. Zhang Y, Geng X, Tan Y, Li Q, Xu C, Xu J, Hao L, Zeng Z, Luo X, Liu F, Wang H. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system. *Biomed Pharmacother*. 2020 Jul;127:110195.
147. Disser NP, De Micheli AJ, Schonk MM, Konnaris MA, Piacentini AN, Edon DL, Toresdahl BG, Rodeo SA, Casey EK, Mendias CL. Musculoskeletal Consequences of COVID-19. *J Bone Joint Surg Am*. 2020 Jul 15;102(14):1197-1204. doi: 10.2106/JBJS.20.00847.
148. Egol KA, Konda SR, Bird ML, Dedhia N, Landes EK, Ranson RA, Solasz SJ, Aggarwal VK, Bosco JA 3rd, Furgiuele DL, Ganta A, Gould J, Lyon TR, McLaurin TM, Tejawani NC, Zuckerman JD, Leucht P; NYU COVID Hip Fracture Research Group. Increased Mortality and Major Complications in Hip Fracture Care During the COVID-19 Pandemic: A New York City Perspective. *J Orthop Trauma*. 2020 Aug;34(8):395-402. doi: 10.1097/BOT.0000000000001845. PMID: 32482976; PMCID: PMC7302075.
149. Cai Q, Yang M, Liu D, Chen J, Shu D, Xia J, Liao X, Gu Y, Cai Q, Yang Y, Shen C, Li X, Peng L, Huang D, Zhang J, Zhang S, Wang F, Liu J, Chen L, Chen S, Wang Z, Zhang Z, Cao R, Zhong W, Liu Y, Liu L. Experimental Treatment with

- Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering (Beijing)*. 2020 Oct;6(10):1192-1198. doi: 10.1016/j.eng.2020.03.007. Epub 2020 Mar 18.
150. Doi Y, Hibino M, Hase R, Yamamoto M, Kasamatsu Y, et al. A Prospective, Randomized, Open-Label Trial of Early versus Late Favipiravir Therapy in Hospitalized Patients with COVID-19. *Antimicrob Agents Chemother*; 64(12): e01897-20, 2020.
 151. Li X, Wang Y, Agostinis P, et al. Is hydroxychloroquine beneficial for COVID-19 patients? *Cell Death Dis*. 2020;11(7):512. Published 2020 Jul 8. doi:10.1038/s41419-020-2721-8
 152. Mutlu O, Uygun İ, Erden F. Koronavirüs Hastalığı (COVID-19) Tedavisinde Kullanılan ilaçlar. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2020;6(3):167-173.
 153. Jeffcoach DR, Sams VG, Lawson CM, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs' impact on nonunion and infection rates in long-bone fractures. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;76(3):779–783
 154. Iwamoto J, Seki A, Sato Y, Matsumoto H, Tadedo T, Yeh JK. Vitamin K2 promotes bone healing in a rat femoral osteotomy model with or without glucocorticoid treatment. *Calcif Tissue Int*. 2010;86(3):234-41.
 155. Street J, Bao M, deGuzman L, Bunting S, Peale FV Jr, Ferrara N, et al Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(15):9656– 61.
 156. Meunier A, Aspenberg P. Parecoxib impairs early metaphyseal bone healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2006;126(7):433–6.
 157. Yoon DS, Yoo JH, Kim YH, Paik S, Han CD, Lee JW. The effects of COX-2 inhibitor during osteogenic differentiation of bone marrow-derived human mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*. 2010;19(10):1523–1533.
 158. Kellinsalmi M, Parikka V, Risteli J, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 down-regulates osteoclast and osteoblast differentiation and favours adipocyte formation in vitro. *Eur J Pharmacol*. 2007;572(2–3):102–110
 159. Giordano V, Giordano M, Knackfuss IG, Apfel MI, Gomes RD. Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae. *Injury*. 2003;34(2):85–94.

160. Burd TA, Hughes MS, Anglen JO. Heterotopic ossification prophylaxis with indomethacin increases the risk of long-bone nonunion. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;**85**(5):700–705.
161. Vuolteenaho K, Moilanen T, Moilanen E. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, cyclooxygenase-2 and the bone healing process. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008;**102**(1):10–14.
162. Fransen M, Neal B. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for preventing heterotopic bone formation after hip arthroplasty. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD001160.
163. Huub JL, Van Der Heide WJ, Van Sorge A, Van Kampen A, Schreurs W. Similar effects of rofecoxib and indomethacin on the incidence of heterotopic ossification after hip arthroplasty. *Acta Orthop.* 2007;**78**(1):90–94.
164. Driban JB, Barr AE, Amin M, Sitler MR, Barbe MF. Joint inflammation and early degeneration induced by high force reaching are attenuated by ibuprofen in an animal model of work-related musculoskeletal disorder. *J Biomed Biotechnol.* 2011;**2011**:691412.
165. Jain NX, Barr-Gillespie AE, Clark BD, et al. Bone loss from high repetitive high force loading is prevented by ibuprofen treatment. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2014;**14**(1):78–94.
166. Perry AC, Prpa B, Rouse MS, Piper KE, Hanssen AD, Steckelberg JM, et al. Levofloxacin and trovafloxacin inhibition of experimental fracture-healing. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;(414):95–100.
167. Natividad-Pedreño M, Nuñez-Chia A, Cobo-Valenzuela N, Alcantara-Martos T, Carrascal MT, Delgado-Martinez AD. Effect of cefazolin and cefuroxime on fracture healing in rats. *Injury.* 2016 Sep;47 Suppl 3:S3-S6. doi: 10.1016/S0020-1383(16)30599-X. PMID: 27692104.
168. Westerhuis RJ, van Bezooijen RL, Kloen P. Use of bone morphogenetic proteins in traumatology. *Injury.* 2005;36(12):1405–12.
169. Kaipel M, Schützenberger S, Schultz A, Ferguson J, Slezak P, Morton TJ, Van Griensven M, Redl H. BMP-2 but not VEGF or PDGF in fibrin matrix supports bone healing in a delayed-union rat model. *J Orthop Res.* 2012 Oct;30(10):1563-9. doi: 10.1002/jor.22132. Epub 2012 Apr 16.

170. Asakura H, Myou S, Ontachi Y, et al. Vitamin K administration to elderly patients with osteoporosis induces no hemostatic activation, even in those with suspected vitamin K deficiency. *Osteoporos Int* 2001;12:996-1000.
171. Huddleston PM, Steckelberg JM, Hanssen AD, Rouse MS, Bolander ME, Patel R. Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture healing. *J Bone Joint Surg.* 2000;82A(2):161–73.



8.EKLER

8.1.Şekil Listesi

Şekil 1: Uzun kemiklerin afferent vasküler sisteminin ana bileşenleri

Şekil 2: Bir tibianın kalın bileme kesiti. Kortikal kompakt kemik ve trabekülalardan oluşmuş süngerimsi kemik yapısı

Şekil 3: Uzun kemiklerin encondral kemikleşmesi. F-J fazları sıklıkla doğumdan sonra görülür

Şekil 4: Epifiz plağı 5 gelişim katmanını gösteren ışık mikroskopisi fotoğrafı

Şekil 5: Kırık oluşturan kuvvetlerin yönleri

Şekil 6: Sekonder kemik iyileşmesinin aşamaları

Şekil 7: Favipiravir'in kimyasal yapısı(T-705)

Şekil 8: Favipiravir'in aktivasyon mekanizmasının şematik gösterimi

Şekil 9: Kullanılan ilaçların gavaj yoluyla uygulanmasına ait görüntü

Şekil 10: Cerrahi öncesi operasyon bölgesinin traş edilerek hazırlanması

Şekil 11: Diz anteromedial longitudinal insizyon sonrası patella laterale devrilerek femur interkondiller bölgenin ortaya konulması

Şekil 12: Favipiravir uygulanan gruptaki cerrahi müdahale

Şekil 13: Kırık modeli oluşturmak için kullandığımız gyotin

Şekil 14: Cerrahi sonrası 0. günde kontrol radyografisi

Şekil 15: Cerrahi sonrası 15. gün kontrol radyografileri, **A.** Favipiravir grubu, **B.** Hidroksiklorokin grubu

Şekil 16: Cerrahi sonrası 15. gün kontrol radyografileri, **A.** Kontrol grubu, **B.** Favi+Hidroksi grubu.

Şekil 17: Cerrahi sonrası 30. gün kontrol radyografileri, **A.** Favipiravir grubu, **B.** Hidroksiklorokin grubu.

Şekil 18: Cerrahi sonrası 30. gün kontrol radyografileri, **A.** Kontrol grubu, **B.** Favi+Hidroksi grubu.

Şekil 19: **A.** Favipiravir grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. fibröz doku ve kıkırdak doku görülmekte (skor 3)(HE,x100), **B.** FAVİPİRAVİR grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Yoğun olarak immatür kemik görülmekte (skor 8)(HE,x4)

Şekil 20: **A.** Hidroksiklorokin grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Tamamen İmmatür kemik görülmekte (skor 8)(HE,x4), **B.** Hidroksiklorokin grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Matür (lamellar) kemik görülmekte (skor 10)(HE,x4)

Şekil 21: **A.** Kontrol grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür (woven) kemik görülmekte (skor 5)(HE,x4), **B.** KONTROL grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik görülmekte (skor 6)(HE,x4)

Şekil 22: **A.** Favipiravir+Hidroksiklorokin grubu 15. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden mikroskopik görüntü. Aynı oranda kıkırdak ve immatür kemik görülmekte (skor 6)(HE,x4), **B.** Favipiravir+Hidroksiklorokin grubu 30. gündeki kallusun histopatolojik görünümünden bir mikroskopik görüntü. Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik görülmekte (skor 6)(HE,x4)

Şekil 23: Grupların 15 ve 30. gün histopatolojik olarak alınan değerlerin karşılaştırılması

Şekil 24: Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir+Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde radyolojik değerlerinin karşılaştırılması

8.2.Tablo Listesi

Tablo 1: Kemik Tipleri

Tablo 2. Çalışmada kullanılacak deney hayvanlarının gruplara göre dağılımı

Tablo 3: Radyolojik skorlamada Lane ve Sandhu'nun derecelendirme sistemi

Tablo 4: Hue ve arkadaşlarının kırık iyileşmesi histopatolojik skorlama sistemi

Tablo 5: Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir +Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde histolojik olarak istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 6: Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir +Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde histolojik olarak istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 7: Favipiravir, Hidroksiklorokin, Favipiravir +Hidroksiklorokin ve Kontrol gruplarının 15 ve 30. günlerde radyolojik olarak istatistiksel değerlendirilmesi