



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

SELENYUMUN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Fatih Burgucu

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2016



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

SELENYUMUN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Fatih BURGUCU

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2016



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

SELENYUMUN KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Fatih BURGUCU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Kemal DURAK

BURSA-2016

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iii
GİRİŞ.....	1
Kemik Doku ve Histolojisi	1
Kemik tipleri.....	3
Kemiğin Oluşumu	6
Kemik Fizyolojisi.....	6
Kırık Tanımı ve Tipleri	7
Kırık İyileşmesi	10
Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	16
Selenyum	18
GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
Çalışma Planı-Cerrahi Teknik.....	20
Radyolojik İnceleme	23
Histopatolojik İnceleme	23
İstatistiksel Değerlendirme	24
BULGULAR	25
Radyolojik Bulgular.....	25
Histopatolojik Bulgular.....	29
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
KAYNAKLAR	37
TEŞEKKÜR	42
ÖZGEÇMİŞ	43

ÖZET

Kırık iyileşmesi üzerine bir çok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Selenyum insan vücudu için gerekli bir eser element olup vücutta çeşitli enzimatik reaksiyonlarda rol oynamaktadır. Bu çalışmada selenyumun antioksidan özelliğinin yanı sıra osteoblastik aktivasyon ve osteoklastik inhibisyon etkilerinden yararlanılarak sıçanlarda kırık iyileşmesi üzerine radyolojik ve histopatolojik olarak etkisi araştırılmıştır.

42 adet rat düşük doz selenyum verilen grup, yüksek doz selenyum verilen grup ve kontrol grubu olarak üçe ayrıldı. Ameliyat sonrası birinci günden itibaren selenyum verilen gruplara 10 gün boyunca intraperitoneal olarak selenyum enjekte edildi. Her grubun yarısı 14. günde sakrifiye edilerek erken dönemde radyolojik ve histopatolojik, diğer yarısı ise 28. günde sakrifiye edilerek radyolojik ve histopatolojik olarak kırık kaynaması yönünden değerlendirildi.

Yüksek doz selenyum verilen grupta erken dönem radyolojik ve histopatolojik olarak, düşük doz selenyum verilen grup ve kontrol grubuna göre kırık iyileşmesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazlaydı. Geç dönemde ise yüksek doz selenyumun radyolojik ve histopatolojik olarak kırık iyileşmesine olumlu etkilerinin görülmesine karşın gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: kırık iyileşmesi, selenyum

ABSTRACT

Many studies have been done and many of ongoing studies continue on fracture healing. Selenium is a trace element which is necessary for human body and it takes part in several enzymatic reactions in body. In this study, researches have been made to benefit from not only antioxidant trait, but also osteoblastic activation and osteoclastic inhibition of selenium to understand radiologic and histopathologic effects on fracture healing on rats.

42 rats were put on groups of low dose selenium injected group, high dose selenium injected group and control group. From the first day of postop selenium injected intraperitoneally to selenium injected groups' individuals for 10 days. Half of each group sacrificed at 14th day for early period histopathologic and radiologic fracture healing and rest of the groups' individuals sacrificed at 28th day for histopathologic and radiologic fracture healing evaluations.

Early period radiologic and histopathologic results of fracture healing in high dose selenium injected group were higher than other groups by statistical relevance. In late period, high dose selenium's positive effects on radiologic and histopathologic fracture healing has been noted. However, no statistical variation detected.

Keywords: fracture healing, selenium

GİRİŞ

Herhangi bir nedenden dolayı kemik bütünlüğünün kısmen ya da tamamen bozulması “kırık” olarak tanımlanmaktadır (1).

Günümüzde trafik ve iş kazalarının yanı sıra, yaşlı nüfusun da artması nedeniyle kırıkların görülmesi, kırık iyileşmesini önemli bir sağlık problemi haline getirmiştir. Ortopedi kliniklerinde kırık tedavisindeki başlıca hedefler; hastanın bir an önce gerekli cerrahi ya da konservatif müdahalesinin yapılarak ağrısız hale getirilmesi ve mümkün olan en hızlı şekilde kırık iyileşmesine yardımcı olunarak hastanın mobilizasyonun sağlanmasıdır. Bu konudaki çalışmalar kırık iyileşmesini hızlandırmak üzerine yoğunlaşmaktadır.

Kırık iyileşmesinin hızlandırılmasında çeşitli etkenler üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Selenyum, insanlar ve memeliler için gerekli olan selenoproteinlerin yapısında bulunan eser bir elementtir. Bu selenoproteinler antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz 1 ve tioredoktin redüktaz ın aktif hale geçmesinde rol oynarlar. Osteoblastik aktivasyonun yanı sıra osteoklast inhibisyonunu da katkı verirler. Çalışmamızda 42 adet wistar albino ratta radyolojik ve histopatolojik olarak selenyumun kırık iyileşmesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Kemik Doku ve Histolojisi

Kemik insan vücudunun en sert dokularından biridir. En önemli iki özelliği dengeyi sağlayan destek dokusu olması ve metabolik olarak vücuttaki kalsiyum (Ca^{+2}) dengesi için bir banka görevi görmesidir. Kırık dokudan sonra darbelere en çok dayanıklı olan dokudur. Hayati organların barındığı vücudun önemli boşluklarını dışarıdan kuşatarak korur. Kan hücrelerinin sentezi kalsiyum, fosfat (PO_4) gibi minerallerin depolanması ve salınması kemik doku sayesinde olur. Kas kasılması ile oluşan kuvvetler kemiklerin

oluşturduğu kaldıraç sistemleri sayesinde artarak vücutsal harekete dönüşür(3).

Bir organ olarak kemikler kardiyak çıkışın (out put) %5-10'unu alırlar.

Uzun kemikler 3 kaynaktan beslenirler:

- 1- Besleyici arter sistemi
- 2- Metafiz-epifiz sistemi
- 3- Periost sistemi

Kemik, özel bir bağ dokusudur. Kemik matriksi denilen hücreler arası madde kalsifiye olmuştur. Matriksi, kuru ağırlığının kabaca %40'ı oranında organik, %60 oranında inorganik bileşenler oluşturur(4).Organik bölümün çoğu Tip 1 kollajenden oluşmakla birlikte % 10 oranında dakollajen dışı proteinler yer alır. Bu proteinler; proteoglikan, gamakarboksigliutamik asit (GKGA), osteokalsin, glikoproteinler, plazma proteinleri ve büyüme faktörleridir (5-7). Kemik matriksin inorganik kısmı ise minerallerden oluşur. Bunlar kalsiyum, karbonat, sodyum, potasyum, manganez ve florid olup kollajen fibrilleri arasında kalsiyum hidroksiapatit kristalleri halinde yer alırlar. İnorganik matriks kemiğin dayanıklılık ve sertliğini sağlamaktadır (4-7).

Kemik dokuda; osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlar olmak üzere üç ayrı hücre izlenir. Osteositler matriksin lakuna adı verilen boşluklarında yer alırlar. Matür iskeletteki hücrelerin %90'ını osteositler oluşturur. Osteoblastlar, matriksin organik kısımlarının sentezini yaparlar. Osteoklastlar ise çok çekirdekli dev hücreler olup, kemik dokusunun rezorbsiyonu ve yeniden şekillenmesini sağlarlar.

Matriks lamelleri arasında bulunan lakunalar içine yerleşen osteositler, osteoblastların olgun hale gelmeleri sonucu oluşurlar. Her lakuna içerisinde bir osteosit bulunur. Osteositlerin sitoplazmaları ince kanalcıklar ile çevrilidir.Bu kanalcıklar sayesinde osteositler birbirleri ile iletişim halinde olup besin alışverişi yapabilirler(8-10)

Osteoblastlar, matriksinin organik kısımlarını oluşturan Tip 1 kollajen, proteoglikan ve glikoprotein sentezi yaparlar. İnorganik kısımların da yapılabilmesi için osteoblasta ihtiyaç vardır.Salgıladıkları büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığı ile osteoklastların rezorbsiyonuna aracılık

ederler. Osteoblastların komşu osteoblastlarla temasını sağlayan sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman daha belirgin hale gelir. Osteoblastlar yeni sentezi yapılmış matriks ile sarıldıklarında osteosit adını alırlar (8,10,11,12).

Osteoklastlar çok büyük ve hareketli hücrelerdir. Hücre gövdelerinin genişlemiş kısmında 5–50 veya daha fazla çekirdek vardır. Hematopoetik mononükleer fagositik hücrelerden farklılaşırlar. Howship lakunası adı verilen çukurcularda bulunurlar. Osteoklastlar asit fosfataz ve çeşitli parçalayıcı enzimler üreterek kemik matriksin yıkımını sağlar ve osteoblastlar tarafından aktive veya inaktive edilirler (8,10, 11,13).

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan zarlarla örtülüdür. Bu zarlardan dıştakine periosteum, içtekine de endosteum denir. Periosteumun dış tabakası kollajen lifer ve fibroblastlardan oluşmuştur. Demetler halinde periosteal kollajen liferden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar. Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahiptir. Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Endosteum periosteumdan oldukça incedir. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları kesintisiz olarak sağlamaktır. Bu nedenlerle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilir (3,14).

Kemik Tipleri

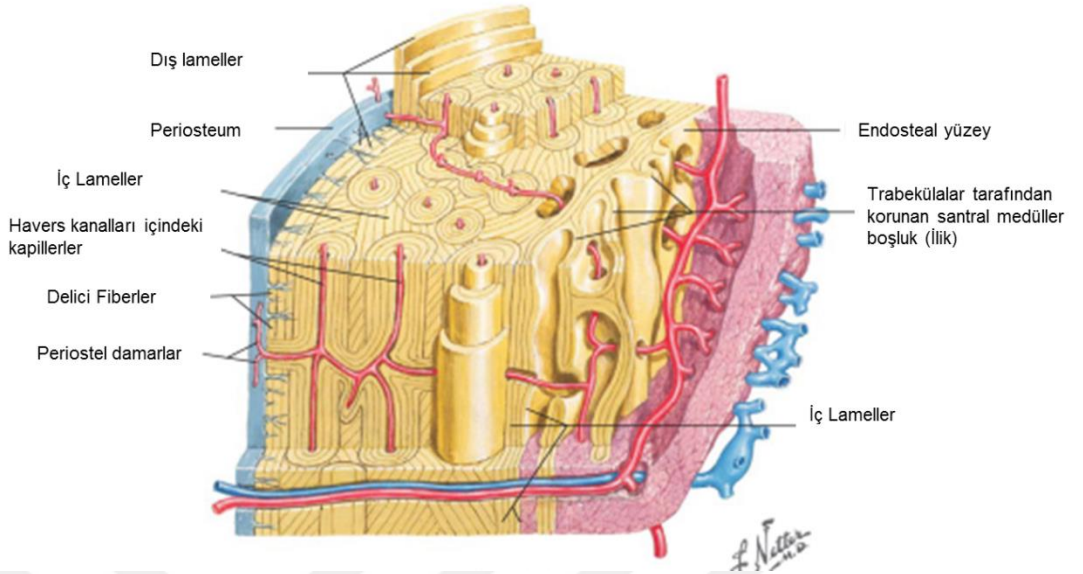
Yapısına göre iki tip kemik bulunur. Primer, woven (olgunlaşmamış) ,örgümsü kemik ve sekonder, olgun veya lamellar kemik. Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde, kırık onarım olaylarında ilk ortaya çıkan kemik tipidir. Bu tip kemik dokusu olgunlaşmamış iskeleti meydana getirir ve büyüme sırasına yerini lamellar kemiğe bırakır. Primer kemik tipinde rastgele ve dağınık şekillerde yerleşmiş kollajen lifleri bulunur. Bu tip kemik daha fazla

hücre içerdiğinden dolayı metabolizması yüksek; mineralizasyonu düzensiz ve su içeriği yüksek olduğundan daha yumuşaktır(3,10.14).

Lamellar kemik ise spongioz (trabeküler) ve kompakt (kortikal) kemik olarak ikiye ayrılır. Bu kemik tipinde kollajen lifler yüke paralel olarak sıralanmıştır ve birbirlerine sıkıca bağlıdır. Bu nedenle lamellar kemik primer kemikten daha fazla dayanıklıdır. Kortikal kemik osteon (haversian sistem) denilen silindirik yapılardan oluşur. Haversian sistem silindir şeklinde olup merkezi bir kanal çevresinde 4-20 arası dairesel lamellerden oluşur. Haversian sistem içerisinde damar ve sinir yapıları bulunur. Bu haversian sistem içerisinde damarları taşıyan ara kanallara da volkmann kanalları denir. Wolkmann kanalları sayesinde osteositlere oksijen taşınır(14,15)(Resim-1).

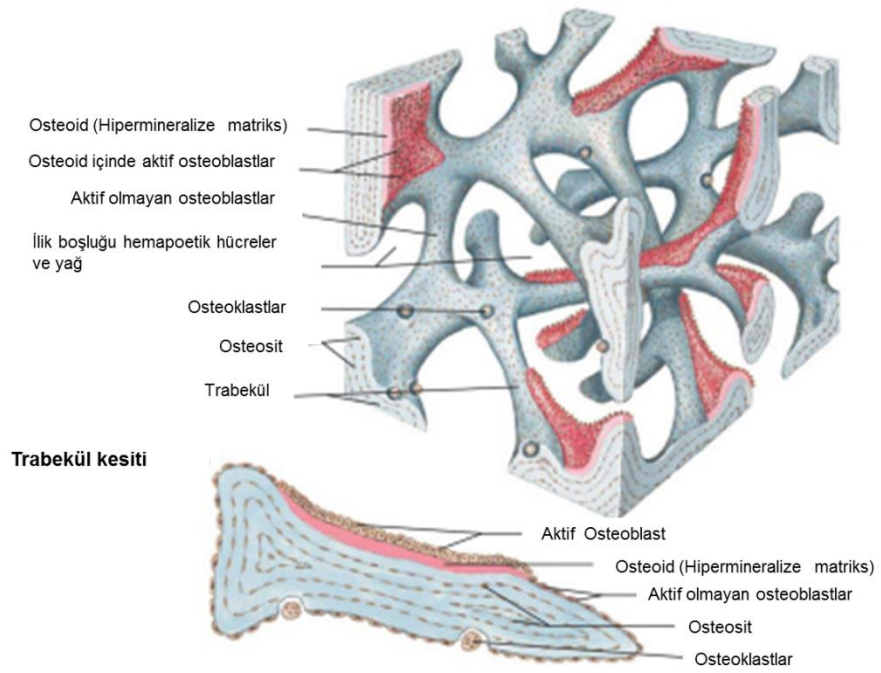
Kompakt kemiğin düzenli ve yoğun yapısının aksine trabeküler kemik daha düzensizdir. Trabeküler kemik ile kompakt kemiğin yapısının aynı olmasına karşın trabeküler kemikte birim hacme düşen ekstrasellüler matriks miktarı daha az olduğundan yoğunluğu kompakt kemiğe göre daha azdır. Spongioz kemiğin metabolik aktivitesiyeniden şekillenme yeteneği ve dolayısıyla mekanik yüklere karşı dayanma gücü kortikal kemiğe göre daha üstündür Matür iskeletin % 80'ini kortikal kemik oluşturur(3,8,14)(Resim-2).

Kortikal Kemik



Resim-1: Kortikal kemik yapısı(14).

Trabeküler Kemik



Resim-2: Trabeküler kemik yapısı(14).

Kemiğin Oluşumu

Kemik şekillenmesi 2 yolla oluşur. Birincisi osteoblastların salgıladığı matriksin doğrudan mineralize olması sonucu (intramembranöz kemikleşme) ikincisi ise mevcut kıkırdak matriks üzerine kemik matriksin geçmesi ile oluşan enkondral kemikleşmedir (11,15).

Intramembranöz kemikleşme yassı kemiklerin oluşumunda, uzun kemiklerin kalınlaşmasında ve distraksiyon osteogenezinde gözlenir. Mezenkimal doku içindeki yoğunlaşmalar sonucu oluştuğu için bu isim verilmiştir. Bir grup mezenkimal hücrenin osteoblastlara dönüşmesi sonrası döngü başlar. Oluşan osteoblastlarda organik matriks üretimi ve kalsifikasyonu ile devam eder. Organik matriks içerisinde kalan osteoblastların bazıları mineralize olarak osteositlere dönüşür. Gelişen bu kemik adacıklarına spikül adı verilir. Oluşan spiküller birleşerek süngerimsi kemik yapısını oluştururlar. Oluşan bu spiküllerin arasına kan damarları ve farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi ile kemik iliği meydana gelir. Kemikleşmeye katılmayan bağ dokularından ise endosteum ve periosteum gelişir (11,14,15).

Enkondral kemikleşme kısa ve uzun kemiklerin oluşması ve şekillenmesi sırasında gözlenir. İlk olarak osteoprogenitör hücreler kondrositlere dönüşür. Oluşan kondrositlerin kalsifikasyonu başlar. Aynı zamanda damarlanma artışı da başlar. Bunu rezorbsiyon dönemi izler ve kıkırdak içerisinde medüller boşluklar oluşur. Osteoprogenitör hücrelerin bu boşluklara ilerleyen kan damarları ile taşınması sonrası osteoblast oluşur ve osteoblastlarda yeni kemik doku oluşumunu başlatır (11,14,15,16).

Kemik Fizyolojisi

Olgunlaşmasını tamamlayan kemik dokusu vücut metabolizmasında çeşitli görevlerde yer alır (17).

Kemiğin iç yapısı dış kuvvetlerle değişim gösterebilir. Kemiğin üzerine etki eden bası ve çekme gerilimlerine göre trabeküller dizilim gösterirler. Böylece kemik gerilimlere göre yeniden şekillenme gösterir. Buna Wolf'un transformasyon yasası adı verilir. Bu yasaya göre kuvvetin yok olması kemik yapımını azaltırken, kuvvetin var olması ise kemik yapımını artırır (4).

Kemik doku vücuttaki kalsiyumun %99 unu içerir. Kalsiyum kas kasılmasında, sinir iletiminde, endokrinolojik olaylarda ve kalp fizyolojisi gibi birçok metabolik olayda rol oynar. Kemik ve kan arasında sürekli bir kalsiyum alışverişi bulunur. Serum kalsiyum seviyesi primer olarak 1-25 dihidroksi vitamin D₃ ve parathormon tarafından düzenlenir. Gıdayla alınan kalsiyum kemiklerde depo edilirken, fazlası idrar ve gayta ile atılır. Kandaki kalsiyum miktarı azaldığında osteoklastlar paratiroid hormon tarafından aktive edilir ve sayıları artar. Sonuç olarak kemikteki kalsiyum serbest hale gelir. Tiroid bezinin parafoliküler hücrelerinde sentezi yapılan kalsitonin, paratiroid hormona ters etki yaparak matriks rezorpsiyonunu inhibe eder(13,15).

Fosfat da önemli bir kısmı (%85) kemikte depoalanan oluşumlardan biridir. Enzim sistemlerinde önemli rol oynar ve DNA, RNA, fosfolipid gibi bileşenlerin yapısına katılır (15).

Hormonların da kemik üzerinde önemli etkileri vardır. Östrojen, testosteron ve büyüme hormonu kemik yapımı ve büyümesi üzerine etki eder. Bu hormonlar özellikle puberte döneminde osteojenik hücrelerin sayılarını artırarak osteoblastların organik matriks üretimini çoğaltmaları yoluyla etkilerini gösterirler (18). Kortikosteroidler kollajen sentezini önleyip osteoblast verimliliğini azaltarak kemik kaybını artırırlar. Tiroid hormonları ise kemik yıkımını kemik yapımından daha fazla etkileyerek osteoporoza neden olurlar(4).

Kırık Tanımı ve Tipleri

Tanım olarak kırık kemik bütünlüğünün bozulduğu yumuşak doku yaralanmaları olarak yapılabilir. Kırıklar kuvvetin şiddetine ve bunu kemiğin absorbe edebilme yeteneğine göre fissürden, çok parçalı ve hatta kırıklı çığığa kadar değişebilir . Kırığın tipi kadar çevre yumuşak dokuların durumu da kırığın iyileşme kapasitesini etkiler. Bu nedenle ekstremitelerde yaralanmalarında yumuşak dokunun durumu göz önünde bulundurulmalıdır(19). Yumuşak doku yaralanmaları sıklıkla Tscherne sınıflamasına göre değerlendirilir(Tablo-1)(20).

Cilt ve yumuşak doku bütünlüğünün bozulduğu açık kırıklar olarak Gustilo-Andersen sınıflamasına göre değerlendirilebilir(Tablo-2)(21).

Kırığın kemikte olduğu bölge iyileşmenin şeklini ve iyileşme süresini doğrudan etkilemektedir. Diafiz kırıklarında iyileşme kallus köprüleri ile oluşurken, metafizer kemikte trabekülün bir tarafından diğer tarafına yanyana kallus gelişmesi görülür. Aynı zamanda metafizer kırıklarda iyileşmesi diafiz kırıklarına göre daha hızlı olmaktadır(19).

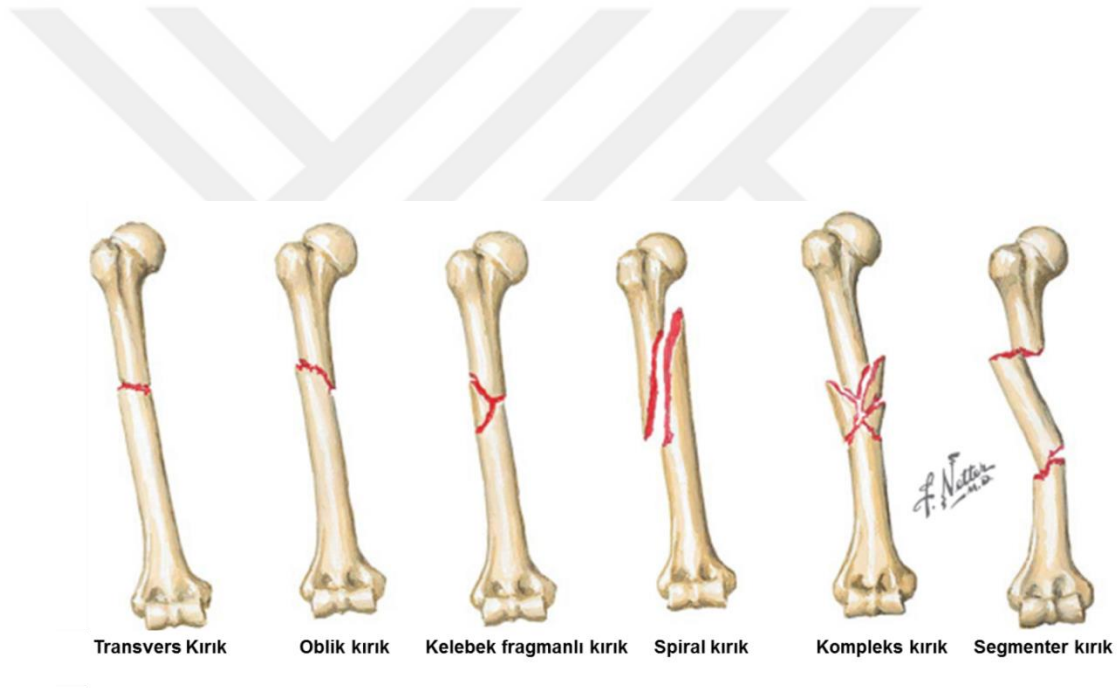
Radyolojik olarak kırığı tarif etmek için transverse, spiral, kelebek fragmanlı gibi çeşitli terimler kullanılmaktadır(Resim-3)(19).

Tablo-1: Tscherne Sınıflaması(20)

Evre 0	Farkedilebilir yumuşak doku yaralanması olmayan kapalı kırık
Evre 1	Cilt ve ciltaltı dokuda abrazyon ya da kontüzyon
Evre 2	Kas gruplarını da içeren derin abrazyon
Evre 3	Yaygın yumuşak doku hasarı ve şiddetli kas yaralanması (kompartment sendromu ve arteriyal yaralanma)

Tablo-2 : Gustilo-Andersen sınıflaması(21)

1	<1 cm yara ,minimal kontaminasyon
2	1-10 cm arası yara
3a	>10cm yara, minimal periosteal sıyrılma
3b	Yumuşak doku örtümü gereken >10cm yara
3c	Onarım gerektiren vasküler hasarın eşlik ettiği kırık



Resim-3: Kırık tipleri(19)

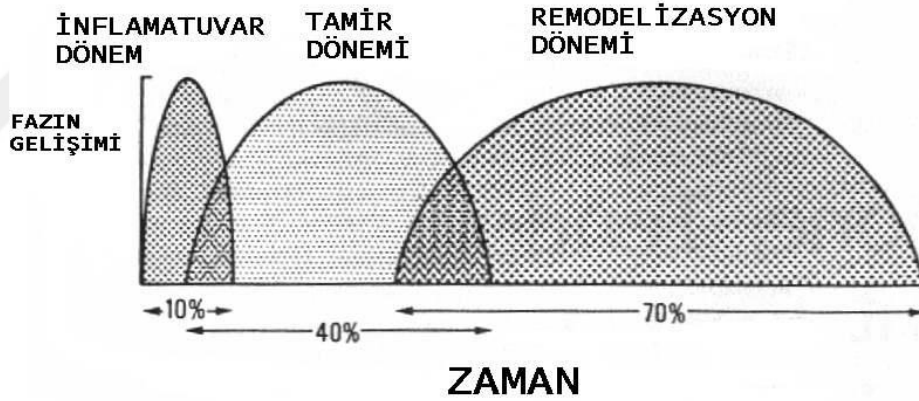
Kırık İyileşmesi

Kırık yaralanma anından başlamak üzere diğer dokulardan farklı olarak skar bırakmadan eski haline en yakın düzeye gelene kadar devam eden bir süreçtir. Uygulanan tedavi kemiğin kırığa vereceği biyolojik cevabı

değiştirir. Kırık iyileşmesi primer(birincil) kırık iyileşmesi ve sekonder(ikincil) iyileşme olarak iki şekilde gerçekleşebilir(22, 23, 24).

Birincil kırık iyileşmesi genellikle eklem içi kırıklarda yapılan anatomik ve sağlam tesbit sonrası gözlenir. Bu tip kırık uçları arasında dış kallus dokusu görülmez. Temas halindeki kırık uçlarında osteonların direk ilişkisi ile yeni lamellar kemik oluşumu söz konusudur. Kırık uçlarındaki nekroz osteoklastlar tarafınca rezorbe edilip buraya gelen osteoblastlar tarafından yeni kemik oluşumu başlatılır. Kırıkta süreç bu tip kırık iyileşmesinde görülmez(19, 25, 26).

İkincil kırık iyileşmesi yaralanmadan hemen sonra başlar ve yeniden şekillenme döneminin tamamlanmasına kadar devam eder. Travma sonrası kırık bölgesinde erken dönemde çarpışma sonucu hematoma gelişir. Hematom oluşumunu indüksiyon, inflamasyon, yumuşak ve sert kallus süreçleri ile yeniden şekillenme dönemi takip eder(19).



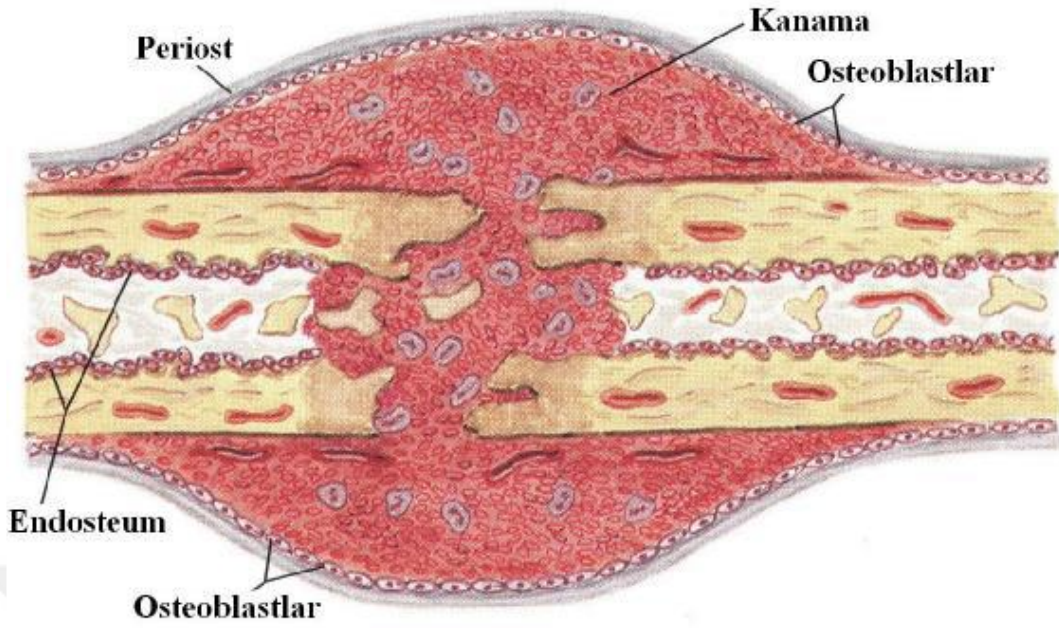
Resim-4 : Kırık iyileşmesinin fazları

Çarpışma sırasında kemik enerjiyi absorbe eder. Bu sırada medullar ve periostal kan damarlarının yırtılması ile hematoma oluşur. Kırık alanına inflamatuvar mediatörler toplanmaya başlar(19).

İndüksiyon evresi embriyonik dönemdeki kemik oluşumuna benzerlik gösterir. Kırık sonrası ilk birkaç dakika ile saatler arasında indükleyici olayların başlaması klinik ve laboratuvar göstergeler ile tesbit edilebilir. Bu evre morfogon ve büyüme faktörlerinin salınımını, pluripotent hücrelerin

aktivasyonunu, yeniden damarlanmayı, oksijen basıncını ve pH değişikliğini içine alan karmaşık bir olaylar zincirini kapsar(19).

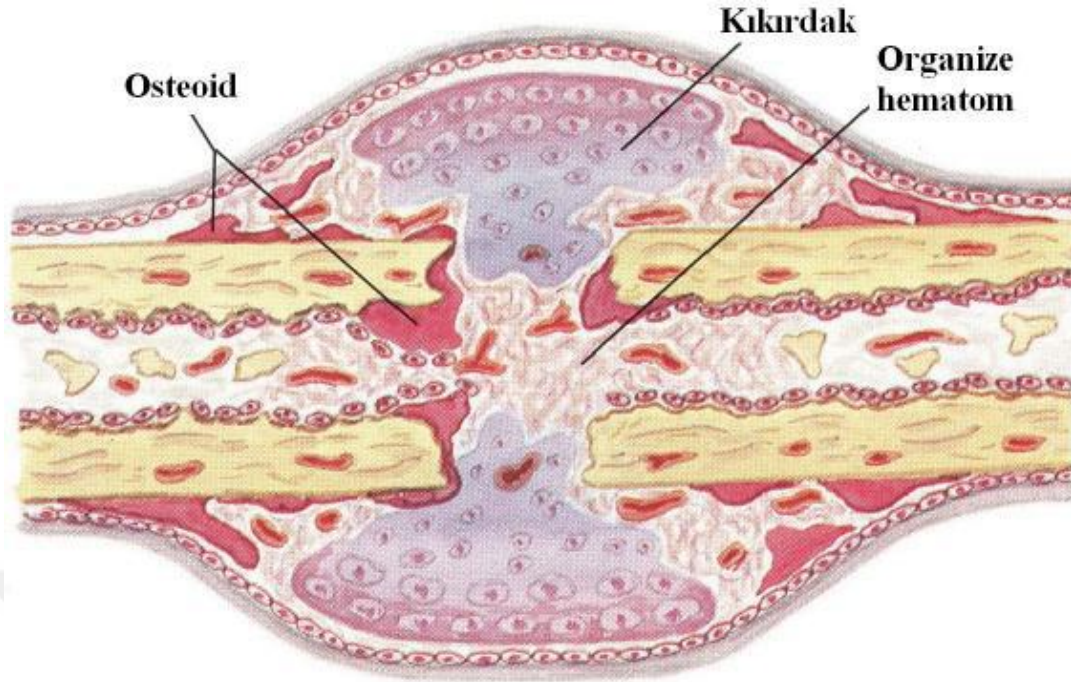
İnflamasyon süreci erken hematoma oluşumu ile başlar. Bu hematoma oluşumundan sorumlu olan damarlar aynı zamanda osteositleri besleyen damarlar olduğu için bunun sonucunda osteositlerin ölümü gerçekleşir. Hücrelerin ölümü ve buradaki trombositler damarlarda vazodilatasyona, bu da ödeme yol açar. Hematomdaki trombosit, fagosit, damar endotelinden salgılanan epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β), kemik morfojenik protein (BMP), ve İnterlökin-1, 6 (IL-1, IL-6) gibi bazı sitokinler pluripotent mezenkimal hücre göçü, periosteal hücre çoğalması ve onarım dokusunun matriks sentezi için gereklidir(22,25,27). Proinflamatuvar moleküller, yaralanmayı izleyen 24 saat içinde zirve yapar ve sonrasında 72 saat içerisinde en alt düzeye inerler. Aynı zamanda büyüme faktörleri ve önemli sinyal molekülleri hemen o bölgede belirerek mezenkimal kök hücrelerin akımına ve çoğalmasına neden olur(21). Bu bölgeye göç eden hücrelerden salınan sitokinlerin yardımı ile anjiogenez başlar(25). Erken dönemde perioste kökenli kapiller tomurcuklanma ile oluşan damarlanmada artış fazlayken geç dönemde medüller besleyici arterler ön plana çıkar (Resim-5) (19). Bu sebeplerden dolayı ikincil kırık iyileşmesi için kırık hematoma büyük önem arz eder. Açık kırıklarda kaynamama oranlarının fazla olmasında kırık hematoma dışarıya akması önemli risk teşkil eder.



Resim-5: Kırık iyileşmesinde inflamasyon safhası: Travma sonrası intraosseöz, periosteal ve çevre kan damarlarının yaralanması sonucu hematoma oluşur. Kırık kenarlarındaki kemik nekroze olur. Lökositler, makrofajlar, mast hücreleri ve fibroblastlar pıhtıya infiltratör olur ve nekroze kemiği uzaklaştırmaya başlarlar (19).

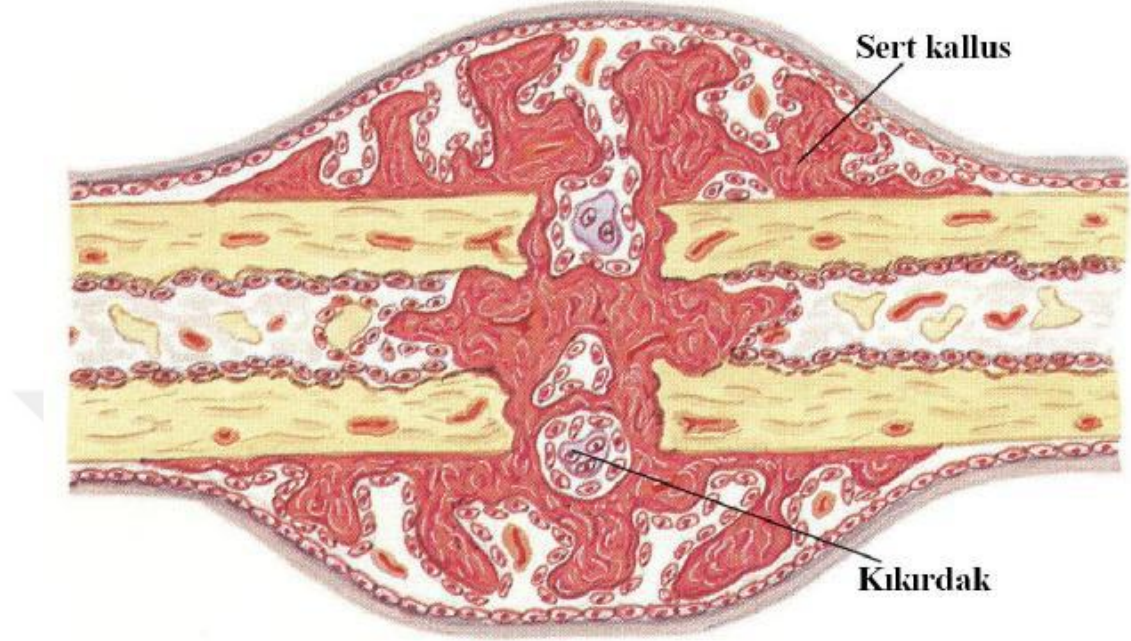
Kırık sonrası birkaç gün içinde başlayabilen ve birkaç hafta sürebilen bir sonraki evre ise erken kallus evresidir. Bu evre damarlanma, kırıkta yapıcı mezenkimal kök hücrelerin çoğalması, kondrositlere farklılaşması ve kırıkta özgü ara madde proteinlerinin ortaya çıkması ile karakterizedir. Kırıkta yapıyı, işlevsel olarak altı faza bölünebilen çok evreli bir süreçtir. Mezenkimal hücre çoğalması, mezenkimal hücre yoğunlaşması, kondrosit oluşumu, kondrosit olgunlaşması, hipertrofik farklılaşma ve apoptoz. Kırıkta kallusun oluşumu, yalnızca kırık alanına acil mekanik destek sağlamakla kalmaz, aynı zamanda yeni kemik oluşumunda uzaysal geometri kurulmasını da sağlar. Kırıkta kallus; kollajenler, hiyaluronik asit, sülfatlı proteoglikanlar (agregan) gibi pek çok farklı hücre dışı ara madde proteinlerinden oluşur (21). Yumuşak kallus yani erken kallus döneminde dıştan periosteal kallus gelişimi söz konusu iken iç bölgede endosteal kallus oluşumu gerçekleşir. Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olarak fibrin içerikli bir yapı ortaya çıkar. Burada fibrinojene lizin, fenilalanin, gamaglobülin ve albümin eklenmesi ile fibrin oluşur. Fibrin ağında kemik

yapımı için gerekli olan hücreler yerleşerek çoğalırlar.Kırık iyileşmesi olayında rol oynayan hücreler, mezanşimal kökenli puliripotent hücreler olup kırık bölgesindeki granülasyon dokusunundan, periostun osteojenik tabakasından ve endosteal bölgeden köken alır.Üçüncü günde kırık uçlarında yoğun biçimde mezenşimal hücre bulunur ve bu hücreler yumuşak granülasyon dokusunu oluşturur. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalması sonucu granülasyon dokusu şekillenir. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan sentezler. Kemiğe yakın olmayan, orta kısımdaki hücreler dolaşım yönünden fakir bir sahada olduğu için mezenkimal hücreler daha çok kondroblast ve kondrositlere farklılaşarak kırık dokuyu oluştururlar. Kanlanmanın yeterli olduğu bölgedeki hücreler ise osteoblasta farklılaşarak yeni trabekülleri oluşturur. Böylece en dış tabakada kırık dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücrelerin faaliyeti ile kemik, orta tabakada kırık doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Kırık uçlarından gelişen yakalık tarzındaki bu doku zamanla birleşerek dış kallusu oluşturur. Endosteum ve kemik iliğinin osteojenik hücrelerinden gelişen trabeküller sayesinde medullanın köprülenmesi gerçekleşir ve bu şekilde iç kallus şekillenir. Zamanla kırık yapı ortama hakim olur. Angiogenez ve kanlanmanın yeterli olması durumunda osteoblastlar kallus içerisinde yeni kemik matriksi sentezler(19,27)(Resim-6).



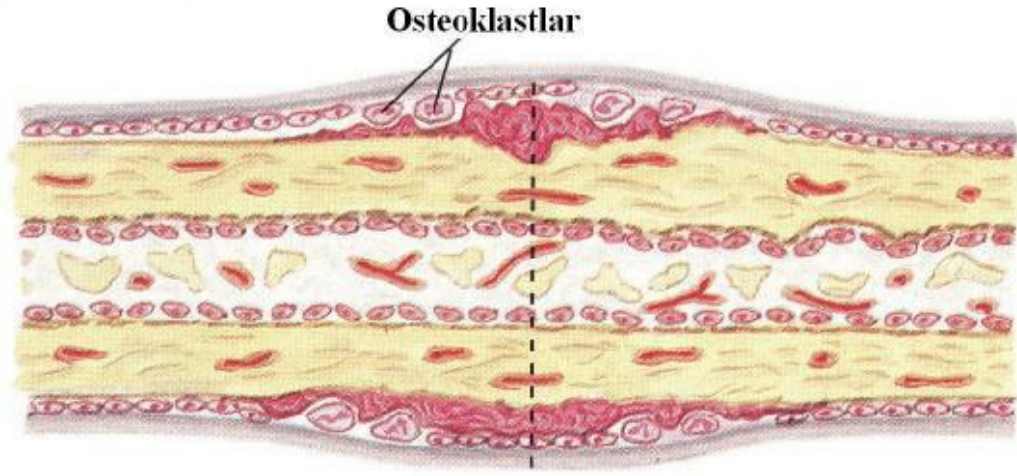
Resim-6: Kırık iyileşmesinde yumuşak kallus oluşma evresi: Pıhtı kollajen lifleri ve damarsal yapılarla organize edilir. Yeni damarlar oluşur. Osteoprogenitör hücreler, preosteositler ve periost kaynaklı osteoblastlar ile endosteum oluşur. Mezenkimal kökenli osteoblastlar ve kondroblastlar da pıhtıda görülmeye başlar. Yumuşak kallusu kıkırdak, osteoid ve kollajen karışımı oluşturur (19).

Kırık oluşundan yaklaşık 4 hafta sonra meydana gelen kıkırdak kalsifikasyonu sonrası yumuşak kallustan sert kallusa geçiş gerçekleşir. Osteoblastlar tarafından salgılanan matriks vezikülleri yüksek oranda fosfat iyonu, kalsiyum iyonu, siklik adenzin monofosfat(cAMP), adenzin trifosfat(ATP), pirofosfataz, fosfoserin ve kalsiyum bağlayıcı protein yumuşak kallusun kalsifiye olmasında rol alır. Pirofosfatlar, pirofosfataz ile parçalanır ve mineralizasyon başlar. Kalsiyumun çökmesi için gereken fosfat, alkalin fosfataz aracılığı ile sağlanır. Kalsifikasyon sırasında matriks içerisinde bulunan osteoblastlar osteositlere dönüşerek trabekülleri oluşturur. Kondrositler kalsifiye doku içerisinde kaldıkları için difüzyonla beslenemezler ve hücre ölümleri gerçekleşir. Kondrositlerin ölümü sonrası oluşan lakunalar içerisine kapiller damar ve kemik hücreleri girer. Oluşan kallus, zamanla olgun lamellar kemiğe dönüşür(19,27)(Resim-7).



Resim-7: Kırık iyileşmesinde sert kallus oluşma evresi: medüller, periostal ve eksternal yumuşak kallus, sert kallusa dönüşürken mineralize olur (19).

Sert kallus oluşumundan sonra en son faz olan yeniden şekillenme evresi başlar. Bu dönemde kallus dokusu rezorbe olur ve immatür kemik olgunlaşarak lamellar kemiğe dönüşür. Bu sırada kemiğin şekli ve medüller kanal yeniden restore edilir. Wolf kanunu olarak da bilinen: mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzünde pozitif, konkav yüzünde ise negatif elektrik yükleri hakim olur. Pozitif yük osteoklastik aktiviteyi artırarak konveks yüzde kemiğin rezorpsiyonuna, negatif yük ise osteoblastik aktiviteyi uyararak konkav yüzde yeni kemik oluşumuna yol açar. Böylece yeni kemiğin şekillenmesi tamamlanarak sekonder kemik iyileşmesi tamamlanmış olur(19,27,28).



Resim-8: Kırık iyileşmesindeki kemik remodelizasyon evresi: osteoblastik ve osteoklastik aktivite sert kallusu lamellar kemiğe dönüştürür. Normal kemik konturları oluşur, hatta açılanma kısmi veya tam olarak düzelir (19).

Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler genel ve bölgesel olarak ikiye ayrılır.

Genel Faktörler

Çocuklarda kırık iyileşmesi daha hızlı olur. Bu hız iskelet matüritesi tamamlandıktan sonra yavaşlar. Ayrıca aksiyel rotasyon hariç çocuklarda mükemmel bir yeniden şekillenme kapasitesi mevcuttur(28).

Beslenme bozukluğu kırık iyileşmesini bozan faktörler arasında yer alır(28).

Non steroid antiinflamatuvar ajanların prostoglandin sentez inhibisyonu yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir(29,30)

Kortikosteroidler inflamatuvar fazı bozarak kırık iyileşmesini geciktiren ilaçlardır. Osteoblastların gelişimini yavaşlatıp, matriks protein sentezini azaltarak kırık iyileşmesini yavaşlatırlar(18,28,29).

Maligniteler kırık iyileşmesini inhibe ederek kemik iyileşmesine negatif olarak etki ederler(29).

Paget hastalığı, osteopetrozis, osteomalazi, gaucher hastalığı v.b. sistemik tutulum yapan genetik ve metabolik hastalıklar kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilerler(19).

Parathormon kemiğe doğrudan etki ederek kemik rezorpsiyonunu artırır. Kemik kaybını arttırmakta ve kırık kaynamasını yavaşlatmaktadır.

Kalsitonin ise trabeküler ve kompakt kemik yapımını artırır. Osteoblastik aktiviteyi arttırmalarının yanında kemik rezorpsiyonun azaltırlar(31,32)

Vitamin A mezenşimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesini olumlu etkiler. Ancak eksikliğinde kemik oluşumu yavaşlar ve epifizyel kırıldak gelişimi azalarak encondral büyüme durur. Fazlalığında ise hücre farklılaşması yavaşlar ve kırıldakta erezyon gelişir. Vitamin D eksikliğinde Ca^{+2} düzeyi düşer ve kalsifikasyon zayıflar. Kalsiyumun kemikten

kana salınımı artar. Normal dozlarda kırık iyileşmesini uyarır. Yüksek dozda kırık iyileşmesini olumsuz etkiler. Vitamin C kırık iyileşmesinde ve kırıkta şekillenmesinde etkindir. Kollajen sentezini uyararak kırık iyileşmesini olumlu etkiler (33). Eksikliğinde ise kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir. Vitamin E kırık hematomunda oluşan serbest oksijen radikalleri üzerine antioksidan etkinliği olduğu gösterilmiş olup erken dönemde kırık iyileşmesine olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir (34)

Kafa travması olan hastalar aşırı kallusla iyileşirler ancak bu aşırı kallusun yanında artmış heterotopik ossifikasyon riski mevcuttur(19).

Yapılan son çalışmalarda sigara içmenin kırık iyileşmesini kötü yönde etkilediği ve kaynamama için önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir(28,29).

Zolendronate(bifosfanat grubu ilaç grubunda) kemik yapımını özellikle metafizer bölgede uyararak kemik hacmini artırır(35).

Yapılan çalışmalarda testesteronun kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir(36).

Bölgesel Faktörler

Kırık hattının fazla hareketli olması hematomun bütünlüğünü bozarak damarlanmayı bozar. Aynı zamanda kallus köprüleri oluşumunu engelleyerek kaynamanın gecikmesine ya da olmamasına yol açabilir(28).

Kırık uçları arasında ayrışma kırık uçları arasına yumuşak doku girmesi sebebiyle oluşabilir. Bu durum kaynamaya olumsuz yönde etkiler. Bu duruma redüksiyon sırasında ya da eksternal fiksator uygularken kırık uçlarını fazla distrikte ederek de yol açılabilir(28).

Kemiğin kan desteğinin bozulması kırık iyileşmesini negatif yönde etkileyen faktörlerden biridir. Femur boynunun intrakapsüler kırıkları ya da skafoid kırıkları gibi kemiğin beslenmesini, arterlerin terminal dallarından sağlayan kemiklerin yüksek enerjili aksiyel kompresyona bağlı kırıklarında beslenmeleri bozulup, kırık kaynaması gecikebilir(28).

Kemiğin kanlanması yanı sıra yapı özelliğinin de kırık kaynamasını etkilediği bilinmektedir. Üst ekstremitte kırıkları alt ekstremitte kırıklarına göre daha hızlı iyileşirler. Örneğin klavikula kırıkları daha hızlı iyileşmeye meyilli iken tibia kırıkları daha yavaş iyileşirler(28).

Kırık tipi kırık kaynamasına etki eder.Segmenter kırıklarda intramedüller kanlanma bozulduğu için kırık iyileşmesi olumsuz yönde etkilenir. Spiral ve oblik kırıklarda temas yüzey alanı fazla olduğundan transvers kırıklara göre daha iyi kaynar(19,28).

Enfeksiyon kırık kaynamasını bozan önemli faktörlerdendir. Bu durumda inflamatuvar fazda uzama gözlenir. Hücresel aktivite kırık kaynaması yerine enfeksiyon ile savaşmaya yönelir (28).

Düşük yoğunlukluultrason kırık iyileşmesini hızlandırır. Kallus dokusunun sertliğini arttırarak mekanik direncini artırır(28).

Radyoterapinin lokal olarak uygulanması sonrası hücre ölümü, damarlarda tromboz oluşumu ve kemik iliğinde fibrozis gelişmesi sonrası kırık iyileşmesinin gecikmesi veya durması gözlenir(19,37). Lokal olarak uygulanan embriyonik mezenkim dokusu kırık iyileşmesine olumlu katkı sağlar(38).

Selenyum

Selenyum vücut için gerekli eser elementlerden biridir. Hem kadınlar hem de erkekler için günlük 55µg diyetle alımı önerilir. Selenyum çeşitli fizyolojik süreçlerde selenoenzimlerin yapısına katılarak rol oynar(39). Selenyum eksikliğinin büyüme geriliği ve kemik metabolizmasında değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir(40,41). Düşük selenyum alımının kemik hastalıkları için yüksek risk oluşturduğu belirtilmiştir(41,42,43,44).

Fetal osteoblastlarda 9 adet selenoprotein sentezlendiği bilinmektedir(45). Kemik hücreleri tarafından sentezlenen bu selenoproteinler kemik mikromimarisinin oksidatif strese karşı savunmasına katkıda bulunmaktadır. Kemik illiği hücrelerindeki fazla miktarda serbest oksijen

radikallerinin, osteoblastik differansiasyonu etkileyerek osteoporoz oluşumuna etki ettiği düşünülmektedir(46).

Glutasyon peroksidaz-1 ve tiyoredoksin redüktaz selenyum bağımlı antioksidan enzimler olup, selenoproteinler grubunda yer alırlar(47-49). Normal metabolizma sırasında bu enzimler hidrojen peroksiti(H_2O_2) yıkarlar. Lipid peroksidaz tarafından oluşturulan serbest oksijen radikallerini parçalarlar(49,50). Selenyum eksikliğinde oksidatif streste artış sonucu serbest oksijen radikallerinin miktarında yükselme meydana gelmektedir(49,51). Aynı zamanda oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri osteoklast aktivasyonu yaparak kemik rezorbsiyonuna neden olmaktadır(52-54).

Kırık iyileşmesinin inflamatuvar evresinde polimorf nüveli lökositlerden serbest oksijen radikalleri salınır(55). Selenyum dokuları serbest oksijen radikallerine karşı koruyan enzimlerin yapısında bulunur.

Bu çalışmada selenyumun kuvvetli bir antioksidan olması ,osteoblastik aktivasyon yapması ve osteoklastik inhibisyon yapması gibi özelliklerinin ratlarda oluşturulan kırık modelinde kaynama üzerine nasıl bir etki oluşturacağı araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 02.02.2016 tarihli toplantısında 2006-02/01 sayısı ile verdiği etik kurulu onayı ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının izni ile Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden alınan kiloları 250-400 gr arasında değişen ve 3 aylık olan 42 adet Wistar albino rat üzerinde gerçekleştirildi.

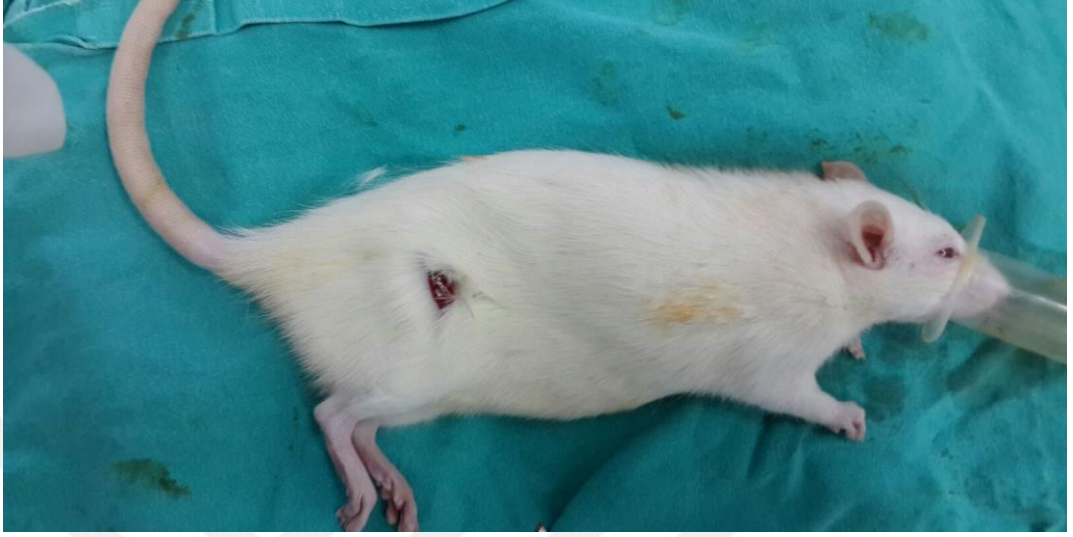
Çalışma Planı-Cerrahi Teknik

Hayvanlar her grupta 14 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Birinci grup düşük doz selenyum verilen grup(S1), ikinci grup yüksek doz selenyum verilen grup(S2), üçüncü grup ise kontrol grubu(K) olarak ele alındı. Tüm hayvanlara sevofluran ile inhalasyon anestezisi kullanarak anestezisi verildi. Sterilizasyon öncesi tüm ratlar traş edildi. Daha sonra hayvanlar sağ arka bacakları yukarıda kalacak şekilde yatırıldı(Resim-8).



Resim-9: İdame doz sevofluran anestezisi altında sağ arka bacağı yukarıda kalacak şekilde yatırılmış rat

Uyluk lateralinde yapılan 2 cm lik insizyon sonrası cilt ciltaltı geçildi(Resim-9).



Resim-10:Rat femuruna ulaşmak için yapılan cilt kesisi

Vastus lateralis kası küt disseksiyonla geçilerek femura ulaşıldı(Resim-10).



Resim-11: Eksplore edilmiş olan rat femuru

Kemik üzerinde 1 mm kirschner ile yer yapıldı ve ince doku makası yardımı ile transvers kırık oluşturuldu(Resim-11). Kırık oluşturulmasını takiben kırık hattından 1mm kalınlığında kirschner teli yerleştirilip retrograd yöntemle önce proksimale sonra distale ilerletilerek fiksasyon sağlandı.



Resim-12:Transvers kırık oluşturulması

İnsizyon yeri serum fizyolojik ile yıkamayı takiben pirmer dikildi. Pansuman sonrası yara açık bırakıldı.

Ameliyat sonrası ilk günden başlamak üzere S1 grubuna(Düşük doz selenyum verilen grup) günlük 0,2mg/kg/gün; S2 grubuna (yüksek doz selenyum verilen grup) ise 0,4mg/kg/gün selenyum intraperitoneal olarak 10 gün boyunca enjekte edildi. Kontrol grubuna sadece standart rat yemi ve su verildi. Daha sonra her gruptan 7 rat ayrılarak erken dönem kırık iyileşmesi bakılması planlanarak 14.günde sakrifiye edildi. Ratlar önce kalça ekleminde daha sonra da diz ekleminde dezartiküle edildi. Yumuşak dokular kallus dokusuna zarar vermeyecek şekilde uzaklaştırıldı. Aynı işlem kalan ratlara da 28.günde uygulandı. Kırık radyolojik ve histopatolojik olarak incelendi.

Radyolojik İnceleme

Ratların dezartiküle edilen alt ekstremilerinin ön-arka ve yan grafileri çekildi. Bu grafilere 2 ayrı ortopedist tarafından değerlendirilerek Lane ve Sandhu'nun (56) radyolojik skorlama sistemi ile skorlama yapıldı(Tablo-3).

Tablo-3: Radyolojik skorlama sistemi

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

Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme için erken ve geç dönemlere ait kontrol, S1 ve S2 gruplarının kırık bölgesini içeren örneklerin %10'luk formaldehit solüsyonunda fiksasyonu sağlandı. Takiben %10'luk formik asit solüsyonu içinde dekalsifikasyon işlemi gerçekleştirildi. Örnekler dehidrasyonu takiben parafin bloklara gömüldü. Rutin takip işlemleri sonrası 4 µm lik kesitler alınarak Hemotoksilen-Eozin(HE) ve Masson's Trikrom histokimyasal boyaması uygulandı ve ışık mikroskopunda incelendi. İyileşmenin histolojik olarak sınıflaması Huo ve arkadaşlarının(57) yayınladığı kırık iyileşmesinin histolojik skalasına göre yapıldı.

Tablo-4:Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde puanlama sistemi

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

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek değerler kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel verilerin analizinde Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanılmıştır..

BULGULAR

Deney sırasında S2 grubundan 1 hayvanda kirschner telinin distale doğru ilerlemesi ve dizden çıkması nedeni ile enfeksiyon gözlemlendi. Kırık hattının da stabilitesinin bozulması nedeni ile bu hayvan çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol ve S1 grubundan birer hayvanda yara yerinde enfeksiyon gözlemlendi. Pansumanla takip edilen bu hayvanlarda ek problem gözlemlenmedi. İntraperitoneal selenyum enjeksiyonu sonrası hayvanlarda herhangi bir yan etki saptanmadı.

Radyolojik Bulgular

Radyolojik değerlendirme iki ortopedist tarafından verilen değerlerin ortalaması alınarak yapıldı (Tablo-5-8).

S2 grubunda erken dönem radyolojik değerlendirme grup S1 ve kontrol grubundan anlamlı($p<0.05$) olarak daha yüksekti. Kontrol ve S1 grubunda erken radyolojik değerlendirme anlamlı($p>0.05$) farklılık göstermemiştir.

S2 ,S1 ve kontrol gruplarında geç dönem radyolojik değerlendirme anlamlı($p>0.05$) farklılık göstermemiştir.



Resim-13 : Yüksek doz selenyum grubu grafisi

Tablo-5: Erken dönem radyolojik değerlendirme 1. ortopedist

Hayvan	Kontrol	S1	S2
1	2	1	2
2	2	2	2
3	1	2	3
4	1	2	3
5	2	3	2
6	2	2	2
7	2	2	-

Tablo-6: Erken dönem radyolojik değerlendirme 2. Ortopedist

Hayvan	Kontrol	S1	S2
1	2	1	2
2	2	1	3
3	1	2	3
4	2	2	3
5	2	3	3
6	2	2	2
7	2	2	-

Tablo-7: Geç dönem radyolojik değerlendirme 1. ortopedist

Hayvan	Kontrol	S1	S2
1	3	3	3
2	3	3	4
3	4	4	3
4	3	4	3
5	3	2	4
6	2	3	3
7	3	3	3

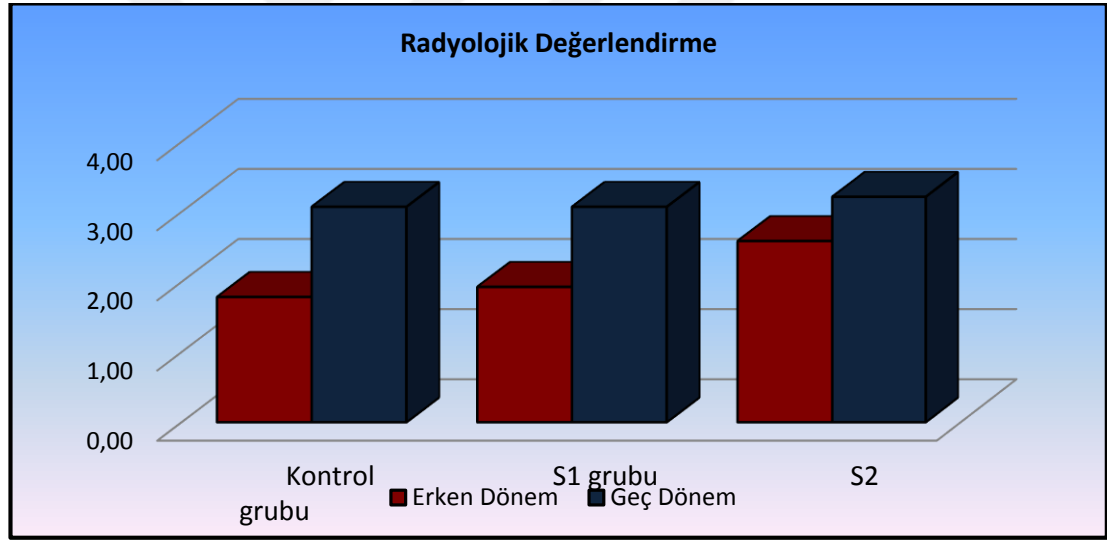
Tablo-8: Geç dönem radyolojik değerlendirme 2. ortopedist

Hayvan	Kontrol	S1	S2
1	3	3	2
2	4	3	4
3	4	4	3
4	3	3	3
5	3	3	4
6	3	2	3
7	2	3	3

Tablo-9 :Radyolojik değerlendirmenin istatistiksel analizi

		Grup I	Grup II	Grup III	p
Radyolojik Değerlendirme					
Erken Dönem	Ort.±s.s.	1,8 ± 0,4	1,9 ± 0,6	2,6 ± 0,5	0,032
	Med(Min-Mak)	2 1,0 - 2,0	2 1,0 - 3,0	3 2,0 - 3,0	
Geç Dönem	Ort.±s.s.	3,1 ± 0,5	3,1 ± 0,5	3,2 ± 0,6	0,855
	Med(Min-Mak)	3 2,5 - 4,0	3 2,5 - 4,0	3 2,5 - 4,0	

Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)



Şekil-1: Ortopedi uzmanlarının verdikleri ortalama puanların dağılım grafiği

Histopatolojik bulgular

Radyolojik incelemenin ardından hazırlanan preparatlar Huo ark.'nın (57) tarif ettikleri kriterlere göre histopatolojik olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede erken dönemde kontrol grubunun ortalama puanı 4,9(minimum 4,0-maksimum 5,0) ,S1 grubunun ortalama puanı 5,3(minimum 4,0-maksimum 6,0) , S2 grubunun ortalama puanı 7,3(minimum 7,0-maksimum 8,0) olarak bulundu(Tablo-7) . Geç dönemde ise kontrol grubunun ortalama puanı 7,9 (minimum 7,0-maksimum 9,0) , S1 grubunun ortalama puanı 7,9(minimum 7,0-maksimum 9,0) , S2 grubunun ortalama puanı 8,3(minimum 8,0- maksimum 9,0) olarak bulundu(Tablo-8).

S2 grubunda erken dönem histolojik skor S1 ve kontrol grubundan anlamlı($p<0,05$) olarak daha yüksekti. S1 grubu ve kontrol grubunda histolojik skor anlamlı($p>0,05$) farklılık göstermemiştir.

S1 grubu, S2 grubu ve kontrol grubu arasında geç dönem histolojik skor anlamlı($p>0,05$) farklılık göstermemiştir.

Tablo-7: Erken dönemde S1 , S2 ve kontrol gruplarında kallus dokularının histopatolojik puanları

Hayvan	Kontrol	S1 grubu	S2 grubu
1	5	4	7
2	5	5	8
3	4	6	8
4	5	6	7
5	5	5	7
6	5	6	7
7	5	5	-

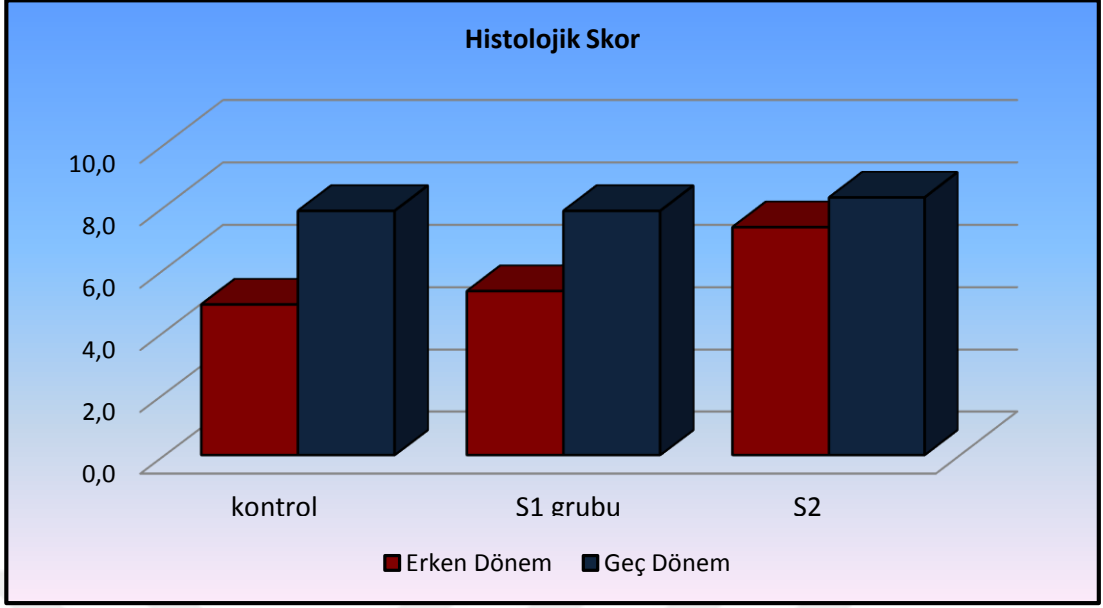
Tablo-8:Geç dönemde S1,S2 ve kontrol gruplarının kallus dokularının histopatolojik puanlaması

Hayvan	Kontrol	S1 grubu	S2 grubu
1	8	7	9
2	8	8	8
3	9	7	8
4	7	8	8
5	8	9	9
6	8	8	8
7	7	8	8

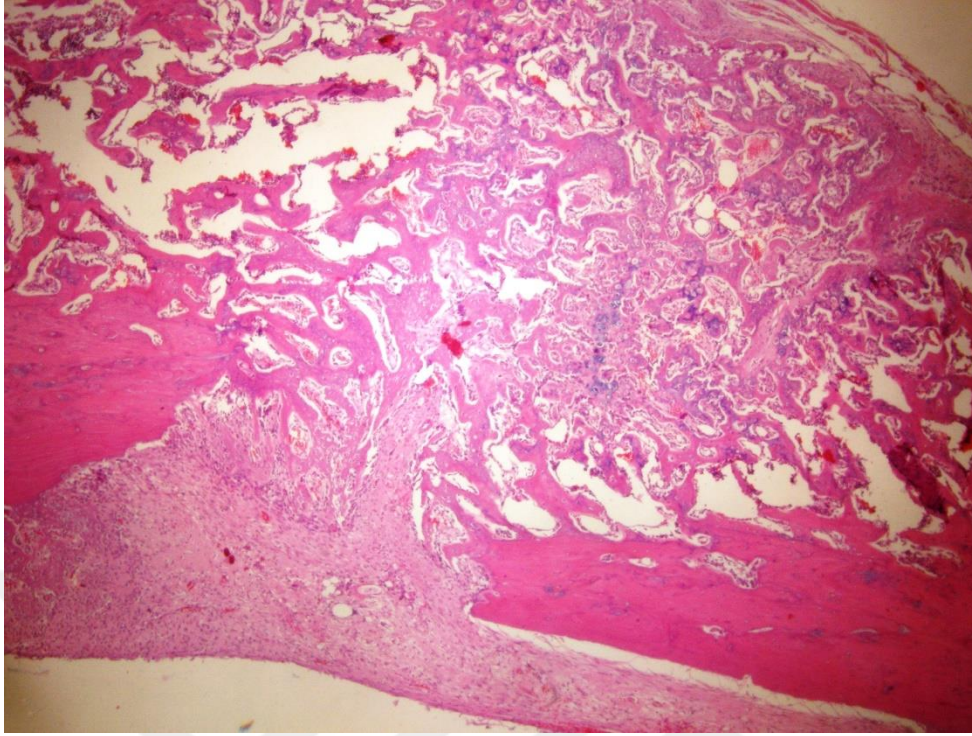
Tablo-9: Histopatolojik değerlendirmenin istatistiksel analizi

		Grup I	Grup II	Grup III	p
Histolojik Skor					
Erken Dönem	Ort.±s.s.	4,9 ± 0,4	5,3 ± 0,8	7,3 ± 0,5	0,001
	Med(Min-Mak)	5 4,0 - 5,0	5 4,0 - 6,0	7 7,0 - 8,0	
Geç Dönem	Ort.±s.s.	7,9 ± 0,7	7,9 ± 0,7	8,3 ± 0,5	0,343
	Med(Min-Mak)	8 7,0 - 9,0	8 7,0 - 9,0	8 8,0 - 9,0	

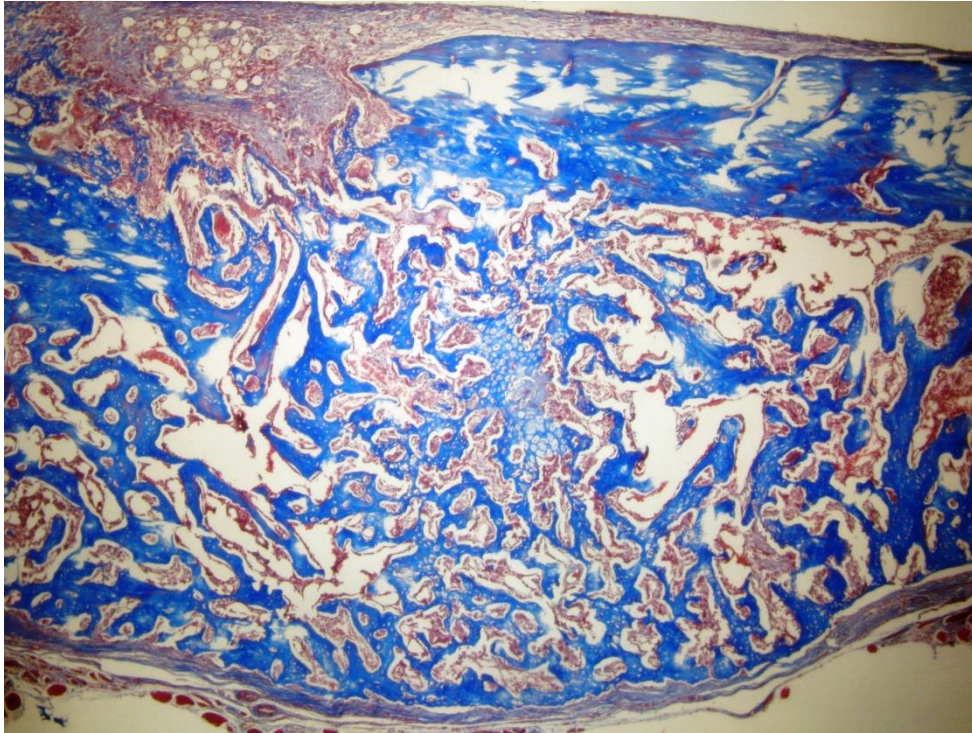
Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)



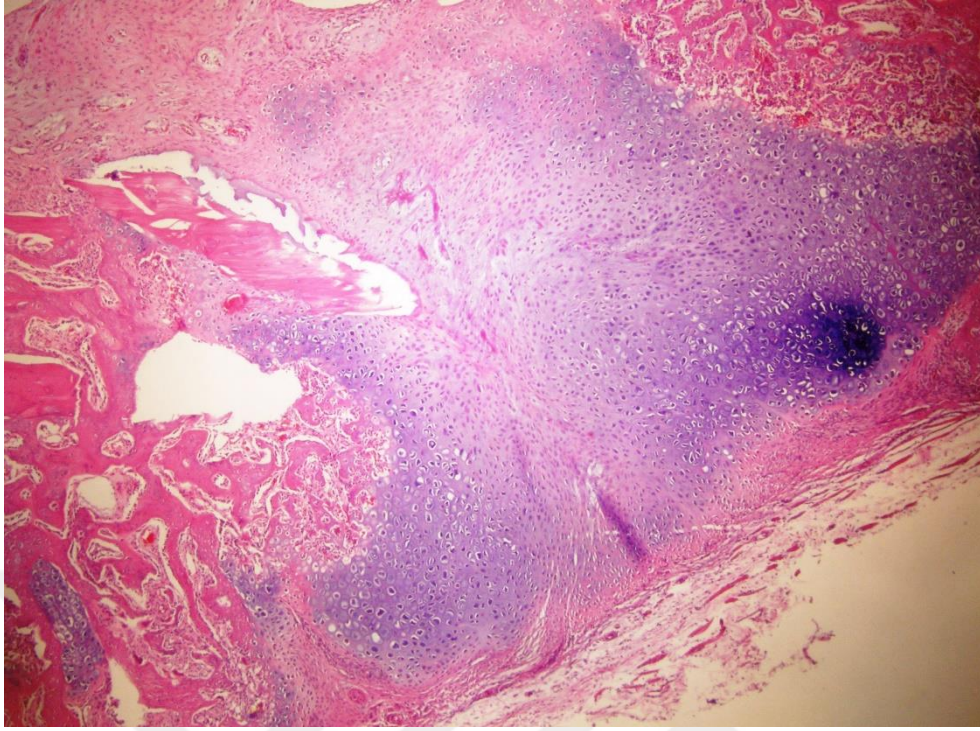
Şekil-2: Grupların histopatolojik olarak değerlendirilmesi



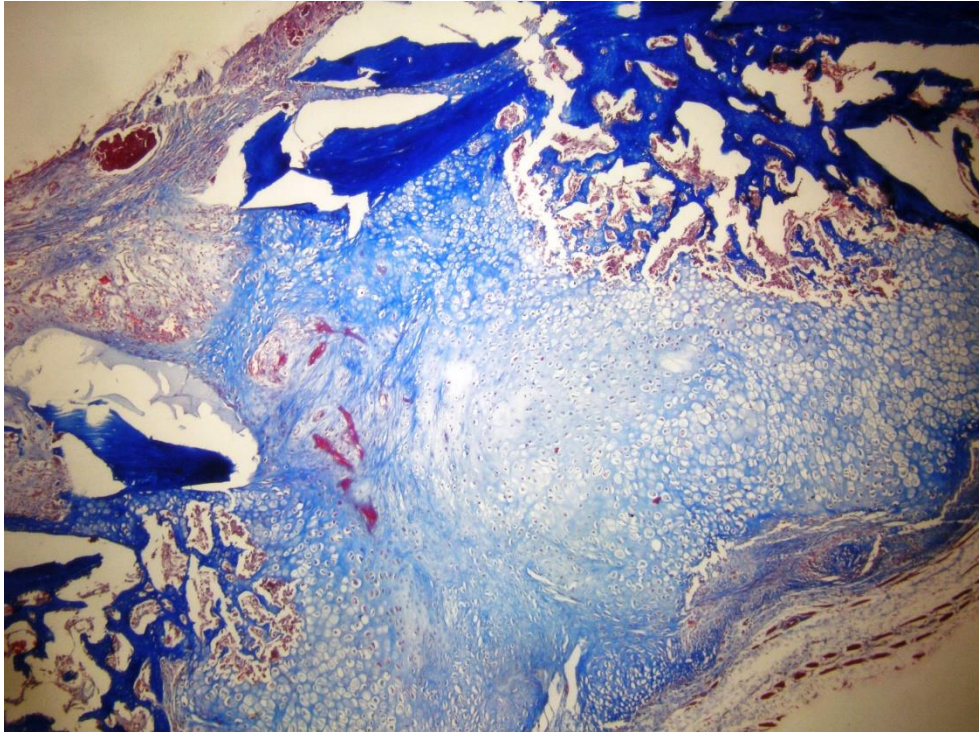
Resim-14: Kırık uçları arasında bir ağ oluşturmuş immatür reaktif yeni kemik trabekülleri(HEX100). Yüksek doz selenyum geç dönem kırık iyileşmesi evre-9



Resim-15:Masson's Trikrom boyamada mavi ile boyanmış reaktif yeni kemik trabekülleri (Masson's TrikromX100).



Resim-16 : Kırık uçları arasında ağırlıklı olarak kıkırdak doku ve az miktarda immatür (woven) kemiktrabekülleri (HEX100).



Resim-17 : Masson's Trikrom boyamada mavi ile boyanmış immatür kemik trabekülleri ve kıkırdak doku (Masson's TrikromX100).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Osteoblastlar ve osteoklastlar kemiğin yeniden şekillenme mekanizması içinde bulunan hücrelerdir. Bu yüzden osteoblastik aktivitede azalma veya osteoklastik aktivitede artma kemik mineral yoğunluğunda azalmaya, kemik kütlesinde azalmaya neden olur. Bu da kemiği osteoporoz ve kırık oluşumuna daha yatkın hale getirir(58,59). Ek olarak yüksek seviyelerde reaktif oksijen ürünleri ve genetik, hormonal birçok faktör osteoporoz oluşumunu ve kırık metabolizmasını etkiler. Reaktif oksijen ürünleri hücreleri oksidatif strese maruz bırakır ve bu durumun doku hasarına neden olduğu bilinmektedir(59,60). Antioksidan olan selenyumun yapılan çalışmalarda endotel hücrelerini hidroperoxidazın yapacağı oksidatif hücre ölümüne karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir(61,62).

Literatürde intraperitoneal olarak verilen selenyumun kırık iyileşmesine etkileri üzerine bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada selenyumun faydalı etkileri göz önüne alınarak kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olabileceği düşünülmüştür. Kemik mineral yoğunluğuna olan olumlu etkisi kırık iyileşmesine de olumlu etki yapabileceği hakkında yol göstermiştir(2).

DeneySEL kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda en çok kullanılan hayvanlar rat, tavşan ve köpeklerdir. Sprague-Dawley tipi ratların femurlarının insan femurlarına göre farklı morfolojik özellikleri vardır. Bu özellikler yüksek baş boyun açısı ,ince korteks ve ince medulla çapıdır. Wistar tipi ratların femurları ise insaninkine daha yakın morfolojiye sahiptir. Bizim çalışmamızda da insan femuru ile benzer özellik göstermesinden dolayı Wistar tipi ratlar kullanılmıştır(63,64).

Hayvanlarda kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda kırık modeli oluşturmak için açık osteotomi veya kapalı kırık tekniği olmak üzere iki ayrı yöntem kullanılmaktadır(63). Çalışmamızda femurda standart kırık oluşturmak amacı ile doku makası kullanılmıştır. Bu yüzden oluşan kırık modeli ve periost defekti bütün hayvanlarda aynı idi. Ayrıca oluşturulan açık kırık

modelinde kırık hattından görerek kirschner teli yerleştirilmesinin femur distalinden artrotomi yapılarak yapılan fiksasyona göre dizde septik artrit görülme riskini oradan kaldırdığı görüşündeyiz.

Ratlara yapılan günlük intraperitoneal enjeksiyonlar her gün aynı saatte ve aynı kişi tarafından yapılmıştır. Bu da hayvanlar üzerindeki stres faktörünü standartize ettiği görüşündeyiz.

Kırık iyileşmesinin radyolojik değerlendirilmesinde literatürde çeşitli sınıflamalar kullanılmaktadır. Çalışmamızda Lane ve Sandhu'nun(56) yaygın olarak kullanılan skorlama sistemi kullanılmıştır. Bulguların iki ortopedi ve travmatoloji uzmanı tarafından değerlendirilmesinin sonuçları daha objektif hale getirdiği düşüncesindeyiz.

Kırık iyileşmesinin histopatolojik değerlendirilmesinde literatürde çeşitli sınıflamalar kullanılmıştır. Allen ve ark(33,65,66) histopatolojik olarak 5 evre bildirmişlerdir. Bu konuda daha ayrıntılı bir yöntem olan Huo ve ark. (57) tarafından tanımlanan evreleme sistemi histopatolojik olarak kırık iyileşmesini 10 evreye ayırmıştır. Biz çalışmamızda Huo ve ark. tarafından tanımlanan evreleme sistemini kullanmış olup bu sistemin daha ayrıntılı ve daha kesin sonuç vereceği görüşündeyiz..

Antioksidanların kırık hematomunda bulunan serbest oksijen radikallerinin etkisini azalttıkları ve kırık iyileşmesini olumlu etkileyebileceği Durak ve ark. (33) ile Sarısözen ve ark.'nın (34) yaptıkları çalışmalarla vurgulanmıştır. Aynı zamanda Turan ve ark. (67) yaptıkları çalışmada selenyum, vitamin c ve vitamin e ile kombine edildiğinde osteoporoza karşı daha etkili olduğu gösterilmiştir. Selenyumun vitamin C ve vitamin E ile kombine edilmesi antioksidan özellikleriyle kırık iyileşmesine daha fazla katkıda bulunabilir.

Çalışmamızda düşük doz selenyum verilen gruba 0,2mg/kg/gün, yüksek doz selenyum verilen gruba 0,4mg/kg/gün verilmiştir. Kırık iyileşmesi de erken dönem ve geç dönem olarak değerlendirilmiştir. Erken dönemde yüksek doz selenyum verilen grupta histopatolojik ve radyolojik olarak kırık iyileşmesi anlamlı olarak daha iyi gözlenmiştir. Geç dönemde ise kontrol grubunun ortalama puanı 7,9, S1 grubunun ortalama puanı 7,9, S2 grubunun

ortalama puanı 8,3 olarak bulundu. Yüksek doz selenyum verilen grubun ortalama puanı daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durumun verilen selenyum dozundan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Verilen selenyum dozunun artırılması sonrası daha anlamlı sonuçlar çıkabileceği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak vücut için gerekli bir eser element olan selenyumun yüksek doz selenyum verilen grupta kırık iyileşmesine olan olumlu etkisi çalışmamızda gösterilmiştir. Bu konunun ileride farklı parametreler göz önüne alınarak değerlendirilmesinin ve araştırılmasının literatüre ışık tutacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Ege R. Kırıkların Etyopatolojisi. Travmatoloji, 4. Cilt, Kadiođlu Matbaacılık, Ankara, 2-61, 1989Kılıçoğlu SS. Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mecmuası 2002; 2: 143-50.
- 2- Cao, J.J.; Gregoire, B.R.; Zeng, H. Selenium deficiency decreases antioxidative capacity and is detrimental to bone microarchitecture in mice. J. Nutr. 2012, 142, 1526–1531.
- 3- Jungueria Carlos L, Carnerio J, Kelley O. Bone. In: Basic Histology. Appleton and Lange, New Jersey, 132-151, 1995.
- 4- 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.
- 5- Mckee MD, Cole WG, Bone Matrix and Mineralization. In: Glorieux FH, Pettifor JM, Jüppner H. (eds) Pediatric Bone 2nd Edition, London Elsevier; 2012: 9-28.
- 6- Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2016: 1092; 385-96.
- 7- Andrew C, Bassed L. Current concepts of bone formation. The Journal of Bone & joint surgery. 1962; 44: 1217-44.
- 8- Loveridge N. Bone: More Than a Stick. J Anim Sci. 1999; 77: 190-6.
- 9- Jahn K, Bonewald LF. Bone Cell Biology: Osteoclasts, Osteoblasts , Osteocytes. In Glorieux FH, Pettifor JM, Jüppner H. Pediatric Bone 2nd Edition, London Elsevier; 2012: 1-6.
- 10- Sommerfeldt DW, Rubin CT. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. Eur spine J. 2001; 10: 86-95.
- 11- Buckwalter AJ, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology part II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. J Bone Joint Surg. 1995; 77: 1276-89.
- 12- Lopes JC, Canhao H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. Acta Reumatol Port. 2007; 32:103-10.
- 13- Karsenty G. The genetic transformation of bone biology. Genes Dev. 1999; 13: 3037-51.
- 14- Netter F.H, Kemiğin Oluşumu ve Yapısı. In: The Netter Collection Of Medical Illustrations. Cilt 8. Kas-İskelet Sistemi. Kısım 1. Anatomi Fizyoloji ve Metabolik Bozukluklar. Arasıl T, Ak KG (Editörler), İstanbul: Güneş Tıp Kitap Evi, 2009: 169-72.
- 15- Saladin K. Bone Tissue, Chapter-7 In: Saladin K. (ed) Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function. 5th.
- 16- Hill PA. Bone remodelling. Br J Orthod. May, 1998; 25: 101-7
- 17- Rodan G.A. Bone homeostasis. Proc. Natl. Acad. Sci. 1998; 95; 13361–62.

- 18-** Manolagas SC, Kousteni S, Jilka RL. Sex steroids and bone. *Recent Prog Horm Res.* 2002; 57: 385–409.
- 19-** Netter F.H, Kırıklar, Dislokasyonlar ve Burkulmalar. İn: *The Netter Collection of Medical Illustrations.* Cilt 8. Kısım 3. Travma, Değerlendirme ve Tedavi. Çeviri Editörleri: Arasıl T, Ak KG. İstanbul; Güneş Tıp Kitap Evi. 2009: 22-27.
- 20-** Sanders DW, Egol KA. Fractures of the ankle and tibial plafond . İn: Boyner MI (eds) . *AAOS Comprehensive orthopaedic review 2.* Rosemont: AAOS press; 2014 . 454.
- 21-** Cannada LK(eds). *Orthopaedic Knowledge Update 11.* Rosemont: AAOS press; 2014, 607.
- 22-** Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: The diamond concept.*Injury*2007; 38:3-6.
- 23-** Wraighte PJ, Scammell BE. Principles of fracture healing. *Acute Care.* 2007; 3; 243-51.
- 24-** Altunatmaz K. Biology of fracture healing and biological osteosynthesis. *J. Fac. Vet. Med.* 2004; 30: 141-7.
- 25-** Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury.* Jun, 2011; 42: 551-5.
- 26-** Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury.* Mar. 2007; 38: 11-25.
- 27-** Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture *Semin Cell Dev Biol.* 2008;19: 459-66.
- 28-** Nyary T, Scammell BE. Principles of bone and joint injuries and their healing. *Surgery* 2015; 33: 7-14.
- 29-** Zura R, Mehta S, Rocca GJD, Steen RG. Biologic risk factors for non union of bone fracture *JBJS reviews* 2016 Jan; 4(1).
- 30-** O'Connor JP, Capo JT, Tan V, Cottrell JA et al. A comparison of the effects of ibuprofen and rofecoxib on rabbit fibula osteotomy healing. *Acta Orthop.* 2009; 80: 597-605.
- 31-** Çetin E, Akgümüş M, Cever İ, Atay ÖF, Bakariş F. Kırık iyileşmesi üzerine kalsitonin hormonunun etkisi. *Exper. Res.* 2000; 11: 179-83.
- 32-** Esenyel M, Bülbül M, Esenyel CE, Kara AE, Bilgiç B. Effect of Calcitonin on Fracture Healing: A Histopathologic and Radiographic Experimental Study. *Turk J Phys Med Rehab* 2005; 51: 6-8.
- 33-** Sarisözen B, Durak K, Dinçer G, Bilgen OF. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. *J Int Med Res.* 2002; 30: 309-13.
- 34-** Durak K, Bilgen OF, Kaleli T ve ark. Antioxidant effect of alpha-tocopherol on fracture haematoma in rabbits. *J Int Med Res.* 1996;5:419-24.
- 35-** Matos MA, Araujo FP, Paixao FB. The effect of zoledronate on bone remodeling during the healing process, *Acta Cir Bras.* 2007; 22: 115-9.
- 36-** Heybeli N, Eroğlu E, Varol R, Mumcu EF. Testesteronun kırık iyileşmesine etkisinin orşiektomize ratlarda oluşturulan femur kırık

modelinde mekanik yöntemlerle incelenmesi. Hacettepe Ortopedi Dergisi. 2001; 71-74.

37- Wraighte PJ, Scammell BE. Principles of fracture healing. *Acute Care*. 2007; 3; 243-51.

38- Bombaci H, Kafadar A, Aker F, Turkmen M. The effect of embryonic mesenchymal tissue on fracture healing. *Acta Ortop Traumatol Turc* 1999; 33: 335-42.

39- Zeng H, Cao JJ, Combs GFJ. Selenium in Bone Health: Roles in antioxidant protection and proliferation. 2013 Jan; 5(1): 97-110.

40- Moreno-Reyes R, Egrise D, Neve J, Pasteels JL, Schoutens A. Selenium deficiency-induced growth retardation is associated with an impaired bone metabolism and osteopenia. *J. Bone Miner. Res.* 2001;16,1556-1563.

41- Cao JJ, Gregoire BR, Zeng H. Selenium deficiency decrease antioxidative capacity and is detrimental to bone microarchitecture in mice. *J. Nutr.* 2012, 142, 1526-1531.

42- Johnson CC, Fordyce FM, Rayman MP. Symposium on 'Geographical influences on nutrition': Factors controlling the distribution of selenium in the environment and their impact on health and nutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 2010, 69, 119-132.

43- Manolagas SC. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: A revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr. Rev.* 2010, 31, 266-300.

44- Zhang J, Munger RG, West NA et al. Antioxidant intake and risk of osteoporotic hip fracture in Utah: An effect modified by smoking status. *Am. J. Epidemiol.* 2006,163, 9-17.

45- Dreher I, Schütze N, Baur A et al. Selenoproteins are expressed in fetal human osteoblast-like cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998, 245, 101-107.

46- Mody N, Parhanmi F, Sarafian TA, Demer LL. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2001, 31, 509-519.

47- Allan CB, Stadtman TC. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu Rev Nutr.* 1999;19:1-16.

48- Zeng H. Selenium as an essential micronutrient: roles in cell cycle and apoptosis. *Molecules.* 2009; 14: 1263-78.

49- Lei XG, Cheng WH, McClung JP. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annu Rev Nutr.* 2007; 27: 41-61.

50- Sunde RA. Molecular biology of selenoproteins. *Annu Rev Nutr.* 1990; 10: 451-74.

51- Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med.* 2005;26:256-67.

52- Lean JM, Jagger CJ, Kirstein B, Fuller K, Chambers TJ. Hydrogen peroxide is essential for estrogen-deficiency bone loss and osteoclast formation. *Endocrinology.* 2005;146:728-35.

53- Bax BE, Alam AS, Banerji B et al. Stimulation of osteoclastic bone resorption by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;183:1153-8.

- 54-** Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO et al. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest.* 1990;85:632–9.
- 55-** Keskin D, Karsan O, Ezirmik N, Çiftiođlu A. Tavşanlarda kırık iyileşmesine alfa-Tokoferol'ün etkisi. *Exper. Res.* 1999; 10; 207-10.
- 56-** Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18: 213-25.
- 57-** Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM, Friedlaender GE. The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res.* 1991; 9: 383-90.
- 58-** Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *NEJM* 1995; 322: 305–311.
- 59-** Sheweita SA, Koshhal K. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Current Drug Metabolism* 2007; 8: 519–525.
- 60-** Finkel T , Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and biology of ageing, *Nature* 2000; 408: 147-239.
- 61-** Thomas JP, Geiger PG, Girotti AW, Lethal damage to endothelial cells by oxidized low density lipoprotein role of selenoperoxidases in cytoprotection against lipid hydroperoxide-and iron – mediated reactions, *J. Lipid Res.* 1993; 34: 479-490.
- 62-** Miller S, Walker SW , Arthur JR et al, Selenite protects human endothelial cells from oxidative damage and induces thioredoxin reductase ,*Clin. Sci.* 2001; 100: 543-550.
- 63-** Öztuna V. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan deneysel hayvan modelleri (Temel ilkeler, etik unsurlar ve modeller). *TOTBİD Dergisi.* 2007; 6: 47-55.
- 64-** Jager M, Sager M, Lensing-Hohn S, Krauspe R: The critical size bony defect in a small animal for bone healing studies(I): Comparativ anatomical study on rats' femur. *Biomed Tech (Berl)* 2005, 50(4): 107-10.
- 65-** Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, Günal Ğ. Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand.* 1995; 66: 473-75.
- 66-** Durak K, Sonmez G, Sarisozen B ve ark. Histological assessment of the effect of alpha-tocopherol on fracture healing in rabbits. *J Int Med Res.* 2003; 31: 26-30.
- 67-** Turan B, Can B, Delilbasi E. Selenium combined with vitamin E and vitamin C restores structural alterations of bone in heparin-induced osteoporosis.

TEŞEKKÜR

BaŐta tez danıŐmanım sayın Prof. Dr.Kemal Durak olmak üzere, uzmanlık eğitimimde emeği geöen tüm Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Ortopedi ve Travmatoloji AD öğretim üyelerine, birlikte çalıŐtıđım araştırma görevlisi arkadaşlarıma, hayatım boyunca bana destek olan annem, babam, kardeŐim ve sevgili eŐime teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

10.08.1987 yılında Kayseri’de doğdum. İlkokul eğitimini Nazilli Beşeylül İlköğretim okulu ve Özel Aydınlık İlköğretim Okulunda tamamladım. Ortaokulu Nazilli Özel Aydınlık İlköğretim okulunda tamamladım. Lise öğrenimini Özel Fatih Sultan Lisesinde aldım. 2004 yılında girdiğim Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Bölümünden 2010 yılında mezun oldum. 2011 yılında başladığım Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ihtisasını 2016 yılında tamamladım

