



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

**İMMÜNNUTRİSYONUN (GLUTAMİN-ALANİN) KIRIK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Abdullah KÜÇÜKALP

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2012



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

**İMMÜNNUTRİSYONUN (GLUTAMİN-ALANİN) KIRIK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Abdullah KÜÇÜKALP

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Kemal DURAK

BURSA-2012

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet	ii
İngilizce Özet.....	iii
GİRİŞ.....	1
Kemik Doku ve Histolojisi	1
Kemik Tipleri.....	4
Kemiğin Oluşumu ve Büyümesi.....	6
Kemik Fizyolojisi	7
Kırık Tanımı ve Tipleri	9
Kırık İyileşmesi	10
Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	16
Glutamin-Alanin	19
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
Çalışma Planı-Cerrahi Teknik.....	22
Radyolojik İnceleme	25
Klinik Muayene	25
Histopatolojik İnceleme	26
İstatistiksel Değerlendirme	27
BULGULAR	28
Radyolojik Bulgular.....	28
Klinik Muayene Bulguları	31
Histopatolojik Bulgular	33
TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKLAR	40
TEŞEKKÜR	47
ÖZGEÇMİŞ	48

ÖZET

Kırık iyileşmesi ile ilgili çeşitli araştırmalar vardır. Glutamin çok sayıda hücre ve organ fonksiyonunda önemli rolü olan bir aminoasittir. Bu çalışmada glutaminin özellikleri göz önüne alınarak, kırık iyileşmesi üzerindeki etkisi klinik, radyolojik ve histopatolojik olarak araştırılmıştır.

Yirmi adet tavşan kontrol ve immünnutrisyon olarak, iki gruba ayrıldı. Deneysel olarak sağ arka ekstremitelerinde fibula kırığı oluşturuldu. Ameliyat sonrası birinci günden itibaren deney grubuna 30 gün boyunca standart tavşan yemi ve suya ek olarak 2 ml/kg/gün %20' lik L-alanil L-glutamin solüsyonu (Dipeptiven, Fresenius Kabi) gastrik sonda ile verildi. Kontrol grubundaki hayvanlar ise standart tavşan yemi ve suya ek olarak gastrik sonda ile 2 ml/kg/gün izotonikle beslendi. Deneyin sonunda tavşanlar sakrifiye edildi. Kırık klinik, radyolojik ve histopatolojik olarak kaynama düzeyleri açısından incelendi.

Radyolojik değerlendirme sonrası kontrol grubunda, ortopedi uzmanlarının ortalama puanı 2,5 radyoloji uzmanlarının ortalama puanı 2,65 olarak saptandı. Klinik değerlendirmede kontrol grubunda ortalama puan 1,875 deney grubunda ise 2,0 idi. Histopatolojik değerlendirmede kontrol grubunun ortalama puanı 8,5, deney grubunun 9,0 olarak saptandı.

Çalışmamızda oral yoldan verilen glutamin-alanin'in bir ay sonunda radyolojik, klinik ve histopatolojik olarak kırık iyileşmesine olumlu etkilerinin olduğu gözlenmekle beraber aralarında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Glutamin, Alanin, İmmünnutrisyon, Antioksidan

SUMMARY

The Effect Of Immunonutrition (Glutamin, Alanine) On Fracture Healing.

There have been various studies related to fracture healing. Glutamine is an amino acid with an important role in many cells and organ function. This study aimed to make a clinical, radiological and histopathological evaluation of the effects of glutamine on fracture healing.

Twenty rabbits were allocated into two groups of control and immunonutrition. A fracture of the fibula was made to the right hind leg. All rabbits received standard food and water and from postoperative Day 1 for 30 days, the study group received an additional 2 ml/kg/day 20% L-alanyl L-glutamin solution (Dipeptiven, Fresenius Kabi) via a gastric catheter, and the control group received 2ml/kg/day isotonic via gastric catheter. At the end of 30 days, the rabbits were sacrificed and the fractures were examined clinically, radiologically and histopathologically in respect of the degree of union.

Radiological evaluation of the control group determined a mean score of 2.5 according to the orthopedists and 2.65 according to the radiologists. In the clinical evaluation, the mean score was 1.875 for the control group and 2.0 for the study group. Histopathological evaluation determined a mean score of 8.5 for the control group and 9.0 for the study group.

One month after orally administered glutamin-alanine, positive effects were observed on fracture healing radiologically, clinically and histopathologically, although no statistically significant difference was determined.

Key Words: Fracture Healing, Glutamin, Alanine, Immunonutrition, Antioxidant.

GİRİŞ

Klasik tanım olarak kemik bütünlüğünün iç veya dıştan gelen kuvvetlerle bozulmasına kırık denir. Kemik dokusu skar oluşturmadan yeniden yapılanma ile iyileşir (1). Kırık iyileşmesi, yaralanmadan hemen sonra başlayıp kırık uçları yeni kemik dokusu ile birleşinceye kadar sürer (2). Kırık tedavisinde güncel yaklaşımlar eklem ve önkol kırıklarında birincil kırık iyileşmesi diğer uzun kemik cisim kırıklarında ise ikincil kırık iyileşmesini amaçlar (3-5).

Kırık iyileşmesinin hızlandırılması için pek çok etken üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Glutamin pek çok kimyasal reaksiyonda, çok sayıda hücre ve organın fonksiyonunda önemli role sahip olan bir aminoasittir. Bunların arasında fibroblast, epitel hücresi, enterosit, lenfosit ve makrofaj gibi hücrelerin enerji kaynağıdır. Ayrıca hücrelerin nükleik asit biyosentezinde en önemli öncü madde olup protein sentezini düzenler. Serbest oksijen radikalleri hücrelerin lipid, DNA, karbonhidrat, protein ve enzim gibi önemli yapıtaşlarını etkileyerek hücre hasarı ve hücre ölümüne yol açarlar. Burada glutamin, dokuları serbest radikal hasarına karşı koruyan ve majör bir antioksidan olan glutatyon sentezinin öncülüğünü de yaparak olumlu etki gösterir (6, 7). Literatürde birçok çalışmada glutaminin yara iyileşmesi ve kritik bakım gerektiren hastalarda olumlu iyileştirici etkileri gösterilmiştir (8-10). Bu çalışmada glutaminin yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi göz önüne alınarak kırık iyileşmesinde de olumlu katkısı olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla deneysel olarak fibula kırığı oluşturulan ve randomize olarak deney ve kontrol gruplarına ayrılan 20 Yeni Zelanda beyazı tavşanda glutaminin kırık iyileşmesine etkisi klinik, radyolojik ve histopatolojik olarak araştırılmıştır.

Kemik Doku ve Histolojisi

Kırık iyileşmesini anlayabilmek ve kırığı olan hastaları tedavi edebilmek için kemiğin yapısının iyice bilinmesi gerekir. Canlılarda kemikler

tıpkı bir kafes gibi çoğu hayati organları korur ve üzerine yapışan kaslar sayesinde bedenin hareket etmesini sağlar. Kemik iliği ise kan hücrelerini sentezler. Bu dokunun içerdiği mineraller birçok kimyasal reaksiyonun yürütülmesi, sıvı elektrolit dengesinin sağlanması ve çeşitli ağır metallerin detoksifikasyonunda rol alır (11-14).

Kemikte hücreler arasında kalsifiye materyal, matriks ve bunun içerisinde ki lakünelarda yerleşmiş olan osteositler, yine matriksin organik kısmını sentezleyen osteoblastlar, kemik doku rezorpsiyonu ve yeniden şekillenmede görev alan çok çekirdekli osteoklastlar bulunur (15).

Kemik matriks birbirleri ile ilişki halinde olan organik ve inorganik bileşenlerden oluşur. Kemiğin kuru ağırlığının % 70'i inorganik % 30 'u ise organik matrikstir (16, 17). Organik bölümün çoğu Tip 1 kollajenden oluşmakla birlikte % 10 oranında da kollajen dışı proteinler yer alır. Bu proteinler; proteoglikan, gamakarboksiglutamik asit (GKGA), osteokalsin, glikoproteinler, plazma proteinleri ve büyüme faktörleridir (18-20). 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. Hidroksiapatit kristallerin üzerinde su ve iyonlardan oluşan ve hidrasyon kabuğu denilen bir tabaka vardır. Bu tabaka ile vücut sıvı-iyon dengesi sağlanır. Aynı zamanda inorganik matriks kemiğin dayanıklılık ve sertliğini sağlamaktadır (17, 21).

Kemik hücreleri hematopietik sistem hücreleri ve mezenşimal kök hücrelerinden oluşur. Hematopietik hücreler monositler, preosteoklastlar, osteoklastlardır. Mezenşimal kök hücreleri ise farklılaşmamış preosteoblastlar, osteoblastlar, osteosit ve kemik çevresi hücreleridir. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler kemiğin endosteal yüzünde, periost ve kemik iliğinde bulunurlar. Bu hücreler büyüme ve transkripsiyon faktörlerinin etkileri ile osteoblastlara dönüşebilirler (16, 22).

Osteoblastalar birbirlerine yapışık halde kemik yüzeyini örter ve organik matriksi üreterek bunun salınımını da yaparlar. Ayrıca ürettikleri matriksin mineralizasyonunu sağlarlar. Kemik mineralizasyonunda ALP (Alkalenfosfataz) enzimi ve Ca^{+2} iyonu rol alır. Bu hücreler bunun yanısıra

Tip-I kollajen, osteokalsin, osteopontin, kemik siyaloprotein ve çeşitli büyüme faktörlerini üretirler. Salgıladıkları büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığı ile osteoklastların rezorpsiyonuna aracılık ederler. Osteoblastların bir kısmı matriks sentezleyen osteosite bir kısmı ise metabolizmasını yavaşlatarak kemik yüzeyini çevreleyen hücre formuna dönüşür (14, 16, 23, 24).

Osteoklastlar hematopoetik mononükleer fagaositik hücrelerden farklılaşır. Bu hücreler kemik yüzeyinde füzyona uğrayarak çok çekirdekli iri yapılı dev hücreli osteoklastları oluşturur. Osteoklastlar asit fosfataz ve çeşitli parçalayıcı enzimler üreterek kemik matriksin yıkımını sağlar ve osteoblastlar tarafından aktive veya inaktive edilirler. Kalsitonin, östrojen hormonu, TGF β , bifosfanatlar osteoklastların etkinliğini azaltırken PTH, D vitamini ve tiroksin bu hücrelerin etkinliğini artırır (14, 16, 23, 25, 26).

Kemik hücrelerinin büyük çoğunluğunu osteositler oluşturur. Bu hücreler osteoblastların kemik matriks içinde dönüşümleri sonucu oluşur. Osteositler çevrelerindeki matriksi absorbe ederek laküna adı verilen boşlukları oluşturur. Bu hücreler lakünaları birbirlerine bağlayan kanaliküller içerisinde uzantılar yaparak komşu osteositlerle ilişki kurarlar. Bu bağlantılar sayesinde kemiğin iç haberleşmesi sağlanır. Besin maddeleri havers kanalı içerisindeki kan damarları sayesinde kanaliküller boyunca laküna içerisine yayılarak osteositlere ulaşır (14, 16).

Mezenkimal kök hücreleri kemik hücrelerine dönüşme yeteneğine sahip olup endosteal, periosteal bölge ve havers kanallarında yer alırlar. Çeşitli uyarılarla osteoblast veya osteoklastlara dönüşebilirler (21, 27).

Kemiğin iç ve dış yüzeyi hücre ve bağdokusundan oluşmuş zarlarla kaplıdır. Kemiği örten içteki zara endosteum, dıştakine ise periosteum denir. Periost iki tabakadan oluşur. Dış tabaka kollajen, elastin ve fibroblastlardan ibarettir. İç tabaka ise hücrelerden daha zengin olup bu tabakada osteoprogenitör hücreler osteoblastlar, fibroblastlar ve sempatik sinirler bulunur. Periosteal hücreler matriks sentezleyerek kemik çapının artmasına yardımcı olurlar. Endosteum ise osteoprogenitör hücreler ile az miktarda bağ dokusundan oluşmuş kemiğin içindeki bütün boşlukları örten bir yapıdır. Periosteum ve endosteum kemiğin beslenmesi, büyümesi ve onarımında

görev aldığından cerrahi uygulamalarda bu dokulara gerekli özenin gösterilmesi şarttır (17).

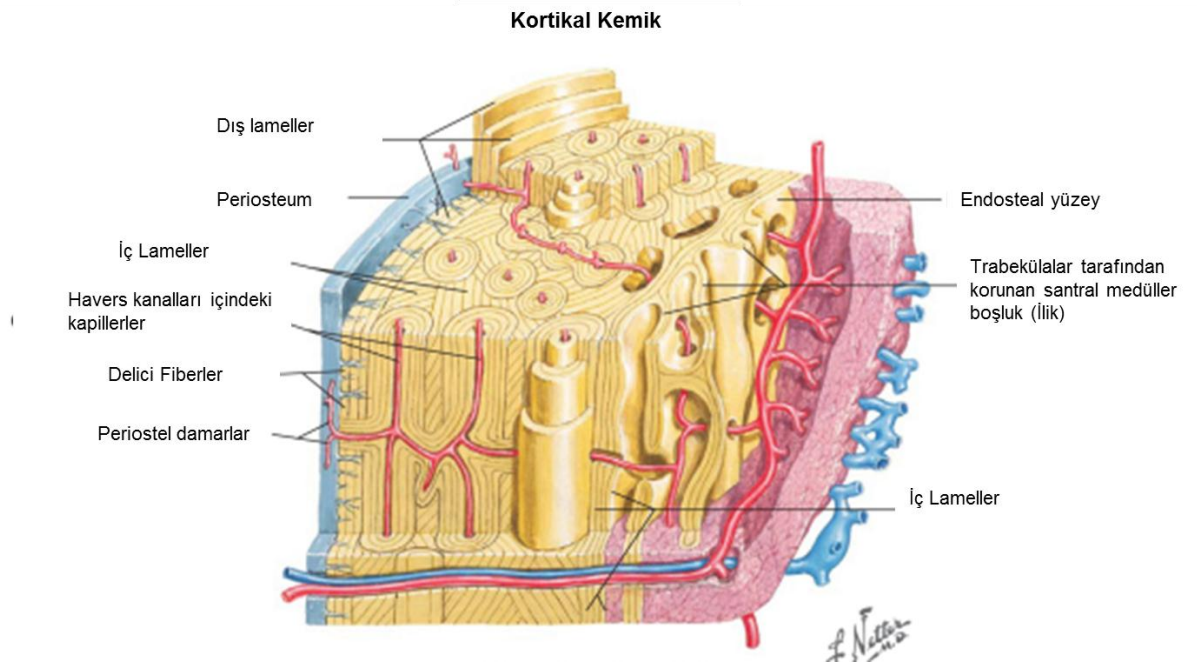
Kemik iliği öncü hücrelerin kaynağıdır. Kırmızı ve sarı ilik olarak iki tipte görülür. Kırmızı kemik iliği hematopoetik olup yaşlanmayla birlikte önce uzun kemiklerde daha sonra diğer kemiklerde sarı iliğe dönüşür. Sarı ilik yağdan zengin ve inaktif kemik iliğidir. Yetişkinde vertebra, kaburga, sternum, pelvis, proksimal humerus ve proksimal femur dışında kırmızı ilik bulunmaz (28-30).

Kemik Tipleri

Kemik dokusu iç yapısına göre, lameller ve örgü olmak üzere iki tiptir (16). Yeni doğanda, kırık iyileşme safhalarında ve büyümekte olan uzun kemik metafiz bölgelerinde örgümsü kemik bulunur. Bu tür kemik dokusu olgunlaşmamış iskeleti oluşturur ve büyüme süreci boyunca yerini lameller kemiğe bırakır. Örgü kemik tipinde kollajen lifler gelişigüzel yerleşmiş olup daha fazla hücre içerdiği için metabolizması daha yüksektir. Ayrıca düzensiz mineralizasyon ve fazla miktarda su içeriğinden dolayı da lamellar kemiğe göre daha yumuşaktır. Lameller kemikte ise kollajen lifler, üzerlerine gelen yüke paralel olacak şekilde dizilmiş olup aralarında sıkı bağlantı vardır ve bu nedenle dayanıklılığı örgü kemikten daha fazladır (17).

Lameller kemik makroskopik olarak kompakt (kortikal) ve spongios (trabeküler) olarak iki tipe ayrılır. Vücuttaki kemik kitlesinin % 80'i kortikal, %20'si trabeküler kemiktir (17). Kortikal kemik osteon (haversian sistem) adı verilen silindirik yapılardan oluşur. Osteonlar her biri 2-3 µm kalınlığında olan santral haversian kanal etrafında yerleşmiş lamelli yoğun tabakalar içerir. Havers kanalları kemiği besleyen damar ve sinirleri barındırır. Volkmann kanalları olarak adlandırılan lateral kanallar ise bir osteondan diğerine kan damarlarını taşır. Osteonlar içerisinde her silindirik lamel arasında uzanan kanaliküller aracılığı ile osteositler arası iletişim sağlanır. Osteositlere oksijen ve besinler bu kanaliküller aracılığı ile ulaştırılır (17, 30). Uzun kemiklerde enine büyüme tamamlandıktan sonra kemiğe gelen zorlanma sonrası

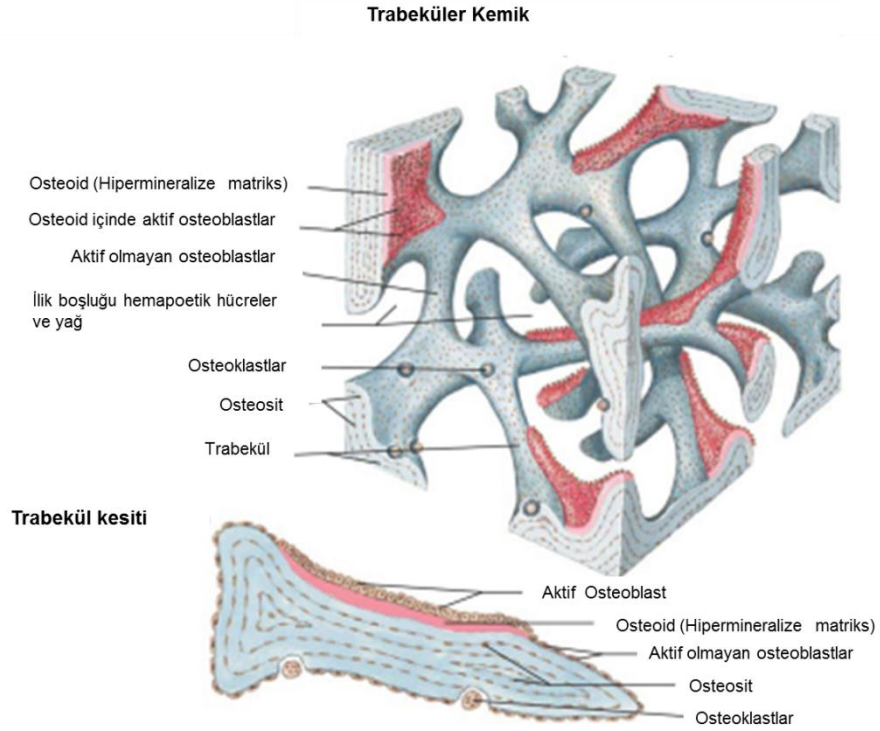
yeniden yapılanma olayı meydana gelir. Bu yeniden yapılanma, osteoklastlar tarafından osteon parçalarının uzaklaştırılması ile başlar. Yeni bir osteon oluşuncaya kadar iç tabakanın dışından yeni lameller depolanır. Olgun kemikte bu döngü sürekli devam eder. Kompakt kemikte ise yeniden yapılanma endosteal, periosteal ve haversian kanal yüzeyinde bulunan kemik hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Periosteum ve endosteumun birlikte aktiviteleri kemiğin korteks kalınlığını, endosteal aktivite ise medüller kanal çapını belirler. Kemik korteks kanlanması medüller kanaldan gelen besleyici arter, periosteal arter, epifiz ve metafizi besleyen arterler tarafından sağlanır (14, 16, 17, 23, 30) (Resim-1).



Resim-1: Kortikal kemik yapısı (17).

Trabeküler (spongiyöz) kemik kortikal kemiğin yoğun yapısının aksine ince uzun ve düzensiz trabeküllerden oluşan sünger şeklinde bir yapıya sahiptir. Kemiğin içindeki her trabekül olgun bir lameller kemiktir. Osteositlerin yerleşimi konsantrik olup kanalikülleri iyi gelişmiştir. Spongiyöz kemiğin geniş yüzey alanından dolayı kemik yüzey/hacim oranı kortikal kemikten 10 kat fazladır. Metabolik aktivitesi kortikal kemikten 8 kat fazla olan bu spongiyöz doku, metabolik kemik hastalıklarından daha fazla etkilenir. Yapısı gözenekli olmasına rağmen sıkıştırıcı güçlere karşı dirençlidir. Trabeküler kemik esas olarak vertebralarda ve uzun kemiklerin uç

kisimlerinde bulunur. Spongiyoz kemiğin büyümesi ve yeniden yapılanması trabekülanın bir kenarındaki osteoblastlar tarafından sağlanır. Osteoblastlar trabekülanın bir kenarında osteoid üretirlerken karşı kenarda osteoklastlar tarafından osteoid doku ortadan kaldırılır. Bu yapım ve yıkım sürecinde kemik içerisindeki trabeküller yer değiştirir. İlerleyen yaşlarda yapım yıkım dengesinin yıkım yönüne kaymasından dolayı kemik kütlelerinde azalma olur (14, 17) (Resim-2).



Resim-2: Trabeküler kemik yapısı (17).

Kemiğin Oluşumu ve Büyümesi

Kemik; kıkırdak matriks üzerine kemik matriksin yerleşerek yer değiştirmesi (enkondral kemikleşme) şeklinde dolaylı, osteoblastlar tarafından üretilen matriksin mineralize olması (intramembranöz) tipinde dolaysız veya mevcut kemiğin üzerine yeni kemiğin birikmesi (appozisyonel) tarzında üç farklı yolla oluşur (17, 23, 30).

Kısa ve uzun kemiklerin oluşması, büyüme sırasında fizis plaklarında gerçekleşen kıkırdaktan kemiğe dönüşüm şeklinde yani enkondral

kemikleşme ile olur. Bu oluşumda önce osteoprogenitör hücreler kondrosite dönüşür ve kıkırdak matriks salgılanır. Oluşan kıkırdak kalsifiye olur ve damarlanması artar. Damarlanmanın artması ile kıkırdakta rezorbsiyon başlar ve kıkırdak içerisinde medüller boşluklar gelişir. Bu boşluklara kan damarları ilerler ve bu yolla gelen osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kalsifiye kıkırdak ve olgunlaşmamış kemik üzerinde yeni kemik matriks yaparlar. Bu immatür kemik osteoklastlar aracılığı rezorbe edilirken osteoblastlar olgun kemik dokusunu oluşturur (17, 23, 30, 31).

Intramembranöz kemikleşmede kıkırdak oluşmadan dolaysız olarak kemik doku gelişir ve yassı kemikler bu şekilde oluşur. Ayrıca intramembranöz kemikleşme uzun kemiklerin kalınlaşması ve kısa kemiklerin büyümesinde de görülür. Distraksiyon osteogenezindeki kemikleşme de bu mekanizma ile olur. Bu kemikleşmede osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek organik matriks sentezler. Organik matriks mineralize olurken osteoblastların bazıları matriks içinde kalarak osteositlere dönüşür. Oluşan bu kemik adacıklarına histolojik görünümünden dolayı spikül adı verilir. Mezenkimal spiküller kemikleşme merkezinde aynı zamanda ortaya çıkıp birleşerek süngerimsi kemik meydana gelir. Spiküllerin arasına kan damarları ve farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesi sonucu kemik iliği oluşur. Kemikleşmeye katılmayan bağ dokusu bölümlerinden endosteum ve periosteum gelişir (17, 23, 30).

Apozisyonel kemik yapımında kemiğin yüzeyinde yer alan osteoblastlar osteoid sentezler ve tabakalar halinde yeni kemik oluşur. Kemiklerin periosteal kalınlaşması bu yolla gerçekleşir (23).

Kemik büyümesi kemikteki yapım yıkım dengesinin yapım lehinde olması ile gerçekleşir. Çocukluk döneminde bu süreç yetişkinlerden daha hızlıdır.

Kemik Fizyolojisi

Kemik dokusu matürasyonunu tamamladıktan sonra metabolik olarak birçok görevi üstlenir (13). Kemiğin büyüme ve yeniden yapılanması devam ederken sıvı elektrolit dengesi de düzenlenir (19, 30).

Çevresel kuvvetler kemiğin içyapısını değiştirebilir. Kemik trabekülleri bası ve çekme gibi kuvvetlerin etkisi altında yapısal dizilim göstererek sayılarını artırır. Wolf yasası da denilen bu yapılanmada kuvvet varlığı kemik yapımını uyarırken kuvvetin ortadan kalkması kemik yıkımına yol açar (21).

Kan damarları ile gelen kalsiyum, fosfor ve diğer iyonlar mineralizasyon süreci ile kemikte depolanır (30). Kemiğin rezorpsiyonu ile insan vücudundaki biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli mineraller kana verilir. Bu sürece biraz daha yakından bakıldığında; başlangıçta osteoklastlar hidrojen iyonu salgılar. Bu hidrojen iyonları ortamdaki klor iyonları ile reaksiyona girerek hidroklorik asit oluşturur. PH 4 olup ortam asidik olunca kemik mineralleri çözülmeye başlar. Ayrıca osteoklastlar asitfosfataz salgılayarak ortamdaki kollajenin parçalanmasına da yol açar (30).

Kalsiyum sinir iletimi, kas kasılması, kanamanın durdurulması ve hücre içeriğinin dışarı taşınması olaylarında rol oynar. İnsan vücudunda yaklaşık 1100 gram kalsiyum bulunmaktadır. Bu kalsiyumun çoğu (%99) kemikte kalanı ise kan ve vücut sıvılarında bulunur. Kan kalsiyum değeri 9, 2-10, 4 mg/dl arasındadır (30). Serum kalsiyum seviyesi primer olarak 1-25 hidroksi vitamin D₃ ve parat hormon tarafından düzenlenir (26). Besinlerle alınan kalsiyum kemiklerde depo edilirken fazlası da gaita ve idrarla atılır. Kan kalsiyum seviyesi azaldığında paratiroid hormon osteoklastları aktive eder ve sayılarının artmasını sağlar ki bunun sonucunda kemikteki kalsiyum serbest hale gelir. Tiroid bezinin parafoliküler hücrelerinde sentezi yapılan kalsitonin, paratiroid hormona ters etki yaparak matriks rezorpsiyonunu inhibe eder (30).

Kemikteki fosfat grupları DNA, RNA, ATP, fosfolipidler ve diğer bileşiklerin yapısına katılır. Yetişkinde 500-800 gram arası fosfor bulunur. Bu fosforun yaklaşık %85-90'ı kemikte olup plazma fosfor konsantrasyonu 3, 5-4, 0 mg/dl dir (30).

Testesteron, östrojen ve büyüme hormonunun etkisi ile puberte ve adölesan dönemde kemik yapımı uyarılarak hızlanır. Bu hormonların etkisi ile osteojenik hücreler çoğalır, osteoblastlar tarafından matriks yapımı fazlalaşır

ve metafizde bulunan kondrositler artarak kemik büyümesi uyarılır (32). Adelsonan dönemde kızlar puberteye daha önce girdiklerinden ve östrojenin testesterona oranla büyümeyi uyarıcı etkisi daha güçlü olmasından dolayı erkeklerden daha hızlı uzarlar (30).

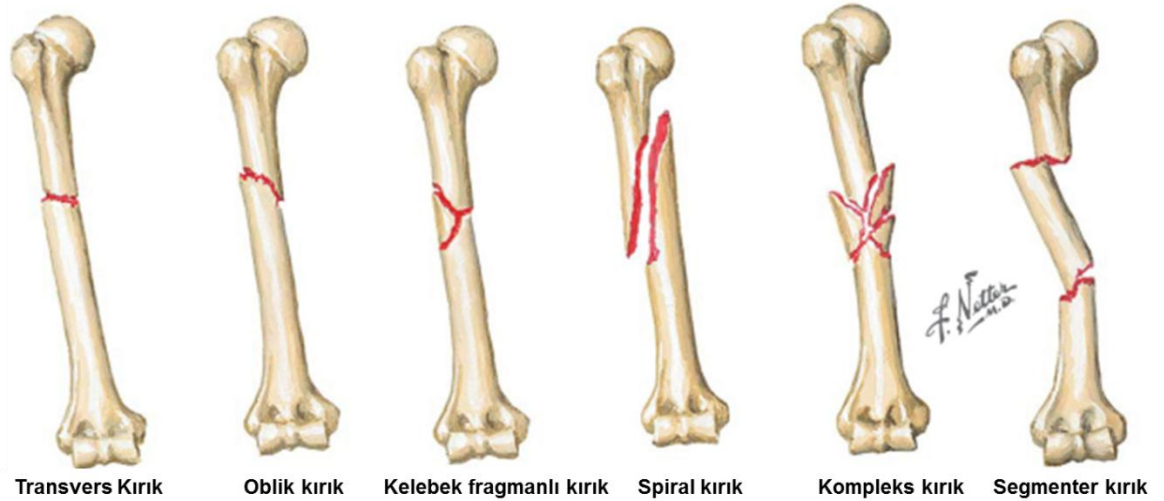
Kırık Tanımı ve Tipleri

Kırık tanımı günümüzde yalnızca kemik bütünlüğünün bozulması değil kemik bütünlüğünün bozulduğu yumuşak doku yaralanması olarak yapılmalıdır. Kırıklar kemik korteksinde basit bir çatlaktan kemik bütünlüğün tamamen bozulduğu çok parçalı kırıklara kadar değişik tiplerde karşımıza çıkabilir. Korteks bozulması kemiğin yük taşıma fonksiyonunu bozar. Cilt ve altındaki yumuşak dokuların bütünlüğü, kırığın lokalizasyonu ve yer değiştirme derecesi iyileşmenin kaderini belirler. Bu nedenle uzuv yaralanmalarında bu kriterler göz önünde bulundurulmalıdır (33).

Kapalı kırıklarda cilt sağlamken, açık kırıklarda cilt ve yumuşak doku bütünlüğü bozulmuştur (5). Açık kırıklarda çevre yumuşak dokular dış ortamla temas ettiğinden kontaminasyon olabilir. Açık kırıklar yaygın olarak Gustilo ve Anderson sınıflamasına göre değerlendirilir (5, 33).

Kemiğin farklı bölümlerinde meydana gelen kırıklar farklı şekillerde iyileşir. Kırık kemiğin diafiz, metafiz, büyüme plağında veya eklem yüzeyinde olabilir. Metafizde iyileşme trabekülanın bir tarafından öbür tarafına yanyana kallus gelişmesi şeklinde olurken şaft kırıklarında iyileşme kallus köprülerinin oluşumu ile gerçekleşir ve metafize göre daha yavaştır. Eklem içi kırıklarda posttravmatik osteoartrit riski yüksek olup erken cerrahi ile anatomik yerleştirme ve mutlak denge sağlanması birincil kırık iyileşmesi elde etmek için zorunludur. Büyüme plağı kırıkları çocuklarda oldukça sık görülür ve yetişkin kırıklarına göre daha hızlı iyileşir (33).

Kırık tipini ifade etmek için radyografideki görüntüsüne göre çok çeşitli ifadeler kullanılmaktadır (Resim-3) (tarnsvers, oblik, spiral v.b.) (33).



Resim-3: Kırık tipleri (33).

Kırık İyileşmesi

Kırık iyileşmesi yaralanma anından başlayıp diğer birçok dokudan farklı olarak skar bırakmadan, eski haline en yakın düzeye gelene kadar devam eden bir süreçtir. Kırık oluşumu ile birlikte kemikte ve çevre yumuşak dokularda farklı reaksiyonlar gerçekleşir (1, 5, 34). Kemik kırığa vereceği biyolojik cevap uygulanan tedavi yöntemi ile değişebilir ve iyileşme birincil veya ikincil olarak iki ana başlık altında incelenebilir (5, 35-37).

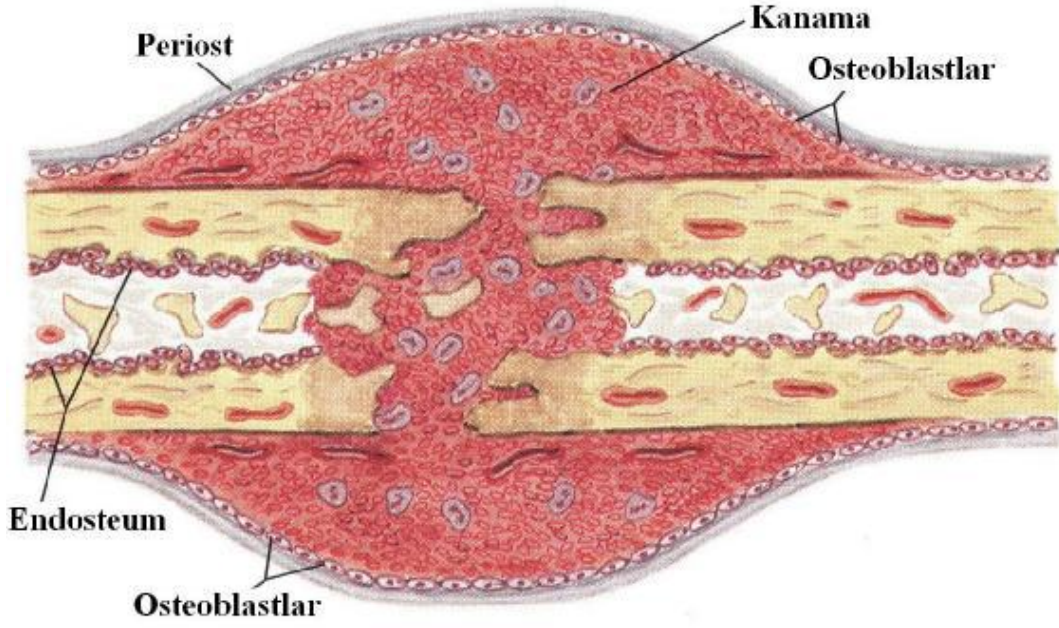
İkincil kırık iyileşmesinde ilk travmanın olduğu dönem olan çarpışma ve hematoma gelişimi daha sonra indüksiyon, inflamasyon, yumuşak ve sert kallus gelişimi son olarak da yeniden şekillenme dönemleri vardır (33).

Çarpışma dönemi kırık iyileşmesinin seyrini etkiler. Çarpışma evresinde çevre yumuşak dokular, medüller, periosteal kan damarları yaralanır ve hematoma gelişir. Gelişen bu hematoma kırık bölgesinde inflamatuvar mediatörlerin toplanmasına neden olur (5, 33).

İndüksiyon evresinde iyileşme sürecini başlatan biyolojik olaylar, embriyonik dönemde görülen kemik yapımına benzer olaylardır. Klinik ve laboratuvar göstergeler ile kırık sonrası ilk birkaç dakika ile saatler arasında indükleyici olayların başladığı tespit edilebilir. Bu evre morfogon ve büyüme

faktörlerinin salınımını, pluripotent hücrelerin aktivasyonunu, damarlanmayı, oksijen basıncını ve pH değişikliğini içine alan karmaşık bir olaylar zincirini kapsar (5, 33).

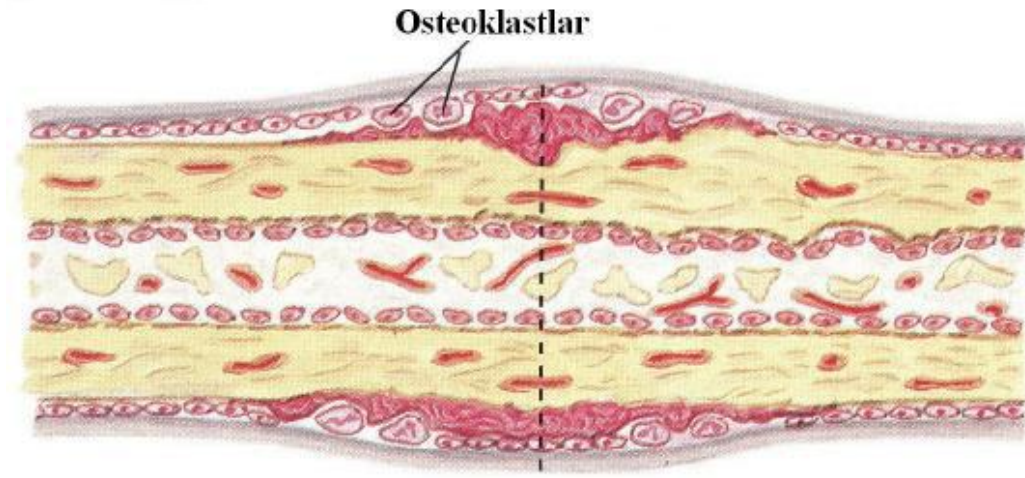
İnflamasyon süreci erken hematoma oluşumu ile başlar. Kırık sırasında damar yaralanması sonrası osteositlerin beslenmesi bozulur ve hücre ölümleri gerçekleşir. Trombosit ve ölü hücrelerden salınan sitokinler damar genişlemesine yol açıp kırık bölgesinde ödeme neden olur. Kırık uçları ve çevresinde kan ve lenf sıvısı toplanır. Trombosit ve salgıladıkları faktörler kanamayı durdurmak için o bölgede yoğunlaşır. Ortamdaki trombosit, fibroblast, damar endoteli ve makrofajlardan salınan büyüme faktörleri ve bazı proteinler hücre göçü, periosteal hücre çoğalması ve onarım dokusunun matriks sentezi için gereklidir. Bu faktörler 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 sitokinlerdir (1, 35, 38). Kırık bölgesine gelen polimorf nüveli lökositler (PMNL), makrofaj ve lenfositler salgıladıkları sitokinlerle anjiogenezi başlatırlar (35). Erken dönemde periosteal kökenli kapiller tomurcuklanma ile oluşan damarlanma artışı fazlayken geç dönemde medüller besleyici arterler ön plana çıkar (Resim-4) (33).



Resim-4: 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 infiltrasyon eder ve nekroze kemiği uzaklaştırmaya başlarlar (33).

Yumuşak kallus döneminde dıştan periosteal kallus gelişimi söz konusu iken geç endosteal kallus oluşumu gerçekleşir. Yumuşak kallus sert kemik kallus için mekanik bir yapı iskeleti oluşturur. 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. Son yapılan çalışmalar fibröz ve kırık dokuya ait genlerin ve bunların protein ürünlerinin kırık alanında fibröz ve kırık doku gelişmeden çok önce var olduğunu göstermektedir. Kırık iyileşmesi olayında rol oynayan hücreler mezansimal kökenli pluripotent hücreler olup kırık bölgesindeki granülasyon dokusundan, periosteal osteojenik tabakasından ve endosteal bölgeden köken alır. Kılcal damarlarla kırık hematoma içine gelen fibroblastlar bu hücreler arasında ilk farklılaşanlardır. Üçüncü günde kırık uçlarında yoğun biçimde mezansimal hücre bulunur ve bu hücreler yumuşak granülasyon dokusunu oluşturur. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastları çoğaltması sonucu granülasyon

dokusu şekillenir. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoid salgırlar. Kırık uçlarındaki mikro-hareket yumuşak kallus oluşumu için önemli bir mekanik uyarandır. Kemiğe yakın olmayan, orta kısımdaki hücreler dolaşım yönünden fakir bir sahada olduğu için mezenkimal hücreler daha çok kondroblast ve kondrositlere farklılaşarak kırık dokusu oluştururlar. Kanlanmanın yeterli olduğu bölgedeki hücreler ise osteoblasta farklılaşarak yeni trabekülleri oluşturur. Böylece en dış periferik tabakada kırık dokusunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücrelerin faaliyeti ile kemik, orta tabakada kırık dokusu, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Kırık uçlarından gelişen yakalık tarzındaki bu dokusu zamanla birleşerek dış kallusu oluşturur. Endosteum ve kemik iliğinin osteojenik hücrelerinden gelişen trabeküller sayesinde medullanın köprülenmesi gerçekleşir ve bu şekilde iç kallus oluşur. Zamanla kırık dokusu ortama hakim olur. Angiogenez ve kanlanmanın yeterli olması durumunda osteoblastlar kallus içerisinde yeni kemik matriksi sentezler (Resim-5) (33, 38).



Resim-7: 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 (33).

İçten tespit uygulanan ve kemik uçları arasında hareketin olmadığı mutlak denge sağlanan kırıklarda birincil tip iyileşme oluşur. Burada kırık uçları arasında belirgin dış kallus gelişmeksizin temas sağlanan kemik yüzlerde osteonların direk uzanması ile gerçekleşen yeni lameller kemik oluşumu söz konusudur (33, 35, 36). Osteoklastlar kırık hattında ilerlerken onları osteoblastlar takip eder ve yeni kemik matriksi sentezlenir. Kan damarları da osteoblastları izler. Yeni oluşan kemik matriks osteositleri sarar ve kan damarları çevresinde yeni havers kanalları oluşur (33, 35, 37).

Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kırık iyileşmesi kırığın oluştuğu andan itibaren başlayıp tüm iyileşme aşamaları tamamlanana kadar çeşitli faktörlerin olumlu veya olumsuz etkisine maruz kalan dinamik ve karmaşık bir süreçtir (1). Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler genel ve bölgesel olarak ikiye ayrılır.

Genel Faktörler

Çocuklarda kırık iyileşmesi daha hızlı gerçekleşir. Çocuklarda farklılaşmamış mezankimal hücre sayısı fazladır ve bu hücreler daha hızlı diferansiye olurlar. Bu yetenek erişkin yaşa gelince azalır (5).

Büyüme hormonu ve insülin anabolizan hormonlar olup kırık iyileşmesini olumlu etkiler. Her ikisinde proteine bağlı Ca^{+2} artışı sağlayarak iyileşmeye katkıda bulunur. Parathormon doğrudan kemiğe etki ederek kemik rezorpsiyonunu artırır. Düşük dozlarda trabeküler kemik yapımını artırdığını gösteren deneysel çalışmalar olsada net etkisi kemik kaybı ve kırık kaynamasının yavaşlamasıdır.

Kalsitonin parathormon antagonisti olup hem kompakt hemde trabeküler kemik yapımını uyarır. Ayrıca plazmadaki Ca^{+2} ve fosfor düzeylerini düşürür. Kemik rezorpsiyonunu azaltıp osteoblastik aktiviteyi artırır (25, 39). Tiroid hormonları hem kemik yapımını hem de yıkımını uyarır. Hipertiroidili hastalarda kemik yıkımı artar. Kortikosteroidler osteoblastların gelişimini yavaşlatıp, matriks protein sentezini azaltarak kırık iyileşmesini yavaşlatırlar. Östrojen ve androjenler kemik yapımını artırır (32, 40).

Kronik hastalıklar hem kendileri hem de tedavilerinde kullanılan sitotoksik ajanlar, steroidler ve steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar sayesinde kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler. Paget hastalığı, osteopetrozis, osteomalazi, gaucher hastalığı v.b. sistemik tutulum yapan genetik ve metabolik hastalıklar kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilerler. Kafa travmasının eşlik ettiği kırıklar aşırı kallusla iyileşir ancak bununla birlikte heterotopik ossifikasyon riskide artar (33).

Vitamin A mezenşimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesini olumlu etkiler. Ancak eksikliğinde kemik oluşumu yavaşlar, epifizyel kırıldak gelişimi azalır ve 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 kırıldak şekillenmesinde etkindir. Kollajen sentezini uyarır ve kırık iyileşmesini olumlu

etkiler (41). Eksikliğinde 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 (42). Aminoasitlerin, karbonhidratların, yağların ve eser elementlerin kırık iyileşmesinde önemli rolleri vardır.

Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların prostoglandin sentezi inhibisyonu yaparak ve kırık iyileşmesinin erken döneminde kanlanmanın artışını engelleyerek olumsuz yönde etkili olduğu belirtilmiştir (43). Antikoagülanlar kırık iyileşmesini tedavi edici dozlarda kullanıldıkları zaman azaltırlar. Profilaktik dozda kullanılan düşük molekül ağırlıklı heparinin kırık iyileşmesine olumsuz etkisi yoktur. Periferik vazodilatatör olarak kullanılan pentoksifilin kırık iyileşmesini erken dönemde uyardığı ancak uzun süreli kullanımda histolojik olarak kırık iyileşmesini geciktirdiği bildirilmektedir (44). Antibiyotikler özellikle kinolon grubu antibiyotikler kollajen yapımını etkileyerek kırık iyileşmesi geciktirirler. Nikotinin kırık iyileşmesini olumsuz etkilerken, hiperbarik oksijen tedavisi iyileşmeyi olumlu etkiler (45, 46). Bifosfonatlardan zolendronate metafiz bölgesindeki kemik yapımını uyararak trabeküler kemik hacmini artırır (47).

Bölgesel Faktörler

Geçirilen travmanın şiddetine bağlı olarak kırık bölgesindeki çevre yumuşak dokuların yaralanma derecesi kırık iyileşmesinde en etkili faktördür. Kırık çevresindeki yumuşak doku hasarı ne kadar fazla ve nekrotik doku miktarı ne kadar çoksa bu bölgeye gelecek mezenkimal hücre ve yeni damarların sayısı o kadar azalacaktır. Bunlar kırık iyileşmesini olumsuz etkiler. Açık kırıklarda kırık hematomunun boşalması ve dış ortamla temas kırık iyileşmesini olumsuz etkileyerek enfeksiyon riskini artırır. Kırık uçları arasına yumuşak doku girmesi ve kırık uçlarının birbirlerinde uzak olması da kırık iyileşmesini olumsuz etkiler. 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. Eklem içi kırıklarda kırık parçalarının arasındaki sinovyal sıvının içeriğinin etkisi ile kaynamama veya gecikmiş kaynama gözlenebilir.

Lokal olarak uygulanan radyoterapi sonrası ışınlanan alandaki hücrelerin ölmesi, damarlarda tromboz ve kemik iliğinde fibrozis gelişmesi ile kırık iyileşmesi gecikir veya durur (5, 33). Ekstrakorporeal olarak uygulanan şok dalgası tedavisi kırık iyileşmesini olumlu etkiler (48). Lokal olarak uygulanan embrionik mezenkim dokusu kırık iyileşmesine olumlu katkı sağlar (49). Lenfödem kırık iyileşmesini olumsuz etkilerken biyofizik stimülasyonu uygun teknikle doğru hastaya uygulanırsa kırık iyileşmesini olumlu etkiler (50, 51).

Kontrollü hareket kırık iyileşmesini uyarırken aşırı hareket ise enkontral kallus formasyonunu bozabilir. Kırık tespiti iyileşmeyi hızlandırır. Ancak büyük insizyonla açılan diseksiyonlar bölgenin kanlanmasını bozarak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (34). Tekrarlayan redüksiyon manevraları kırık hematomunun bütünlüğünü bozarak kallus gelişimini geciktirir.

Glutamin-Alanin

Glutamin, vücutta en yaygın bulunan ve birçok metabolik olayda önemli rol oynayan nötral bir aminoasittir (52). Hücre tarafından glutamin sentetaz aracılığıyla sentezlendiği için non-esansiyel aminoasit olarak adlandırılır. Glutamin dokular arasında nitrojen transferini sağlar ve böbrek amonyumunun en önemli kaynağını oluşturur. Üriner amonyumun 2/3'ü glutaminden oluşur. Böbrekler tarafından asit-baz dengesinin düzenlenmesinde kullanılmaktadır. Glutaminaz, glutaminden idrarla atılan amonyağı serbestleştirir (52, 53). Dolayısı ile glutamin vücudu yüksek amonyum seviyelerinden koruyan nitrojen mekiği olarak görev yapar.

Gastrointestinal sistemden emilen aminoasitlerin bir kısmı karaciğere giderken, bir kısmı da hücre içi aminoasit havuzunda toplanıp protein ve diğer nitrojenli maddelerin sentezinde kullanılır. Glutamin enterositlerde metabolize olur, protein sentezinin düzenlenmesinde görev alır ve tüm hücrelerin nükleik asit biosentezinde öncü madde olarak görev yapar. İskelet kasları glutaminin sentez ve depolanma yeridir. İskelet kasındaki konsantrasyonu dolaşan kandakinin yaklaşık 30 katıdır (54). Glutamin çizgili kasların korunmasında ve glukoz dengesinin sağlanmasında önemlidir, zira

glutamin glikoneogenezde substrat işlevi görür ve karaciğerde glikojen sentezini uyarır (55).

Glutamin hücrelerin hızlı çoğalma sürecini, hem enerji hem de biyosentetik öncü kaynak olmasından dolayı kolaylaştırır (56, 57). Bağışıklık sisteminde birçok hücre hızla proliferere olmaktadır. Glutamin fibroblast, epitelyal hücreler, lenfosit ve makrofaj gibi hızla çoğalan hücrelerin enerji kaynağıdır. Ayrıca lenfosit proliferasyonu ile nötrofil ve makrofajların fonksiyonlarını en uygun şekilde yerine getirmeleri açısından da esansiyel özellikte bir aminoasittir. Rat ve insan lenfosit proliferasyonunun glutamine bağımlı olduğu açıkça gösterilmiştir (58). Plazma glutamin düzeylerinin düşük olduğu durumlarda nötrofillerin bakterisidal özellikleri bozulur (59, 60), T-lenfositleri baskılanır (60-62), makrofajların fagositik aktiviteleri ve interlökin (IL-1) yapımı azalır (60, 62, 63).

Kırık iyileşmesinin inflamatuvar evresinde polimorfnüveli lökositlerden serbest oksijen radikallerinin salınır (6). Glutamin, dokuları serbest radikal hasarına karşı koruyan majör bir antioksidan olan glutatyon sentezinin öncülüğünü de yapmaktadır (64).

Glutamin, katabolik koşullar altında esansiyel aminoasit halini alır (52, 65). Sepsis, travma, cerrahi girişimlerde iskelet kaslarından çok miktarda glutamin salınır ve bunun sonucu olarak kas kitlesinde glutamin düzeyi azalır (66). Diğer aminoasitlerin de miktarlarının düşmesine rağmen istirahat döneminde normale dönerler, fakat glutamin seviyeleri uzun süre düşük kalır (54). Katabolik durumlar ve elektif cerrahi gibi durumlarda glutamin miktarı mutlaka eksilir. Nitrojen dengesinin sağlanması ve immunosupresyonun iyileştirilmesi ise glutamin eksikliğinin giderilmesi ile mümkün olabilir (67). Kritik hastalarda kan ve doku glutamin düzeyleri azalır ve bu düşüş hastanın anabolik döneme geçişine kadar devam eder. Bu durum endojen glutamin üretiminin tüketimden az olduğunu ve diyetle glutaminin eklenmesi gerektiğini gösterir (68, 69).

Alanin, vücutta triptofan ve pridoksin metabolizmasından sentezlendiği için non esansiyel aminoasit olarak ifade edilir. Alanin piruvatın transaminasyonu aracılığı ile vücutta üretilir. Glutaminle beraber alanin

glukoz metabolizması ara ürünlerine dönüşebildikleri için glukojenik aminoasitler olarak da adlandırılır (54).

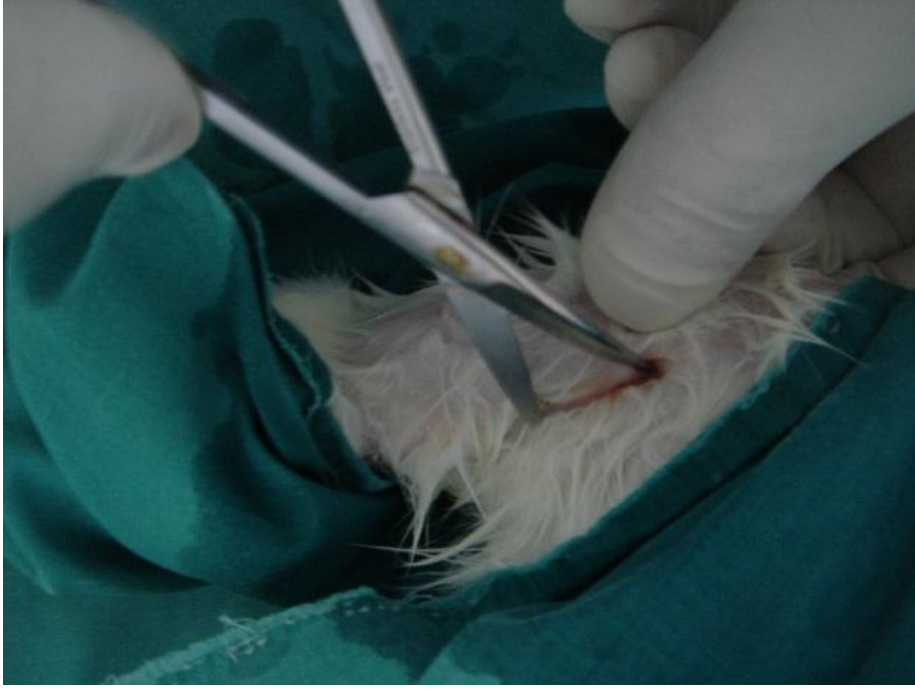
Bu çalışmada çeşitli metabolik olaylarda olumlu etkiye sahip L-Glutamin ve L-Alanin'in tavşanlarda kırık oluşturularak kemik iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 07.07.2009 tarihli toplantısındaki 2009-07/12 sayısı ile verdiği etik kurul onayı ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dekanlığının izni ile Deney Hayvanları Yetiřtirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden alınan, kiloları 2, 5-3, 0 kg arasında değişen ve 3 aylık olan 20 adet genç erişkin Yeni Zelanda beyazı tavşan üzerinde gerçekleştirildi.

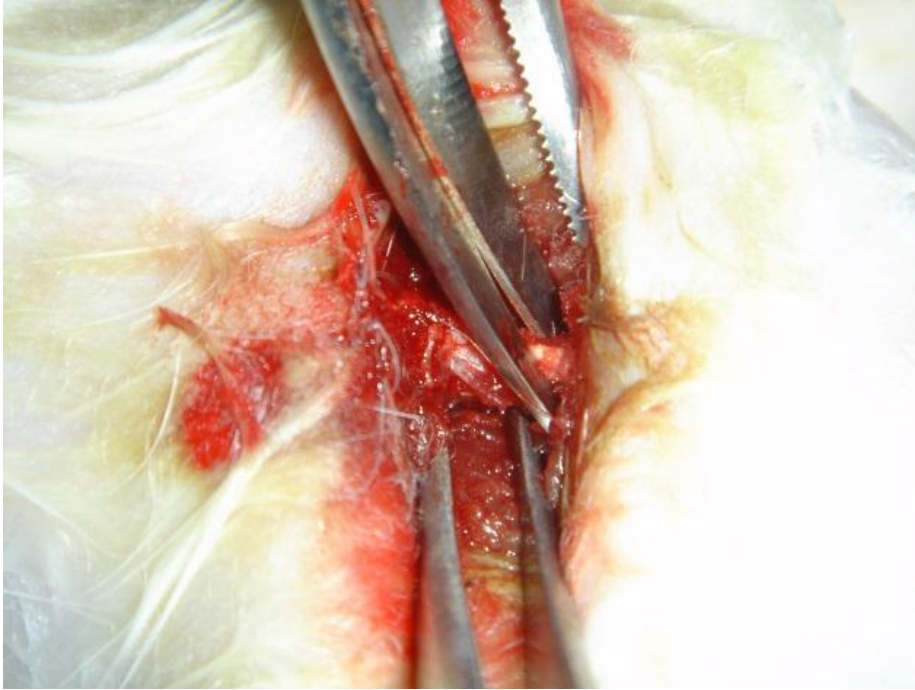
Çalışma Planı-Cerrahi Teknik

Hayvanlar her bir grupta 10 adet olacak şekilde kontrol ve immünnutrisyon olarak, iki gruba ayrıldı. Her iki gruptaki hayvanlara intramuskuler olarak 5 mg/kg ksilazin, 35 mg/kg ketamin ile anestezi uygulandı. Daha sonra tavşanlar sağ arka ekstremiteleri yukarıda kalacak şekilde yatırıldı. Fibula bölgesi %10 serbest alkol içeren 10 gr povidon iyot (Batticon-Adeka) ile dezenfekte edildikten sonra fibulanın yaklaşık 1 cm posteriorundan 1-2 cm'lik cilt insizyonu yapıldı. Cilt altı diseksiyona cilt kaldırılarak fibula üzerinden devam edilerek fibula cismine ulaşıldı (Resim-8).

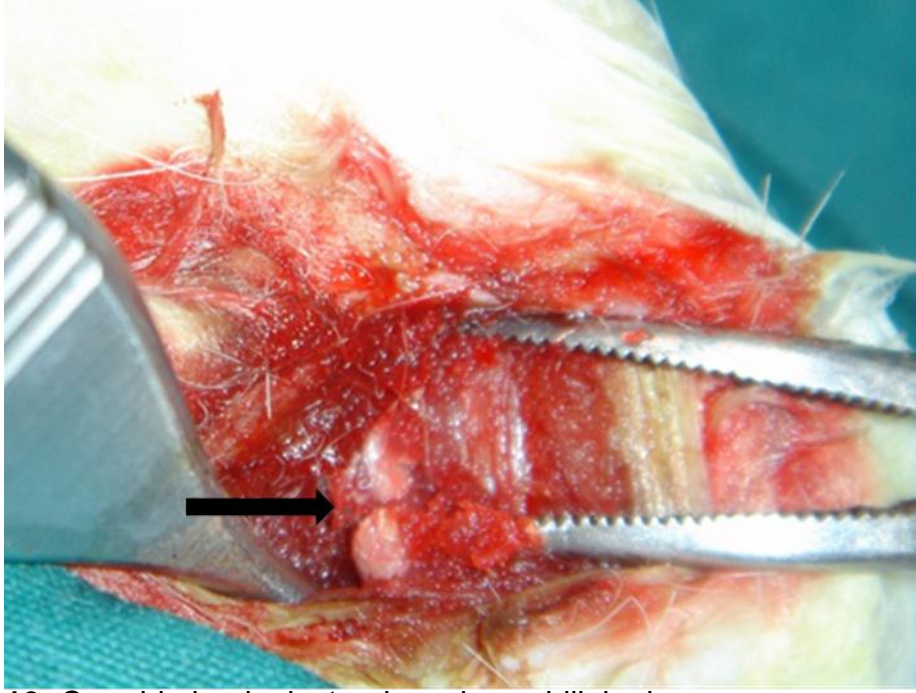


Resim-8: Tavşan fibulasına ulaşmak için yapılan cilt kesisi.

Doku makası ile fibula cisminde oblik bir kırık oluşturuldu (Resim-9, 10).



Resim-9: Eksplore edilmiş tavşan fibulasında cerrahi olarak kırık oluşturulması.



10: Cerrahi olarak oluşturulmuş kısa oblik kırık.

Cerrahi alan serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra cilt primer olarak kapatıldı (Resim-11). Yara batticon ile pansuman edilerek yara örtücü sprej (Opsite- Smith & Nephew) sıkılarak açık bırakıldı.



Resim-11: Dikilmiş cilt insizyonu.

Ameliyat sonrası birinci günden itibaren deney grubuna 30 gün boyunca standart tavşan yemi ve suya ilaveten 2 ml/kg/gün %20' lik L-alanil L-glutamin solüsyonu (Dipeptiven, Fresenius Kabi) gastrik sonda ile verildi. Kontrol grubundaki hayvanlar ise standart tavşan yemi ve suya ek olarak gastrik sonda ile 2 ml/kg/gün izotonikle beslendi. Daha sonra deneyin 30. günü tamamlanınca tavşanlar sakrifiye edildi. Kırık oluşturulan alt ekstremiteleri kalça ekleminden dezartiküle edilerek etraf yumuşak dokular kallus dokusuna zarar verilmeyecek şekilde uzaklaştırıldı. Kırık klinik, radyolojik ve histopatolojik olarak kaynama düzeyleri açısından incelendi.

Radyolojik İnceleme

Tavşanların çıkarılan alt ekstremitelerinin ön-arka ve yan grafileri çekildi. Bu röntgen filmleri Ortopedi ve Travmatoloji' den 5 ve Radyoloji bölümünden 5 ayrı uzman doktor tarafından değerlendirilerek Lane ve Sandhu'nun (70) radyolojik skorum sistemi ile sayısal olarak puanlandırıldı (Tablo-1).

Tablo-1: Radyolojik skorum sistemi.

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

Klinik Muayene

Fibuladaki kaynama Dimar ark.'nın (71) tarif ettikleri gibi iki planda muayene ile subjektif olarak değerlendirildi (Tablo-2).

Tablo-2: Klinik olarak kallus dokusu değerlendirilmesi.

Skor	Kırık Bölgesindeki klinik bulgular
0	Kaynamama (her iki planda hareket olması)
1	Orta derecede kaynama (tek planda hareket olması)
2	Tam kaynama (hiç hareket olmaması)

Histopatolojik İnceleme

Klinik ve radyolojik değerlendirmeler yapıldıktan sonra kırık kaynama bölgesinden hazırlanan örneklere, %10 konsantrasyonlu formalinde 3 gün bekletilerek doku tespiti yapıldı. Dekalsifikasyon elektrolitik metod kullanılarak yapıldı ve buna göre dokular 2 hafta boyunca, 2 günde bir değiştirilmek suretiyle dekalsifikasyon çözeltilisinde bekletildi (72). Akar suda 4 saat yıkanan dokular, dereceli alkollerde (%70, 80, 90, 96, 100) birer saat tutuldu ve sonra bir gece ksilolde ve daha sonra sıvı parafinde iki saat bekletilerek parafin bloklar oluşturuldu. Rotary mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitlerden hazırlanan lamalar, hematoksilin-eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Kallus dokusu histopatolojik olarak Huo ark.nın (73) önerdiği sistem ile (Tablo-3) puanlandı.

Tablo-3: 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

İstatistiksel analizler SPSS 13.0 paket programında yapıldı. Betimleyici istatistikler olarak median, minimum ve maksimum değerleri kullanıldı. İki bağımsız grubun karşılaştırılmasında mann-withney u testi, bağımlı grupların karşılaştırılmasında wilcoxon testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada deney grubundan iki tavşan deneyin 1. haftasında gastrik sonda ile verilen dipeptiven solüsyonunu aspire etti. Tavşanlardan biri aspirasyondan hemen sonra dakikalar içinde diğeri ertesi gün öldü. Kontrol grubunda bir tavşan deneyin 1. haftasında kafes temizliği yapılırken sağ alt ekstremitesinin kafese sıkışması sonrasında çıkartılırken femur kırığı oldu. Tavşana pelvipedal alçı uygulandı. Bu tavşan gelişen femur kırığını takip eden üçüncü gününde öldü. Kontrol grubundan bir tavşan deneyin ikinci haftası kafesinde ölü bulundu. Bu tavşanın ölüm sebebi anlaşılamadı. Geriye kalan deney grubundan 8, kontrol grubundan 8 tavşanla deneye devam edildi. Deney süresi boyunca hiçbir tavşanda cerrahi alanda infeksiyon gelişmedi. Femur kırığı gelişen bir tavşan dışında hiçbir tavşanda sadece fibula kırığı oluşturulduğu için fonksiyonel sorun gözlenmedi.

Radyolojik Bulgular

Radyolojik değerlendirme sonucunda kontrol grubunda, ortopedi ve travmatoloji uzmanlarının ortalama puanı 2,5 (minimum 0,4 – maksimum 3,6) radyoloji uzmanlarının ortalama puanı 2,65 (minimum 0,6 – maksimum 3,8) olarak saptandı (Resim-12,13).



Resim-12: Kontrol grubu ön-arka grafi.

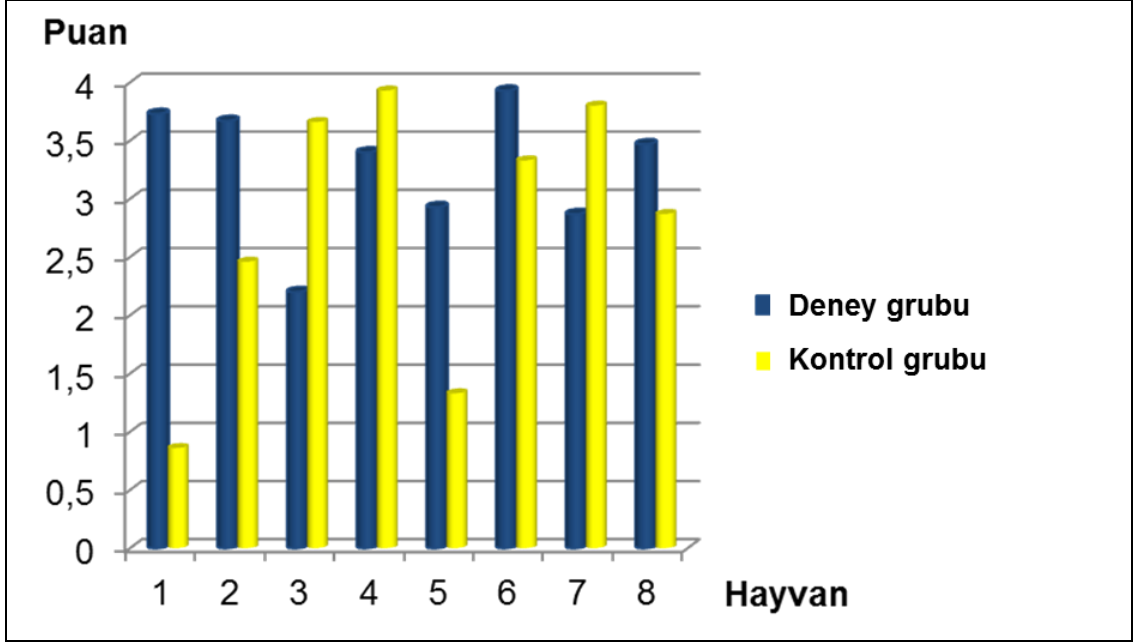


Resim-13: Deney grubu ön-arka grafi.

Deney grubunda ortopedistlerin ortalama puanı 3,42 (minimum 3,0 – maksimum 3,8) radyologların ortalama puanı 3,35 (minimum 2,4 – maksimum 4,0) olarak saptandı. Ortopedist ve radyologların ortalama puanları deney ve kontrol grupları açısından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p= 0.13$ ortopedi, $p=0.279$ radyoloji (Tablo-4, Şekil-1)).

Tablo-4: Radyolojik puanlarının ortalama değerleri.

Hayvan	Deney grubu	Kontrol grubu
1	3,73	0,86
2	3,67	2,46
3	2,2	3,66
4	3,4	3,93
5	2,93	1,33
6	3,93	3,33
7	2,87	3,8
8	3,47	2,87



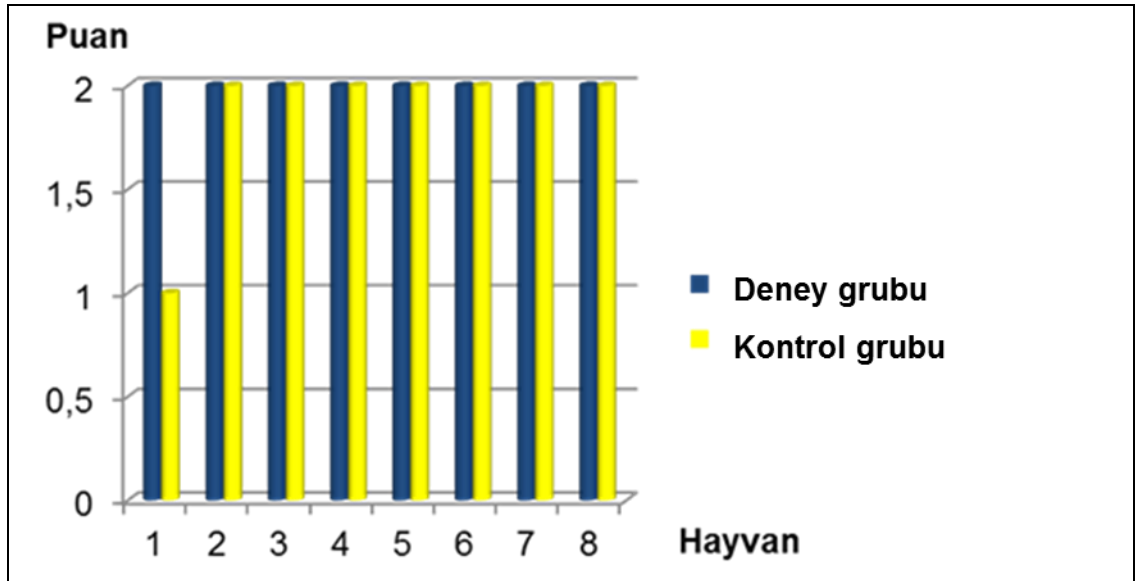
Şekil-1: Ortopedi ve Radyoloji hekimlerinin verdikleri ortalama puanların dağılım grafiği.

Klinik Muayene Bulguları

Klinik muayene deneysel çalışmanın dışında olan bağımsız bir ortopedi doktoru tarafından ilgili ekstremite dezartiküle edilip yumuşak dokular uzaklaştırıldıktan sonra sübjektif olarak yapıldı. Klinik değerlendirmede kontrol grubu ortalama puanı 1,875 (minimum 1,0 – maksimum 2,0) deney grubunda ise ortalama puan 2,0 (minimum 2,0 – maksimum 2,0) olarak bulundu (Tablo-5, Şekil-2).

Tablo-5: Deney ve kontrol gruplarında kallus dokusunun klinik değerlendirme puanları.

Hayvan	Deney grubu – Puan	Kontrol grubu – Puan
1	2	1
2	2	2
3	2	2
4	2	2
5	2	2
6	2	2
7	2	2
8	2	2



Şekil-2: Kallus dokusunun klinik puanlarının dağılım grafisi.

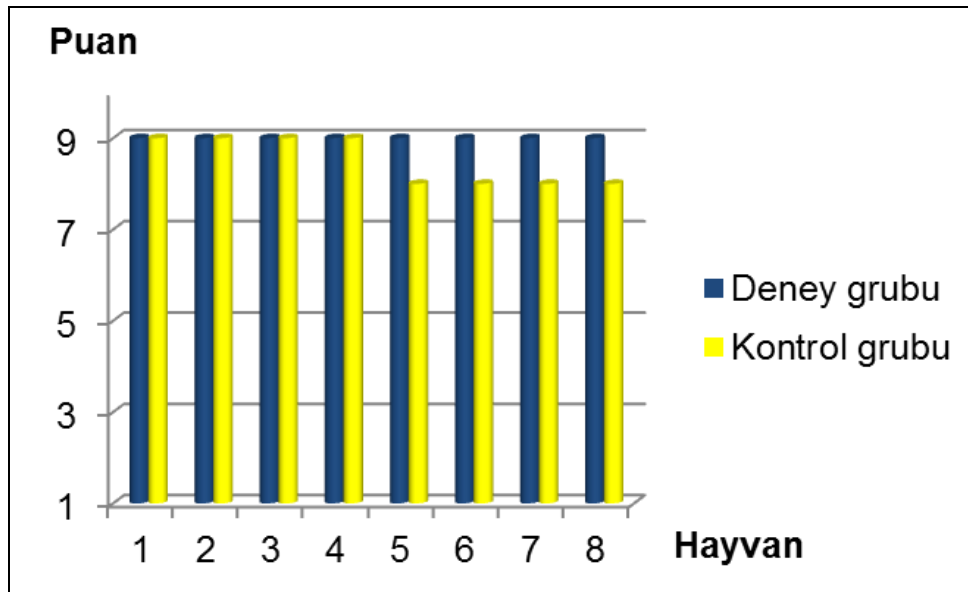
Klinik değerlendirmede her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,721$).

Histopatolojik Bulgular

Klinik ve radyolojik incelemenin ardından hazırlanan preparatlar Huo ark.'nın (73) tarif ettikleri kriterlere göre histopatolojik olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede kontrol grubu ortalama puanı 8,5 (minimum 8,0 – maksimum 9,0) deney grubunda ise ortalama puanı 9,0 (minimum 9,0 – maksimum 9,0) idi (Tablo-6, Şekil-3).

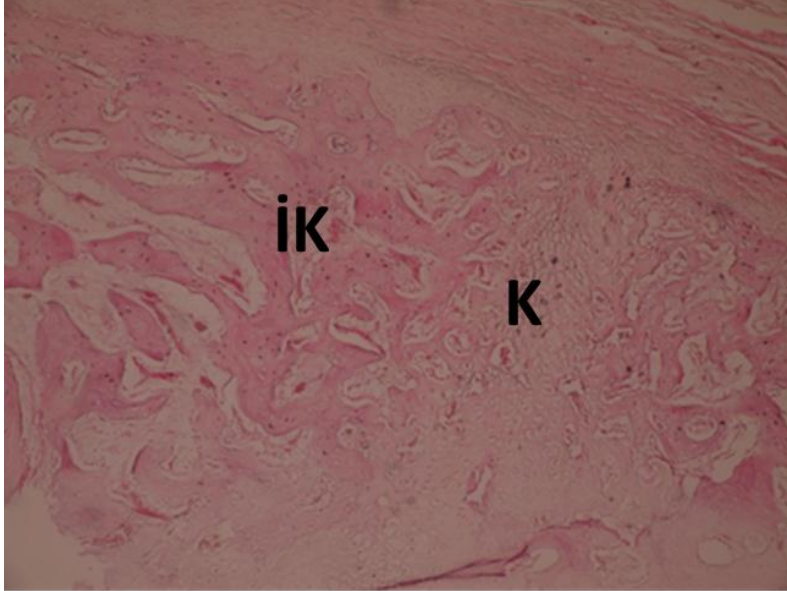
Tablo-6: Deney ve kontrol gruplarının histopatolojik puanları.

Hayvan	Deney grubu – Puan	Kontrol grubu – Puan
1	9	9
2	9	9
3	9	9
4	9	9
5	9	8
6	9	8
7	9	8
8	9	8

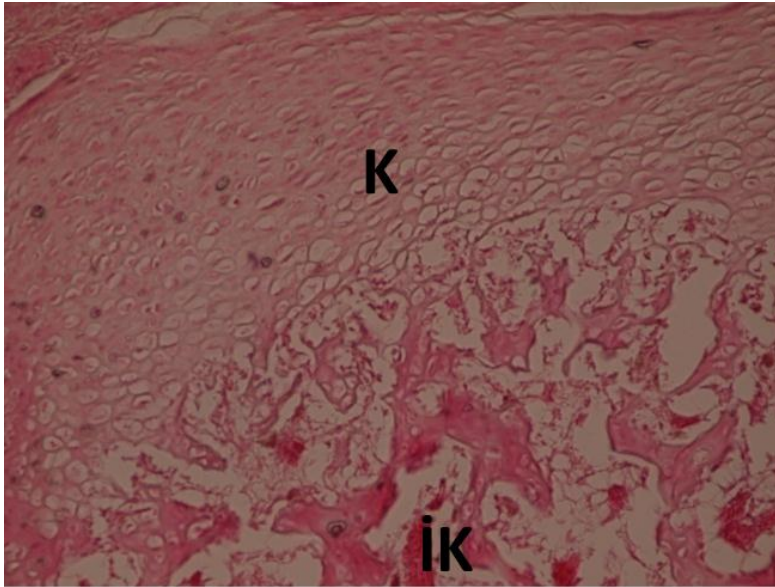


Şekil-3: Histopatolojik puanların dağılım grafisi.

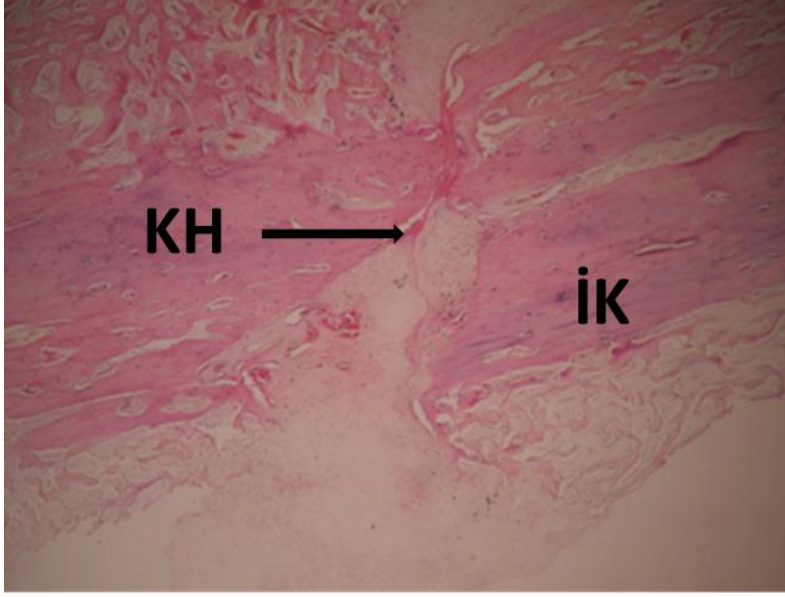
Histopatolojik değerlendirmede kontrol grubunun 4 tanesinde evre-8 iyileşme 4 tanesinde evre-9, deney grubunun tamamında Evre-9 iyileşme tespit edilmesine karşın her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,105$) (Resim-14, 15, 16, 17).



Resim-14: Kontrol grubu Evre-8 iyileşme: İmmatür kemik (İK) ve az miktarda kıkırdak (K) doku görünüyor (x100 büyütme Hematoksilen-Eozin boyaması).



Resim-15: Kontrol grubu Evre-8 iyileşme: İmmatür kemik (İK) ve az miktarda kıkırdak (K) doku görünüyor (x200 büyütme Hematoksilen-Eozin boyaması).



Resim-16: Deney grubu Evre-9 iyileşme: Kırık hattından (KH) geçen kesitte, tamamen immatür kemik (İK) dokusu görülüyor (x40 büyütme Hematoksilen-Eozin boyaması) .



Resim-17: Deney grubu Evre-9 iyileşme: Tamamen immatür kemik dokusu görülüyor (x100 büyütme Hematoksilen-Eozin boyaması).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Esansiyel olmayan bir amino asit olan glutamin, son zamanlarda saptanan önemli fizyolojik rolleri nedeniyle birçok bilimsel çalışma için ilgi odağı olmuştur. Hızlı çoğalan hücreler için yakıt kaynağı olması, nükleik asitler, nükleotidler, amino şekerler ve proteinler için prekürsör görevi üstlenmesinden dolayı, özellikle çoklu yaralanmalarda veya sepsis, yanık gibi kritik durumlarda glutamin esansiyel aminoasit olarak kullanılır (52). Vücudun aşırı strese maruz kaldığı durumlarda kas dokusu, bazı aminoasitleri sağlamak için depo görevi yapar ki bu aminoasitlerin en önemlisi glutamindir. Glutamin düzeyinin düşmesi kötü klinik sonuçla ilişkili olup bu miktarın azalması kaslarda yıkım sürecini başlatarak mortalite ve morbidite oranlarını yükseltebilir. Parantral veya enteral yoldan glutamin kullanımı kritik hastalarda sepsise bağlı komplikasyonları azaltmakta ve daha iyi fonksiyonel sonuçlara yol açmaktadır (67, 74).

Literatürde oral yoldan verilen glutaminin kırık iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmada glutaminin çeşitli faydalı etkileri göz önüne alınarak kırık iyileşmesine de olumlu katkısının olabileceği düşünülmüş ve bu bağlamda yara iyileşmesi ile kırık iyileşmesinin birbirine benzerliği yol gösterici olmuştur.

Glutamin tek başına kararsız bir yapıda olup suda çabuk denature olur. Alaninle birleşen glutamin ve oluşan dipeptid yapı, sulu çözeltilerde stabil olarak kalabilir. L- aminoasitler D-aminoasitlere göre daha kolay emilirler (54). Bu nedenlerle çalışmamızda L-alanin L-glutamin solüsyonu kullanılarak glutaminin aktif transportla emilimi sağlanmış ve çabuk denatüre olması engellenmiştir.

Deneysel kırık iyileşmesi çalışmalarında fare, sıçan, tavşan, kedi, köpek, koyun, at ve primatlar kullanılmaktadır. Çalışmamızda da kullanıldığı gibi tavşan, kırık iyileşmesinde sıkça kullanılan bir hayvan olup boyutunu farelere göre büyük olduğundan kolay kırık modeli oluşturulmasını sağlar (47, 75-77). Tavşanda kırık osteonal iyileşme şeklinde havers sistemlerinin

oluşumuyla gerçekleşir. Bu yönüyle insanda görülen kırık iyileşmesiyle benzerlik göstermektedir (78). Bu çalışmada da kullanıldığı gibi tavşandaki kırık iyileşmesi sonuçları insanlardaki iyileşme sonuçları ile karşılaştırılabilir olması nedeni ile seçilen hayvan tipinin deneysel çalışmalardan doğru çıkarımlar elde etmede önemli olduğu düşüncesindeyiz.

Hayvanlarda kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda kırık modeli oluşturmak için açık osteotomi veya kapalı kırık tekniği olmak üzere iki ayrı yöntem kullanılmaktadır (79). Çalışmamızda standart kırık modeli oluşturabilmek için fibulada doku makası ile kırık oluşturuldu. Dolayısı ile oluşan periost defekti ve kırık şekli tüm deney hayvanlarında aynı idi. Ayrıca doku makası ile kırık oluşturulması osteotomi için kullanılan elektrikli testerenin termal nekroz etkisini de ortadan kaldırdığı görüşündeyiz.

Matos ve ark. (47,78) kırık iyileşmesi ile ilgili çalışmalarında deneysel kırık modeli için tavşan fibulasını seçmişler, çalışmamızda da aynı bölge seçilmiştir. İnsanda alt ekstremitede taşınan yükler büyük oranda tibia üzerinden olup fibula % 17 oranında bunu üstlenmektedir (80). Fibulanın kullanılması kırıktan sonra dıştan tespit gereksinimini ortadan kaldırdığı kanaatindeyiz.

Yaptığımız çalışmada hiçbir deney hayvanında cerrahi alan enfeksiyonu saptanmamıştır. Ameliyat sırasında koruyucu antibiyotik vermememize rağmen yara üzerine örtücü sprej (opsite) sıkılarak kapatılmasının bunda etkili olduğu görüşündeyiz.

Fini ark. (76) 50 tavşanda oluşturdukları deneysel fibula kırığı ve femur kondil defektlerinde oral yoldan verilen esansiyel aminoasitler ve laktoz içeren besinlerin kırık iyileşmesine olumlu etkisini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da tavşan fibula kırığında bir başka esansiyel aminoasit olan glutaminin etkisi araştırılmış olup her iki çalışma gerek seçilen hayvan modeli gerekse verilen madde olarak aminoasitin seçilmesi bakımından benzerlik göstermektedir.

Tavşanlarda oluşturulmuş bir kırık modelinde kırık iyileşmesinde altıncı günde kırık adalarının oluşmaya başladığı, on ikinci günde merkezin kırık doku ile dolduğu, üçüncü ve dördüncü haftalarda ise

kıkırdağın yerini kemik dokusunun aldığı, kaynamanın tamamlandığı gösterilmiştir. Çalışmamızda da 4. haftada deneyin sonlandırılmasının nedeni bu sürenin tavşanlardaki kırık iyileşmesi için yeterli olmasından kaynaklanmaktadır.

Kırık iyileşmesinin radyolojik değerlendirilmesi için çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte bunların çoğu yeterince objektif olmayıp kişiden kişiye farklılık gösterebilmektedir. Bazı çalışmalarda direkt grafilerde kırık uçları arasındaki köprüleşmenin durumu değerlendirilmiştir (70, 81). Çalışmamızda radyolojik değerlendirme için yaygın olarak kullanılan Lane ve Sandhu'nun (70) skortlama sistemi kullanılmış olup sonuçlar birden fazla Ortopedi ve Travmatoloji ve Radyoloji uzmanı tarafından değerlendirilmiştir (82-85). Bunun daha objektif bir değerlendirme sağladığı görüşüdeyiz.

Klinik uygulamada kemik kaynaması hem fizik muayene hem de radyolojik tetkik ile takip edilmektedir. Bu çalışmada klinik uygulamadakine benzer şekilde kırık fibulalara iki planda zorlayıcı hareket yaptırılarak kaynamanın varlığı araştırılmış ve bu radyolojiye ek bir değerlendirme sağlamıştır. Dymar ve ark. (71) çalışmalarında stabilitenin değerlendirilmesinde iki planda klinik muayene yapılmasını vurgulamışlar ve bu da bizim uygulamamızı desteklemektedir.

Kırık iyileşmesi ile ilgili histopatolojik değerlendirmelerin bazılarında puanlama olmaksızın kalitatif şekilde sonuç verilmektedir (86, 87). Allen ve ark. (41, 88, 89) histopatolojik olarak 5 evreli değerlendirmeyi bildirmişlerdir. Huo ve ark. (73) ise bu konuda daha kapsamlı bir yöntem bildirmişlerdir. Çalışmamızda histopatolojik değerlendirmede Huo ark.'nın (73) önerdiği sistem kullanılmıştır. Bu sisteme göre 10 evrede inceleme yapılmakta olup bu yöntemin daha detaylı daha kesin sonuç vereceği görüşüdeyiz (85, 90, 91).

Canlı organizmalarda fizyolojik ve patolojik olaylar sonucu zararlı etkileri olabilen ürünler ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında en önemlileri serbest oksijen radikalleri olup vücutta antioksidatif sistem ile dengelenirler (92). Antioksidan moleküllerin kırık iyileşmesi üzerine etkileri incelenmiş, özellikle bazı vitaminlerin ve esansiyel aminoasitlerin üzerinde durulmuştur

(6, 41, 89, 93-95). Glutamin antioksidan sistemin bir üyesi olan glutatyon-peroksidaz enziminin prekürsörü olup antioksidan olarak da işlev görmektedir. Antioksidanların kırık hematomunda bulunan serbest oksijen radikallerinin etkisini azalttıkları ve kırık iyileşmesini olumlu etkileyebileceği Durak ve ark. (42) ile Sarısözen ve ark.'nın (41) yaptıkları çalışmalarla vurgulanmıştır. Bu nedenle çalışmamızda diğer etkilerinin yanısıra antioksidan olan glutaminin kırık bölgesinde bulunan serbest oksijen radikallerini azaltıp kırık iyileşmesini olumlu etkileyebileceği de düşünülmüş ancak bu konu ile ilgili belirteçlere bakılmamıştır.

Sinha ve Goal (77) tavşanlarda yaptıkları çalışmada oral aminoasit olarak lizin ve argininin vermişler ve bunun kallus damarlanma ve mineralizasyonunu artırdığını ve iyileşme süresini 2 hafta kadar hızlandırdığını bildirmişlerdir. Kdolsky ve ark. (96) tarafından yapılan deneysel çalışmada kobaylarda femur diafizinde defekt oluşturulmuş ve femura k teli ile intramedüller tespit yapılmıştır. Bulgular histolojik mekanik ve radyolojik olarak değerlendirilmiş ve sonuçta L- Arginin alan hayvanlarda kırık iyileşmesi ve mekanik stabilitenin daha iyi olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızla karşılaştırıldığında kullandığımız aminoasit glutamin olup femur yerine fibula kullanılmış ve mekanik değerlendirme yapılmamıştır. Bu nedenle kırık iyileşmesi üzerine aminoasitlerin etkisi düşünce olarak benzese de bu çalışma teknik olarak çalışmamıza benzememektedir.

Çalışmamızda histolojik değerlendirmede glutamin verilen tavşanların hepsinde evre-9 tam iyileşme gözlenirken kontrol grubunun yarısında kırıkta ve immatür kemiğin birlikte olduğu evre-8 iyileşme, kalanında evre-9 iyileşme saptandı. Bu bulgumuz glutaminin kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu görüşümüzü haklı çıkartmaktadır. Ancak kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Aynı şekilde radyolojik değerlendirmede deney grubunda ortopedi ve travmatoloji uzmanları ortalama puanı 5 tam puan üzerinden 3,42, radyoloji uzmanları ortalama puanı 3,35 iken kontrol grubunda bu puanlar düşük olup sırası ile ortalama 2,5 ve 2,65 olarak saptanmıştır. Buna karşın aradaki fark yine istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Bunun çalışmamızda kullanılan

hayvan sayısının az olmasından kaynaklandığı görüşünderiz. Ayrıca iyileşmeyi daha erken evrelerde histolojik olarak değerlendirmenin de anlamlı sonuçlar verebileceği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak glutaminin yara iyileşmesini hızlandıran, sepsiste mortalite ve morbidite oranlarını azaltan faydalı etkilerine karşın çalışmamızda deney grubunda kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkisi klinik, radyolojik ve histopatolojik olarak gözlenmiş ancak kontrol grubuna göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu konunun ileride farklı parametreler göz önüne alınarak araştırılmasının literatüre ışık tutacağı görüşünderiz.

KAYNAKLAR

- 1- Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury* 2007; 38: 3-6.
- 2- Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002; 2: 143-50
- 3- Schatzker J. AO philosophy and principles. In: Rüedi TP, Murphy WM. *AO Principles of Fracture Management*. 5th edition. New York; Thieme Stuttgart; 2000: 2-4.
- 4- Perren SM. Fracture healing. The evolution of our understanding. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2008; 75: 241-6.
- 5- Wraighte PJ, Scammell BE. Principles of fracture healing. *Acute Care*. 2007; 3; 243-51
- 6- Keskin D, Karsan O, Ezirmik N, Çiftioğlu A. Tavşanlarda kırık iyileşmesine alfa-Tokoferol'ün etkisi. *Exper. Res*. 1999; 10; 207-10.
- 7- Göktürk E. Sıçanlarda serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 1997; 31: 353-56.
- 8- Collins N. Glutamine and Wound Healing. *Advan. In S&W. Care*, 2002: 233-4
- 9- Avenell A. BAPEN Symposium 4 on 'Glutamine and antioxidants in critical care' Glutamine in critical care: current evidence from systematic reviews. *Nutrition Society*. 2006; 65: 236-41
- 10- Kuhn SK, Muscaritoli M, Wischmeyer P, Stehle P, Glutamine as indispensable nutrient in oncology: experimental and clinical evidence. *Eur J Nutr*. 2010; 49: 197-210
- 11- Cullinane DM, Einhorn TA. Biomechanics of Bone, In: Blezikian PJ, Raisz LG, Rodan GA. *Principles of Bone Biology*. 2nd Edition. Florida; Academic Press; 2002: 17-30.
- 12- Marks SC, Odgren PR. Structure and Development of the Skeleton, In: Blezikian PJ, Raisz LG, Rodan GA. *Principles of Bone Biology*. 2nd Edition. Florida; Academic Press; 2002: 3-13
- 13- Rodan G.A. Bone homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1998; 95; 13361-62
- 14- Loveridge N. Bone: More Than a Stick. *J Anim Sci*. 1999; 77: 190-6.
- 15- 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.
- 16- 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
- 17- 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

- 18- 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
- 19- Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2006; 1092; 385-96.
- 20- Andrew C, Bassett L. Current concepts of bone formation. The Journal of Bone & Joint Surgery. 1962; 44: 1217-44.
- 21- Brinker M. R, O'Connor D. Kemik. In: Miller M. (Ed) Miller'in Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M; Çeviri editörleri Ankara Adya; 2006: 1-44.
- 22- Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling Rev Endocr Metab Disord. 2010; 11: 219-27.
- 23- 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.
- 24- Lopes JC, Canhao H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. Acta Reumatol Port. 2007; 32:103-10.
- 25- Çetinus E, Akgümüş M, Cever İ, Atay ÖF, Bakariş F. Kırık iyileşmesi üzerine kalsitonin hormonunun etkisi. Exper. Res. 2000; 11: 179-83.
- 26- Karsenty G. The genetic transformation of bone biology. Genes Dev. 1999; 13: 3037-51.
- 27- Raisz LG. Physiology and Pathophysiology of Bone Remodeling. Clinical Chemistry. 1999; 45: 1353-58.
- 28- Compston JE. Bone marrow and bone: a functional unit. J of Endocr. 2002; 173: 387-94.
- 29- Scanlon VC, Sanders T. The Skeletal System. In: Sorkowitz. A.(eds) Essentials of Anatomy and Physiology 5th edition. Philadelphia; F.A.Dacis; 2007: 106.
- 30- Saladin K. Bone Tissue, Chapter-7 In: Saladin K. (ed) Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function. 5th Edition. New York; McGraw-Hill Primis; 2009: 213-240.
- 31- Hill PA. Bone remodelling. Br J Orthod. May, 1998; 25 : 101-7.
- 32- Manolagas SC, Kousteni S, Jilka RL. Sex steroids and bone. Recent Prog Horm Res. 2002; 57: 385-409.
- 33- Netter F.H, Kırıklar, Dislokasyonlar ve Burkulmalar. In: 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.
- 34- Altunatmaz K. Biology of fracture healing and biological osteosynthesis. J. Fac. Vet. Med. 2004; 30: 141-7.
- 35- Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. Injury. Jun, 2011; 42: 551-5.
- 36- McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. J Bone Joint Surg Br 1978; 60-B: 150-62.
- 37- Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? Injury. Mar. 2007; 38: 11-25.

- 38- Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture *Semin Cell Dev Biol.* 2008;19: 459-66.
- 39- 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.
- 40- 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.
- 41- 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.
- 42- Durak K, Bilgen OF, Kaleli T, Tuncel P, Ozbek R, Turan K. Antioxidant effect of alpha-tocopherol on fracture haematoma in rabbits. *J Int Med Res.* 1996; 5: 419-24.
- 43- O'Connor JP, Capo JT, Tan V, Cottrell JA, Manigrasso MB, Bontempo N, Parsons JR. A comparison of the effects of ibuprofen and rofecoxib on rabbit fibula osteotomy healing. *Acta Orthop.* 2009; 80: 597-605.
- 44- Aydın KB. Pentoksifilin Kullanımının Kırık İyileşmesi Üzerine Etkisinin Ratlarda İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim Ve Araştırma Hastanesi; 2007.
- 45- Özkayın N, Aktuğlu K. Sigaranın Kas-İskelet Sistemi Üzerine Etkileri. *Sted.* 2003; 12: 102.
- 46- Sloan A, Hussain I, Maqsood M, Eremin O, El-Sheemy M. The effects of smoking on fracture healing. *The Surgeon.* 2010; 8: 111-6.
- 47- Matos MA, Araujo FP, Paixao FB. The effect of zoledronate on bone remodeling during the healing process, *Acta Cir Bras.* 2007; 22: 115-9.
- 48- Orhan Z, Alper M, Senel F, Yılmaz N, Sayar Ü. The effect of extracorporeal shockwave treatment on the healing of experimental rat tibial fractures. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2001; 35: 351-7.
- 49- 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.
- 50- Uludağ A. Kronik Lenfödemin Kırık İyileşmesine Etkisi (Ratların Tibiasında deneysel Çalışma). Uzmanlık Tezi. Diyarbakır. Dicle Üniversitesi. 2007.
- 51- Chao EY, Inoue N. Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodelling. *Eur Cell Mater.* 2003; 31: 72-84.
- 52- Coster J, McCauley R, Hall J. Glutamine: metabolism and application in nutrition support. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004; 13: 25-31.
- 53- Avenell A. Glutamine in critical care: current evidence from systematic reviews. *Proc Nutr Soc.* 2006; 65: 236-41.
- 54- Öztürk ME. Preoperatif Alanin-Glutaminden zenginleştirilmiş Diyet'in Elektif Kolon Anastomozu Üzerine Etkileri (Deneysel Çalışma). Uzmanlık Tezi İstanbul. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr.Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2004.

- 55- Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate-their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct.* 2003 21: 1-9.
- 56- Reitzer L.J, Wice BM, Kennell D. Evidence that glutamine, not sugar, is the major energy source for cultured HeLa cells. *J Biol Chem* 1979; 266:9-76.
- 57- Deniel N, Letellier MR, Charlionet R, Tron F, Leprince J, Vaudry H, Ducrotte P, Dechelotte P, Thebault S. Glutamine regulates the human epithelial intestinal HCT-8 cell proteome under apoptotic conditions. *Mol Cell Proteomics.* 2007; 6: 1671-9.
- 58- Gündoğdu H. Yoğun bakım ünitesinde Yeni beslenme ürünleri. *Yoğun bakım dergisi* 2003; 3: 215-24.
- 59- Mok E, Hankard R. Glutamine supplementation in sick children: is it beneficial? *J Nutr Metab.* 2011: 1-41.
- 60- Newsholme P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *J Nutr.* 2001 131: 2515-22
- 61- O'Riordan MG, Fearon KCH, Ross JA. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition enhances T- Lymphocyte response in surgical patients undergoing colorectal resection. *Ann Surg* 1994; 220: 212-21.
- 62- Roth E. Nonnutritive effects of glutamine. *J Nutr.* 2008; 138: 2025-31.
- 63- Curi R, Newsholme P, Pithon-Curi TC, Pires-de-Melo M, Garcia C, Homem-de-Bittencourt PI, Guimaraes AR. Metabolic fate of glutamine in lymphocytes, macrophages and neutrophils. *Braz J Med Biol Res.* 1999; 32: 15-21.
- 64- Grimble RF. Immunonutrition. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005; 21: 216-22.
- 65- Noe JE. L-glutamine use in the treatment and prevention of mucositis and cachexia: a naturopathic perspective. *Integr Cancer Ther.* 2009; 8: 409-15.
- 66- Griffiths RD, Hinds CJ, Little RA. Manipulating the metabolic response to injury. *Br Med Bull.* 1999; 55: 181-95.
- 67- Wilmore DW. The effect of glutamine supplementation in patients following elective surgery and accidental injury. *J Nutr* 2001; 131: 2543-49.
- 68- Hammarqvist F, Wernerman J, Ali R, Von Der Decken A, Vinnars E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spares free glutamine in muscle, counteracts the fall in muscle protein synthesis, and improves nitrogen balance. *Ann Surg* 1989; 209: 455-61.
- 69- De-Souza DA, Greene LJ. Intestinal permeability and systemic infections in critically ill patients: effect of glutamine. *Crit Care Med.* 2005; 33: 1125-35.
- 70- Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18: 213-25.
- 71- Dimar JR 2nd, Ante WA, Zhang YP, Glassman SD. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on posterior spinal fusions in the rat. *Spine.* 1996; 15: 1870-6.

- 72-** Luna L. G (ed), Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition. Newyork; McGraw-Hill Book Company; 1960: 9.
- 73-** 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.
- 74-** Boelens PG, Nijveldt RJ, Houdijk AP, Meijer S, van Leeuwen PA. Glutamine alimentionation in catabolic state. *J Nutr.* 2001; 131: 2569-77.
- 75-** Matsubara H, Tsuchiya H, Watanabe K, Takeuchi A, Tomita K. Percutaneous nonviral delivery of hepatocyte growth factor in an osteotomy gap promotes bone repair in rabbits: a preliminary study. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; 466: 2962-72.
- 76-** Fini M, Aldini NN, Canè V, Zaffe D, Giavaresi G, Rocca M, Guzzardella GA, Giardino R. Effects of essential amino acids and lactose on bony fractures and defects in rabbits: a preliminary histomorphometric study. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1999; 119: 39-45.
- 77-** Sinha S, Goel S.C. Effect of amino acids lysine and arginine on fracture healing in rabbits: A radiological and histomorphological analysis. *Indian J Orthop.* 2009; 43: 328-34.
- 78-** Matos MA, Araujo FP, Paixao FB. Histomorphometric evaluation of bone healing in rabbit fibular osteotomy model without fixation. *J Orthop Surg Res.* 2008; 3: 1-5.
- 79-** Öztuna V. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan deneysel hayvan modelleri (Temel ilkeler, etik unsurlar ve modeller). *TOTBİD Dergisi.* 2007; 6: 47-55.
- 80-** Lambert KL. The weight-bearing function of the fibula. A strain gauge study. *J Bone Joint Surg Am.* 1971; 53: 507-13.
- 81-** Schmidmaier G, Wildeman B, Ostapowicz D, Kandziora F. Long term effects of local growth factor (IGF-I and TGF- β 1) treatment on fracture healing: A safety study for using growth factors. *J Orthop Res.* 2004; 22: 504-19.
- 82-** Bulut O, Eroglu M, Ozturk H, Tezeren G, Bulut S, Koptagel E. Extracorporeal shock wave treatment for defective nonunion of the radius: a rabbit model *Journal of Orthopaedic Surgery* 2006; 14: 133-7.
- 83-** Kaygusuz MA, Turan CC, Aydın NE, Temel İ, Fırat S, Bulut T, Kuku İ. The effects of G-CSF and naproxen sodium on the serum TGF- β 1 level and fracture healing in rat tibias. *Life Sciences.* 2006; 80: 67-73.
- 84-** Korkmaz M, Oztürk H, Bulut O, Unsaldi T, Kaloğlu C. The effect of definitive continuous distraction employed with the Ilizarov type external fixation system on fracture healing: an experimental rabbit model. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2005; 39: 247-57.
- 85-** Akman S, Gögüs A, Sener N, Bilgiç B, Aksoy B, Seckin F. Effect of diclofenac sodium on union of tibial fractures in rats. *Adv Ther.* 2002; 19: 119-25.

- 86-** Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM. A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg.* 2003; 85: 1425-35.
- 87-** Kirker CA, Gerhart TN, Armstrong N, Schelling SH, Carmel LA. Healing bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2 and copolymer. *Clin Orthop Relat Res.* 1998; 349: 205-17.
- 88-** Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, Günal Ğ. Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand.* 1995; 66: 473-75.
- 89-** Durak K, Sonmez G, Sarisozen B, Ozkan S, Kaya M, Ozturk C. Histological assessment of the effect of alpha-tocopherol on fracture healing in rabbits. *J Int Med Res.* 2003; 31: 26-30.
- 90-** Huddleston PM, Steckelberg JM, Hanssen AD, Rouse MS, Bolander ME, Patel R. Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture healing. *J Bone Joint Surg Am.* 2000; 82: 161-73.
- 91-** Oetgen ME, Merrell GA, Troiano NW, Horowitz MC, Kacena MA. Development of a femoral non-union model in the mouse. *Injury.* 2008; 39: 1119-26.
- 92-** Özan F. Propolis'in Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, 2006.
- 93-** Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kinik H, Arıkan M, Erdemli B. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2001; 121: 426-8.
- 94-** Türk C, Halıcı M, Güney A, Akgün H, Şahin V, Muhtaroğlu S. Promotion of fracture healing by vitamin E in rats. *J Int Med Res.* 2004; 32: 507-12.
- 95-** Güney A, Karaman I, Oner M, Yerer MB. Effects of propolis on fracture healing: an experimental study. *Phytother Res.* 2011; 25: 1648-52.
- 96-** Kdolsky RK, Mohr W, Savidis HD, Beer R, Puig S, Reihnsner R, Tangl S, Donath K. The influence of oral L-arginine on fracture healing: An animal study. *Wien Klin Wochenschr.* 2005; 117: 693-701.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde emeği olan Ortopedi ve Travmatoloji AD öğretim üyeleri Prof. Dr. Kemal Durak, Prof. Dr. Bartu Sarısözen, Prof. Dr. Ömer Faruk Bilgen, Prof. Dr. Tufan Kaleli, Doç. Dr. Burak Demirađ, Doç. Dr. M. Sadık Bilgen, Yrd. Doç. Dr. Burak Akesen ve emekli olan Prof. Dr. Gayyur Kurap ve Prof. Dr. Ufuk Aydınli hocalarıma, tezimi hazırlamamda yardımcı bulunan Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gürsel Sönmez'e tüm anabilim dalı çalıőanlarına, birlikte çalıőtığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma, hayatım boyunca bana destek olan annem, babam, kardeőlerim ve sevgili eőime teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

02.09.1976 tarihinde Erzurum'da doğdum İlköğrenimimi Erzurum ve Bursa'da 5 farklı ilkokulda tamamladım. Orta öğrenimimi Bursa Süleyman Çelebi Lisesi'nde, lise öğrenimimi Bursa Demirtaşpaşa Endüstri Meslek Lisesi Bilgisayar Meslek Bölümü'nde tamamladım. 1994 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başlayıp 2001 yılında Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Kocaeli'de Körfez Sevindikli köyünde başlayan pratisyen hekimliğe 5 yıl Kocaeli Devlet Hastanesi'nde devam ettim. Askerliğimi 2003-2004 yılları arasında Tokat'ta Nevşehir Jandarma Komando Taburu'nda Jandarma Tabip Asteğmen olarak yaptım. Pratisyen hekimlik yaptığım dönemde İşyeri Hekimliği ve Acil İlk Yardım Eğitmenliği de yaptım. 2007 yılında başladığım Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ihtisasını 2012 yılında tamamladım.