



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇAN KIRIK İYİLEŞMESİ MODELİNDE KOENZİM Q10 ETKİSİ

Dr. Ayşe AYCAN

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2018



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇAN KIRIK İYİLEŞMESİ MODELİNDE KOENZİM Q10 ETKİSİ

Dr. Ayşe AYCAN

Danışman: Doç. Dr. Burak Akesen

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2018

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet.....	iii
Giriş	1
Kemik Doku ve Histolojisi	2
Kemik Tipleri.....	4
Kemiğin Oluşumu	6
Kemik Fizyolojisi	8
Kırık Tanımı ve Tipleri	9
Kırık İyileşmesi	11
Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	18
Koenzim Q10.....	21
Gereç ve yöntem	23
Çalışma Planı-Cerrahi Teknik.....	23
Radyolojik İnceleme	25
Histopatolojik İnceleme	25
İmmünohistokimyasal İnceleme	26
İstatistiksel Değerlendirme	27
Bulgular	28
Radyolojik Bulgular.....	28
Histopatolojik Bulgular	30
İmmünohistokimyasal Bulgular	32
Tartışma ve sonuç	35
Kaynaklar.....	38
Teşekkür.....	42
Özgeçmiş.....	43

ÖZET

Ortopedi ve Travmatoloji pratiğinde kırık çok sık karşılaşılan bir sağlık problemidir. En hızlı şekilde kırık iyileşmesinin ve hastanın erken mobilizasyonunun sağlanması önem arz eder. Kırık iyileşmesi üzerine bir çok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Koenzim Q10'in güçlü antioksidan özelliği ve kemik yapımını sağlayan hücreler üzerinde, kemik yapımı lehine olan etkileri nedeniyle bu çalışmada sıçan kırık modeli üzerinde araştırılmıştır.

36 adet sıçan kontrol grubu, intraperitoneal soya fasulyesi yağı verilen grup, 25mg/kg/gün dozunda soya fasulyesi yağında çözünmüş koenzim Q10 verilen grup ve 50mg/kg/gün dozunda soya fasulyesi yağında çözünmüş koenzim Q10 verilen grup olarak dörde ayrıldı. Ameliyat sonrası birinci günden itibaren soya fasulyesi yağı ve koenzim Q10 verilen gruplara 28 gün boyunca intraperitoneal olarak enjeksiyon yapıldı. Her grubun yarısı 14. günde sakrifiye edilerek erken dönemde radyolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal; diğer yarısı ise 28. günde sakrifiye edilerek radyolojik , histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak kırık kaynaması yönünden değerlendirildi.

Düşük-yüksek doz koenzim Q10 verilen gruplar ile diğer gruplar arasında, kırık iyileşmesi yönünden; erken ve geç dönemde radyolojik ve histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgularda, istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: kırık iyileşmesi, koenzim Q10, sıçan

SUMMARY

COENZYME Q10 EFFECT IN RAT FRACTURE HEALING MODEL

In Orthopedics and Traumatology practice fracture is a very common health problem. It is important to have the fastest recovery of fracture and early mobilization of the patient. Many studies have been done and many of ongoing studies continue on fracture healing. Because of the strong antioxidant properties of coenzyme Q10 and the effects of bone formation on cells that provide bone formation, this study was explored on a rat fracture model.

36 rats were put on groups of the soybean oil group, the coenzyme Q10 group dissolved in soybean oil at a dose of 25 mg / kg / day, the coenzyme Q10 group dissolved in soybean oil at a dose of 50 mg / kg / day and control group. From the first day of postop, injections were given intraperitoneally to soybean oil and coenzyme Q10 groups for 28 days. Half of each group sacrificed at 14th day for early period radiological, histopathologic and immunohistochemical fracture healing and rest of the groups individuals sacrificed at 28th day for radiological, histopathologic and immunohistochemical fracture healing evaluations.

Between the groups given low-high-dose coenzyme Q10 and other groups, fracture healing was observed; There was no statistically significant difference between radiological and histopathological and immunohistochemical findings in early and late period.

Keywords: fracture healing, coenzyme Q10, rat

GİRİŞ

Kırık kemiğin anatomik bütünlüğünün tamamen veya kısmen bozulması sonucu, yetmezliğe uğramasıdır (1).

Kırıklar; trafik ve iş kazalarının yanısıra, yaşlı nüfusun da artması nedeniyle, Ortopedi ve Travmatoloji pratiğinde sık karşılaşılan önemli bir sağlık problemidir. Günümüzde hastaların beklentilerinin de artması sebebiyle, gerekli cerrahi ya da konservatif müdahalenin yapılarak en hızlı şekilde kırık iyileşmesinin sağlanması ve hastanın erken mobilizasyonu önem arzeder.

Kırık iyileşmesinde tedavi sonucu, cerrahın iskelet sistemini oluşturan dokuların doğal iyileşme potansiyelini en iyi şekilde kullanmasıyla doğru orantılıdır. Doku iyileşmesi konusunda tecrübeli cerrahlar, komplikasyonları veya yetersiz ve başarısız iyileşmeyi daha etkili tedavi edebilir.

Kırık iyileşmesi güncel yayınlarda farklı süreçlerin değişkenliğinin kordinasyonunu içeren karmaşık bir olay olarak tariflenmektedir (2). Güncel yaklaşımlar eklem ve ön kol kırıklarında birincil kırık iyileşmesi diğer uzun kemik cisim kırıklarında ise ikincil kırık iyileşmesini amaçlar (39,55). Kırık iyileşmesinin hızlandırılmasında çeşitli etkenler üzerinde araştırmalar yapılmış ve yapılmaktadır. Kırık iyileşmesinin erken dönemlerinde inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ile oluşan serbest oksijen radikallerinin, granülasyon dokusu oluşması ve kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır (3,4). Bu etkilerin hasara sebep olmaması için antioksidanlar olarak bilinen çeşitli moleküller rol oynar. Ayrıca yapılan çalışmalarda, antioksidanların osteoklastogenez inhibitörleri olarak hareket ettiği ve osteoblast farklılaşması için pozitif etki gösterdiği ileri sürmektedir (5,6,52).

Koenzim Q10 vücutta kimyasal reaksiyonlara enerji sağlanmasında önemli rol oynayan ve aynı zamanda lipofilik yapıda güçlü bir antioksidandır (56). Koenzim Q10'in osteoklast farklılaşma yolunda, reaktif oksijen radikalleri oluşumunu inhibe ettiği ve osteoblast farklılaşmasındaki olumlu etkisi gösterilmiştir (42). Bu çalışmada koenzim Q10'in kırık iyileşmesi

üzerine etkisi; radyolojik, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak araştırılmıştır.

Kemik Doku ve Histolojisi

Kemik dokusu bağ dokusunun özel bir formudur. Mineralize matriksi nedeniyle vücudun en sert dokularından biridir (7). Vücuda mekanik destek sağlar ve hayati organların korunmasında görev alır. Oluşturduğu kaldıraç sistemleri, kas kasılmaları ile vücuda hareket sağlar. Kemik dokusu, mekanik ve hormonal uyaranlara bağlı olarak yapısal değişiklikler gösteren dinamik bir dokudur. Kalsiyum, fosfor ve diğer mineraller için rezervuardır (8,9). Hematopoietik hücreleri ve mezenkimal kök hücrelerini barındırır. Kemikler kardiyak çıkışın (out put) %5-10'unu alırlar.

Kemik dokusu sertliğine karşın, karşılaştığı değişik kuvvetlerin etkisi ile şekil ve yapısını değiştirebilir. Diğer bağ ve destek dokularında olduğu gibi hücreler azınlıktadır.

Kemik dokuda; osteoprogenitor hücreler, osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlar olmak üzere dört ayrı hücre bulunmaktadır.

Osteoprogenitor hücrelere osteojenik hücreler de denir. Bunlar kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenkim hücreleridir. Kök hücre özelliklerine sahiptirler. Olgunlaşmış kemikte kemiği saran zarlar (periost, endost) içerisinde; kemik kanalcıklarının içindeki damarlar etrafında ise perisit olarak adlandırılarak, inaktif olarak bulunurlar. Yeni kemik yapımı ve kemik kırıklarının onarımı sırasında mitozla çoğalarak osteoblastlara dönüşürler (10).

Osteoblastlar kemik yapımında rol alan hücrelerdir. Osteoprogenitor hücrelerden meydana gelirler. Kemik yapım yerlerinde tek sıra halinde , epitel hücreleri gibi dizilirler.

Kemik fundamental substansının amorf kısmını ve fibrillerini (tip I kolagen) sentezlerler. Henüz mineralize olmamış bu tür temel madde osteoid adını alır. Osteoblastlar daha sonra salgıladıkları alkali fosfataz enzimi sayesinde kandan buraya geçen kalsiyum ve fosfor iyonlarının çökmesini

sağlarlar, böylece mineralize olan fundamental substans içinde hapsolur, aktivitelerini azaltır ve osteositlere dönüşürler (11,12).

Osteositler olgun kemik hücreleridir. Lacun adı verilen boşluklar içinde bulunurlar. Sitoplazmik uzantıları vardır, bu uzantılar kanaliküli osseiler içinde birbirlerine doğru uzanır. Kemik matriksi sertleşmiş olduğundan madde transportu osteositler üzerinden gerçekleşir (11). Aktivitelerini kaybettiklerinde osteoklastlar tarafından resorbe edilirler.

Osteoklastlar kemik resorpsiyonunu sağlayan hücrelerdir. Kemik yıkımı sırasında belirirler. Kandan gelen monositlerin birleşmesi ile şekillenen dev hücrelerdir. Osteoblastlar tarafından sentezlenen makrofaj koloni-uyarıcı factor (M-CF) monositlerin osteoklast yönünde farklılaşmaları ve hayatta kalmaları için gereklidir. Osteoklastların kemik yüzeyine oturdukları yerler çukurlaşır ve Howship lakünü adını alır (13).

Kemik matriksinin diğer destek dokulardan farkı inorganik maddeler içermesidir. Sağlam ve dayanıklı bir kemikte matriksin organik ve inorganik kısımları dengelidir.

İnorganik kısım temel maddenin kuru ağırlığının yaklaşık %50 kadarını oluşturur. Kemik dokusuna sertlik kazandırır. İnorganik maddelerin en önemlileri Ca^{++} (%85) ve P iyonu (%10) dur. Kemik matriksindeki Ca^{++} ve P iyonları hidroksiapatit kristalleri halindedir.

Kemik dokusunun organik kısmı osteoblastlar tarafından sentezlenir ve salgılanır. Amorf ve fibröz unsurlardan oluşur.

Amorf kısım hyaluronik asit, kondriodin 4-6 sülfat, keratan sülfat, osteonektin, osteokalsin, osteopontin ve gama karboksiglutamik asit ihtiva eder.

Fibröz kısım ağırlıklı olarak Tip I kollagen lifler bulunur. Tip I kollagen kemik matriksinin baskın proteindir.

Kemik dokusunu dıştan saran bağ dokusuna periost (periosteum) adı verilir. Gelişme döneminde iki katmandır. Daha hücresel yapıda olan iç katmana osteojenik tabaka adı verilir ve çoğunluğu osteoprogenitor hücreler oluşturur. Olgun kemiklerde ise bir miktar osteoprogenitor hücre yedek olarak

kalır. Periosteal kollajen liflerden oluşan Sharpey lifleri, matriks içine girerek periostu kemiğe bağlar.

Kemik dokusunu içten saran bağ dokusuna endost (endosteum) adı verilir. Endostun kemik dokuya bitişik yüzü üzerinde osteoprogenitor hücreler bulunur, bunlar da osteoblastlara dönüşerek kemik yapımına katılırlar.

Kemik Tipleri

Yapısına göre; primer, woven (olgunlaşmamış) ,örgümsü kemik ve sekonder, olgun veya lameller kemik olarak iki tip kemik bulunmaktadır.

Primer kemik dokusu; intrauterin hayatta ilk şekillenen kemik dokusudur, buna olgunlaşmamış kemik dokusu da denir. Primer kemik dokusunda kollajen iplikler gelişigüzel seyrederler, temel madde yeterince sertleşmemiştir, osteositler sayıca boldurlar, doku içinde düzensiz şekilde dağılmışlardır.

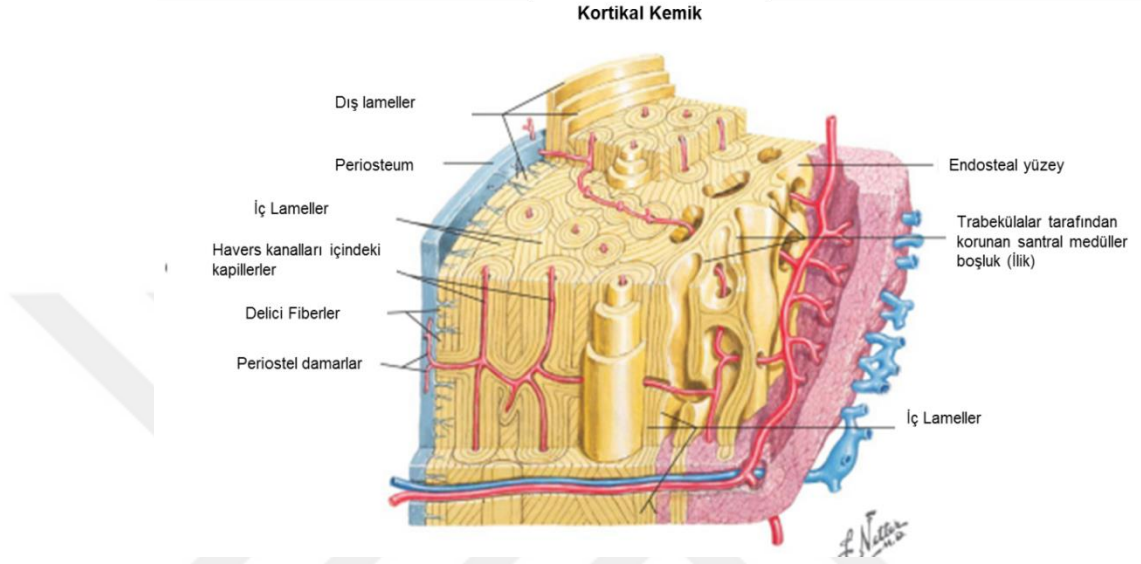
Sekonder kemik dokusu; Buna olgun kemik dokusu da denir. Lamelli bir yapı gösterir. Bir lamelde bulunan kollajen iplikler paraleldir ve komşu lameldekilere çapraz yönde ve spiraller yaparak seyrederler (8). Bu özel yapı sekonder kemiklere büyük bir dayanıklılık sağlar. Matriks oldukça sertleşmiştir. Osteositler kemik lamelleri üzerinde düzenli bir şekilde yerleşmişlerdir, kanalikülü osseiler iyi gelişmiştir (14). Erişkinlerde sadece sekonder kemik dokusu bulunur. Sekonder kemiğin süngerimsi ve kompakt kemik olmak üzere iki tipi vardır.

Süngerimsi kemikte kemik lamelleri tek tiptir, birbirlerine paraleldir, yer yer anastomozlaşırlar. Lameller arasında kemik iliği ile doldurulmuş büyük gözenekler vardır.

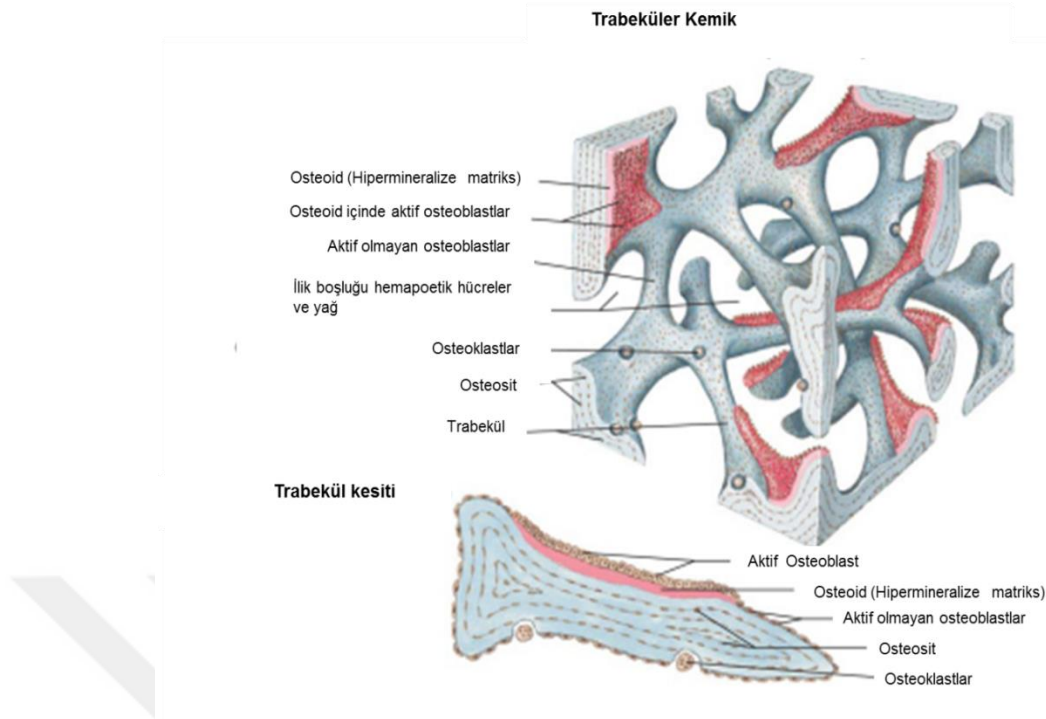
Kompakt kemik çıplak gözle bakıldığında homojen ve kompakt görünür. Ancak mikroskopla incelendiğinde küçük kanalcıklarla donandığı farkedilir. Kompakt kemik dokuda iki türlü kanal vardır. Kemiğin uzun eksenine paralel seyreden kanallara Havers kanalları denir. Bunları birleştiren yan kanallar ise Wolkman kanalları adını alır. Her ikisinin de içinde

kan damarları ve sinirler seyreder. Kompakt kemikte hücreler az yer kaplar, matriks yapıya hakimdir

Ortada Havers kanalı ile etrafındaki bu lameller birlikte bir sistem olarak kabul edilirler ve bunlara Havers sistemleri (veya osteon) adı verilir.



Şekil-1: Kortikal kemik yapısı (14)



Şekil-2: Trabeküler kemik yapısı (14)

Kemiğin Oluşumu

Kemik oluşumu iki farklı yolla olmaktadır. Mezenkim dokusunun doğrudan kemik dokuya dönüşmesine, intramembranöz kemikleşme; mezenkim dokusundan önce hyalin kıkırdak bir model üzerinden kemik doku gelişmesine, intrakartilaginöz (endokondral) kemikleşme denir (8,14). Yassı kemikler intramembranöz kemikleşme, kısa ve uzun kemikler ise intrakartilaginöz kemikleşme ile meydana gelir. Her iki şekilde de gelişen kemik primer kemiktir, daha sonra bunun yerini sekonder (olgun) kemik alır.

İntramembranöz kemikleşme sırasında mezenkim hücreleri hızla bölünerek osteoprogenitor hücrelere, bunlarda hızla bölünerek osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar kemik matriksini sentezleyip salgılayarak içinde gömülü kalır ve osteositlere dönüşürler. Böylece mezenkim dokusu içinde osteoid odaklar şekillenir (8,14).

Mezenkim dokusunda bulunan kan damarlarından çıkıp osteoid dokuya geçen Ca ve P iyonları, osteoblastların salgıladığı alkali fosfataz'ın

aracılığı ile CaPO_4 molekülleri oluştururlar. Böylece osteoid mineralize olarak primer kemik dokusunu oluşturur.

Bu şekilde mezenkim dokusu içinde oluşan primer kemik merkezleri birbirleriyle birleşerek süngerimsi kemiği meydana getirir. Süngerimsi kemik son şeklini aldığı anda primer kemik dokusu içeren trabeküller ortadan kalkar geriye sadece sekonder kemik yapısındaki trabekülleri kalır. Kemik trabekülleri arasındaki mezenkim dokusu ise kemik iliğine (retiküler bağ dokusu, hematopoetik doku) dönüşür.

Intrakartilaginöz kemikleşme ilk olarak mezenkim dokusundan o kemiğe benzeyen hyalin kıkırdak modeller oluşması ile başlar. Hyalin kıkırdak dışındaki mezenkim dokusu perikondrium yapısı kazanır. Perikondriumun iç kısmında bulunan mezenkim hücreleri bölünerek osteoprogenitor hücrelere, onlarda osteoblastlara dönüşür. Osteoblastlar kıkırdak yüzeyine tek sıra halinde dizilerek kıkırdağı saran kemik lamelleri sentezlerler ve lameller üzerindeki boşluklara yerleşerek osteositlere dönüşürler. Bundan sonra perikondrium değil periosteum olarak isimlendirilir. Perikondriumdan diffüzyon sayesinde beslenen kan damarı içermeyen kıkırdağın beslenemez. Kıkırdak hücreleri önce hipertrofiye olur, sonra harap olurlar. Periosteumda osteoklastlar belirir, bunlar kıkırdağı saran kemik lamelleri yer yer oyarak delikler açarlar. Bu deliklerden kıkırdak içine doğru damarlar filizlenir, damarlardan çıkan Ca ve P iyonları kondrositlerden kıkırdak matriksine geçen alkali fosfatazın aracılığıyla birleşerek kıkırdak matriksine oturur ve onu kalsifiye eder. Böylece kalsifiye olmuş kıkırdak merkezleri meydana gelir. Kan damarları ile bölgeye gelen yeni mezenkim hücrelerinden farklılaşan osteoblastlar, kıkırdak dokusu üzerine dizilerek primer kemik dokusu yaparlar. Böylece ortaları kireçleşmiş kıkırdak, yüzeyleri kemikten oluşmuş primer kemikleşme merkezleri meydana gelir (14). Daha sonra bu primer kemikleşme merkezlerindeki kıkırdak matriks kondroklastlar, primer kemikten oluşan kısımlar osteoklastlar tarafından resorbe edilir. Resorbe edilen bölgelere osteoblastlar tarafından sekonder kemik doku yapılır. Kemiğin ortasında oluşan kovuktaki mezenkim dokusu ise kemik iliğine dönüşür.

Kemik Fizyolojisi

Maturasyonunu tamamlayan kemik dokusu metabolik olarak çeşitli görevlerde yer alır (15).

Belirli bir kemik bölgesindeki yük miktarı artarsa, daha dayanıklı hale gelmek için kemik kendini zamanla yeniden şekillendirir. Trabekülün iç yapısında adaptif değişiklikler gerçekleşir Buna Wolff'un transformasyon yasası adı verilir. Bu yasaya göre kuvvetin yok olması kemik yapımını azaltırken, kuvvetin var olması ise kemik yapımını artırır (16).

Total vücut kalsiyumunun %99'u kemikte bulunmaktadır. Kalsiyum tuzları iskeletin yapısal bütününe sağlanması için gereklidir. Hücre içi kalsiyum ise kasların kasılması nöromusküler ileti ve hormonal veya reseptör sinyallenmesinde öneme sahiptir. İyonize kalsiyum düzeyi kemik yapımı, kemik yıkımı, kalsiyum emilimi ve kalsiyum atılımı arasındaki ilişki ile hücre dışı sıvıda dengede tutulur. Kalsiyum duodenum ve jejunumda emilir. Beslenme ile alınan kalsiyum miktarı azaldığında PTH tarafından böbrek tübüllerindeki 1,25-(OH)₂D sentezi uyarılır. Kalsiyum atılımı idrar, dışkı ve az oranda ter ile olur. PTH etkisi ile ihtiyaç halinde böbrek tübüllerinde kalsiyum geri emilimi hızlanır. 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 (14).

Kasılma, protein sentezi, hücre bölünmesi gibi olaylarda kullanılan yüksek enerji sağlayan ATP ve kreatin fosfat gibi moleküllerin yapısında bulunan fosfat, %85 oranında kemiğin mineral fazında hidroksiapatit şeklinde depolanır (14).

Hormonların da kemik üzerinde önemli etkileri vardır. Östrojen, testosteron ve büyüme hormonu özellikle puberte döneminde osteojenik hücrelerin sayılarını arttırarak osteoblastların organik matriks üretimini çoğaltmaları yoluyla etkilerini gösterirler (17). Kortikosteroidler kollajen sentezini önleyip osteoblast verimliliğini azaltarak kemik kaybını arttırırlar.

Tiroid hormonları ise kemik yıkımını kemik yapımından daha fazla etkileyerek osteoporoza neden olurlar.

Kırık Tanımı ve Tipleri

Kırık; kemiğin anatomik bütünlüğünün tamamen veya kısmen bozulması sonucu, yetmezliğe uğramasıdır. Ancak kırık tedavisi sırasında ortaya çıkan yara problemleri ve derin enfeksiyonlarının miktarı, kaynamama miktarının üzerindedir. Bu nedenle kırık tedavisinin en can alıcı yönü, yumuşak dokunun bakımı ve toparlanmasıdır (18). Bu sayede ciddi hasara yol açabilen komplikasyonların engellenmesi amaçlanır.

Kapalı kırıklarda yumuşak doku yaralanmalarını tanımlamak için kısmen subjektif olan Tscherne sınıflaması ve daha objektif bir sınıflama olmasına rağmen pratikte karmaşaya neden olabilen AO sınıflaması mevcuttur (Tablo-1) (19).

Tablo-1: Tscherne Sınıflaması (19)

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 (kompartman sendromu ve arteriyal yaralanma)

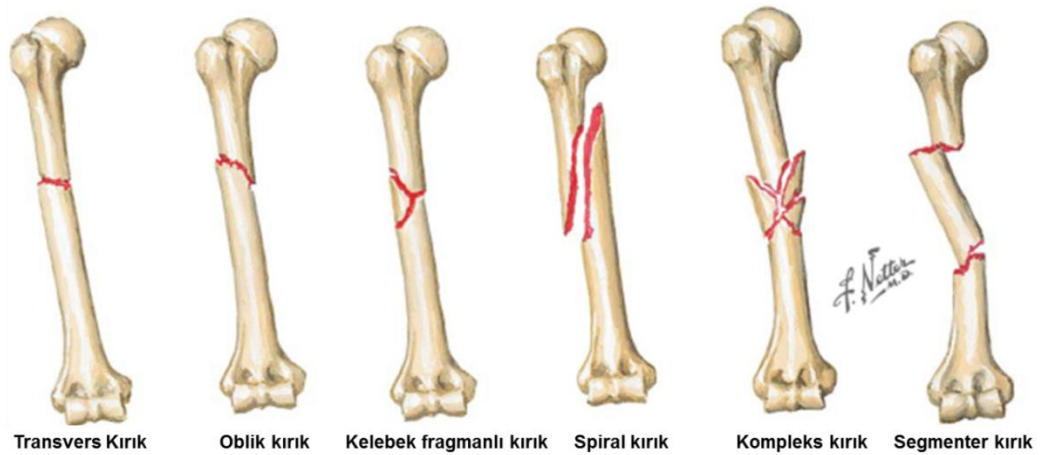
Açık kırıkları değerlendirmek için ise Gustilo-Andersen sınıflaması kullanılmaktadır (Tablo-2) (20).

Tablo-2: Gustilo-Andersen sınıflaması (20)

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

Kırıklar; kırık hattının dış ortamla ilişkisinin olup olmasına göre, kemik dokunun sağlamlığına göre, kırığı oluşturan kuvvetlere göre, kırık sayısına göre, kırığın derecesi veya kırık hattına göre, kırığın kemikteki anatomik lokalizasyonuna göre ya da kırılan kemiğin histolojik yapısına göre sınıflandırılmaktadırlar.

Kırığın kemikte olduğu bölge iyileşmenin şeklini ve iyileşme süresini doğrudan etkilemektedir.



Şekil-3: Kırık hattına göre kırık tipleri (18)

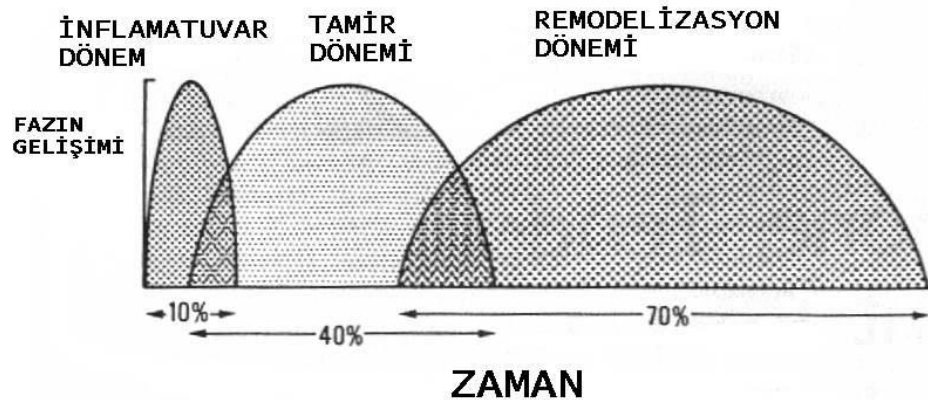
Kırık İyileşmesi

Travma veya cerrahi osteotomiler kemik yaralanmasına neden olurlar. Bu yaralanma mekanik instabiliteye, etkilenen dokunun vasküler desteğinde hasara buna bağlı olarak hipoksiye ve inflamatuvar cevabın artmasına neden olur.

Kırık alandaki hareketin derecesi iyileşmeyi etkiler. Hareket öncelikli olarak endokondral ossifikasyon ile iyileşmeye neden olurken, kırık alanında sağlanan rijidite membranöz ossifikasyon ile iyileşmeye olanak sağlar. Çoğu kırık bu iki sürecin kombinasyonu ile iyileşmektedir. Kısaca uygulanan tedavi kemiğin kırığa vereceği biyolojik cevabı değiştirir.

Birincil kırık iyileşmesi uç uca gelen, yüksek derecede stabilite sağlanmış kırıklarda gözlenir. Radyolojik olarak kallus görülmez. Kırık uçlarında bulunan nekrotik alanlar osteoklastlar tarafından rezorbe edilir. Osteoklastları izleyen osteoblastlarca yeni kemik oluşumu sağlanır (18,22,57). Kırık sürecin olmaması nedeniyle intramembranöz kemikleşmeye benzetilir.

İkincil kırık iyileşmesi tabii kırık iyileşme şeklidir. Anatomik olmayan redüksiyonlar ve rijit olmayan tespit sonrasında görülen sık rastlanan iyileşme şeklidir. Birbirinin içine girmiş üç evrede incelenir. Evreler kesin sınırlarla ayrılamaz. Remodelizasyon en uzun süren evredir (Şekil-4).



Şekil-4: Kırık iyileşmesinin evreleri (43)

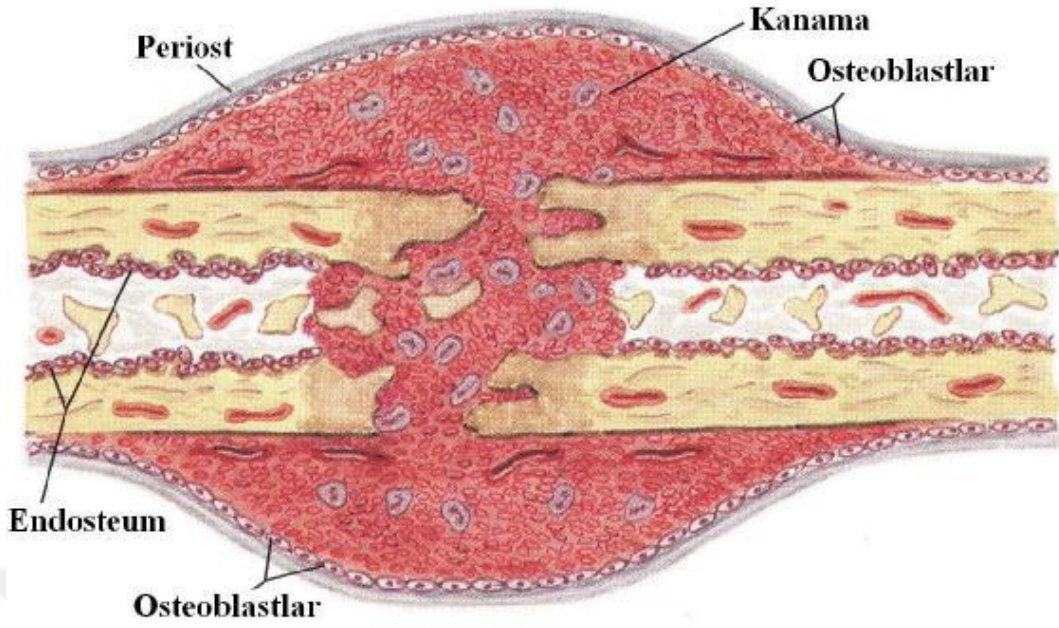
İnflamasyon süreci ilk 3-4 günlük süreyi kapsar. Kırık oluştuğunda travmanın şiddetine bağlı olarak periost, çevre yumuşak dokular ve damarlar yaralanır. Kırık uçların etrafına kan ve lenf sıvısı toplanır Bu birikintiyi kırık hematomu denir. Deneysel çalışmalarla, bu hematoma boşaltılmasının kırık iyileşmesini yavaşlattığı gösterilmiştir (7,43). Açık kırıklarda ya da açık cerrahi ile tedavi edilmiş kırıklarda hematoma organizasyonu bozulacağı için iyileşme süreci uzar (58,24).

Trombosit ve trombotik faktörler kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için bu bölgeye toplanırlar. Kırık bölgesinde hasarlanan damarlar nedeniyle bu bölgede bulunan osteositlerin lizise uğrar. Yerlerini boş lakunalar alır. Böylece nekroz bölgesi oluşur. Nekroz bölgesinin varlığının inflamasyonun başlamasında önemli rolü vardır (59).

Hücrelerin ölümü ve buradaki trombositler damarlarda vazodilatasyona, bu da ilk 24 saat içinde ödeme yol açar Hematomdaki trombosit, fagosit ve 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 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6) vb. sitokinler pluripotent mezenkimal hücre göçü, periosteal hücre çoğalması ve onarım dokusunun matriks sentezi için gereklidir (21,22,23,59). Yaralanmayı izleyen 24 saat içinde proinflamatuvar moleküller zirve yapar. Zirve yapan bu sitokinler 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 (20).

Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olur. Bu şekilde oluşan fibrin ağına kemik yapımı için gerekli olan hücreler yerleşir ve çoğalır.

Kırık bölgesine gelen polimorf nüveli lökositler (PMNL), makrofaj ve lenfositler salgıladıkları sitokinlerle anjiogenezi başlatırlar (22). Erken dönemde periost kökenli kapiller tomurcuklanma ile oluşan damarlanmada artış fazlayken geç dönemde medüller besleyici arterler ön plana çıkar (Şekil-5) (19).

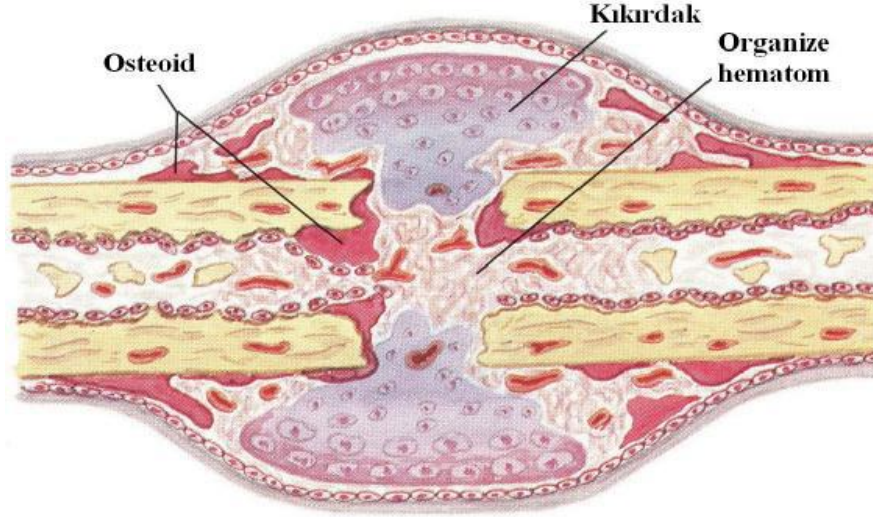


Şekil-5: Kırık iyileşmesinde inflamasyon safhası: Travma sonrası intraosseöz, periosteal ve çevre kan damarlarının yaralanması sonucu hematoma oluşur. Kırık kenarlarındaki kemik nekroze olur. Lökositler, makrofajlar, mast hücreleri ve fibroblastlar pıhtıya infiltre olur ve nekroze kemiği uzaklaştırmaya başlarlar (18).

Kırık iyileşmesinde en önemli kısım onarım dönemidir. İlk basamak hematoma organizasyonu olmasıdır. Hücre proliferasyonu başlamış (ilk 48 saat içinde), kırık hattı boyunca rezorpsiyon devam etmektedir. Hücre proliferasyonu sonucu kırık uçlarındaki boşluklar hücrelerle dolar. Kırık hattındaki hücresel aktivitenin başlaması için kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur. Onarım evresi saatler içinde başlasada yapısal olarak tipik hale gelmesi 8–11 gün sürer. Kırık iyileşmesi olayında rol oynayan hücreler mezanşimal kökenli pluripotent hücreler olup kırık bölgesindeki granülasyon dokusundan, periosteal osteojenik tabakasından ve endosteal bölgeden köken alır. İlk değişikliğe uğrayan hücreler hematoma içine giren fibroblastlardır. Üçüncü günde kırık uçlarında yoğun olarak mezanşimal hücreler bulunur. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matristeki fibroblastların çoğalmasıyla bir granülasyon dokusu gelişir. Fibroblastlar kollajen, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan sentezlerken; osteoblastlar osteoidi oluştururlar. Bu evrede kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen miktarıyla yakın ilişkilidir. Kırığın

hareket derecesiyle oluşan kallusun boyutu doğru orantılıdır. Periostun uğradığı hasarın derecesi de kırık iyileşmesini yavaşlatmaktadır (60).

Kırık bölgesinde mezenşimal hücre çoğalması 32. saatte pik yapar (7,9). Oluşmaya başlayan kan damarları birinci haftada belirginleşirler. Ancak kılcal damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı değildir. Kemiğe yakın olmayan, orta kısımdaki hücreler kan dolaşımı bu bölgede daha fakir olduğu için kondroblast ve kondrositlere farklılaşırlar. Beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler ise osteoblastlara dönüşür. Kanlanmanın yeterli olduğu bölgedeki hücreler farklılaşarak osteoblastları, osteoblastlar da yeni trabekülleri oluşturur. Böylece en dış periferik 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, zamanla birleşen yakalık tarzındaki bu doku dış kallusu oluşturur. Böylece kırık uçlarının bütünlüğü sağlanır. Kemik hücrelerinin çoğalması ve kırık dokudaki interstisiyel büyüme kallus dokusunun gelişimini sağlar. Endosteum ve kemik iliğinin osteojenik hücrelerinden gelişen trabeküller ise medullanın köprüleşmesini sağlayarak iç kallusu oluşturur. İlk 7-12 günün sonrasında yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kırıkdan oluşmuştur ve kırık sahasını çevreler (Şekil-6)(9). Kırık kallus; kollajenler, hiyaluronik asit, sülfatlı proteoglikanlar (agrekân) gibi pek çok farklı hücre dışı ara madde proteinlerinden oluşur (20). Angiogenez ve kanlanma yeterli olursa, osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar.



Şekil-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 (18).

Hücre düzeyinde yapılan çalışmalarda damar endotelinin sialik aside bağlı olarak; kıkırdak dokunun ise proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklü olduğu gösterilmiştir (59,61). Ca^{+2} ise damarlar ve kıkırdak doku arasında negatif yüklerden kaynaklanan itme kuvvetini ortadan kaldırarak yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Bu nedenle sert kallus (kemik kallus) dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi için de osteoidin mineralizasyonu şarttır (61).

Mineralizasyon (kalsifikasyon) olayında ortak teori; osteoiddeki matriks vezikülleri varlığına dayanır. Bu veziküller, yüksek konsantrasyonda Ca^{+2} ve PO_4 iyonları, siklik adenosin monofosfat (cAMP), adenosin trifosfat (ATP), adenosintrifosfataz, ALP, pirofosfataz, Ca^{+2} bağlayan protein ve fosfoserin içerirler. Matriks vezikül membranı, Ca^{+2} iyonlarını veziküle taşıyan çok sayıda Ca^{+2} pompasına sahiptir. Vezikül içindeki iyon konsantrasyonu arttığında, kristalizasyon oluşur ve büyüyen kalsiyum hidroksiapatit kristal parçaları membranı delip matriks vezikülünü patlatarak içeriğini salar. Pirofosfataz enzimi, kalsifikasyonu önleyen pirofosfatları parçalar. ALP ise

fosfat esterlerinden PO_4 iyonunu serbestleştirerek kalsiyumun 34 çökmesini sağlar. Matriks veziküllerinden salınan kalsiyum hidroksiapatit kristalleri kristalizasyon kaynağı olarak hareket eder. Kristalizasyonun çevresindeki iyonların yüksek konsantrasyonu, kalsifikasyon faktörlerinin varlığı ve Ca^{+2} bağlayan proteinler, matriks kalsifikasyonunu teşvik ederler (61).

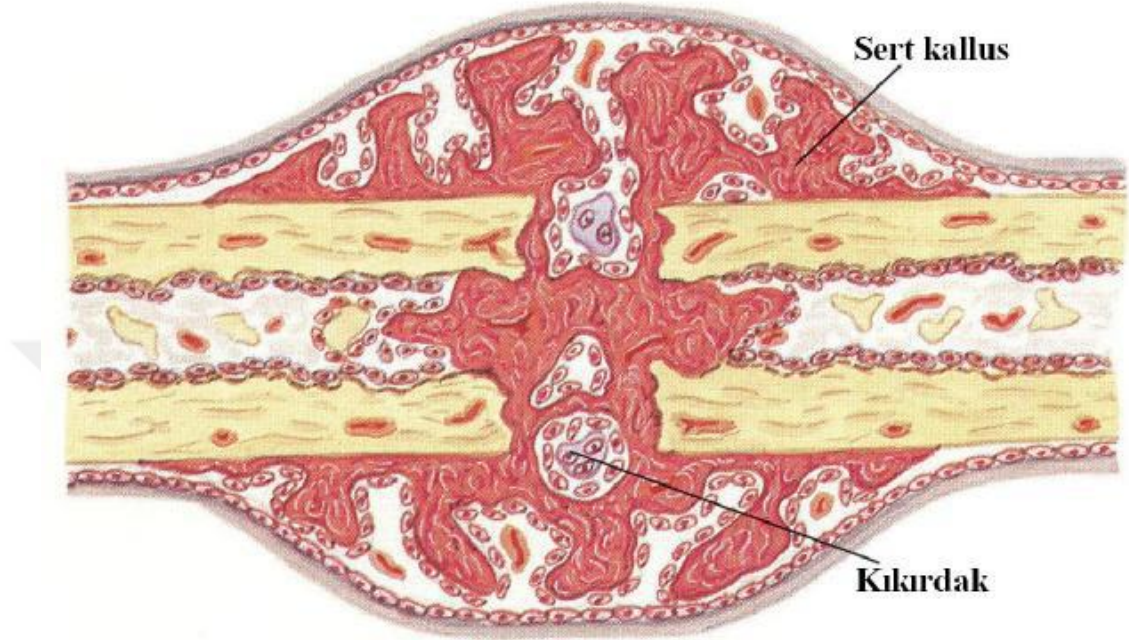
Angiogenez ve kanlanmanın yeterli olması durumunda osteoblastlar kallus içerisinde yeni kemik matriksi sentezler (18,23). Bu süreç, osteoblastlar tarafından tropokollojen oluşturulmasıyla başlar. Tropokollojen, kollajen tellere polimerize olur. Kollajen teller içinde bulunan aminoasit zincirleri ile Ca^{+2} ve PO_4 eriyiklerinin ile kırık bölgesinde mineraller görülmeye başlar. Böylece kalsiyum hidroksiapatit kristalleri tellerin içinde veya etrafında kümelenir. Kalsifikasyon ise bu teller üzerine kalsiyum fosfat biriktiği zaman başlar. Bu olay proteoglikanlar ve Ca^{+2} bağlayan bir glikoprotein olan osteonektinle uyarılır (62).

Kondrositler hipertrofiye olduğunda ALP salgılanır ve matriks vezikülleri atılmaya başlar. ALP kalsiyumun çökmesi için gereken fosfatı sağlar. Kırıkta matriks kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler beslenemezler ve ölürlür. Bulundukları yerde boş lakunalar meydana gelir. Lakunar boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girmeye başlar. Kırıkta dokusundan kemik gelişiminde, FGF'nin de rolü olduğu söylenmektedir (62).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve yeni kemik gelişimi için prostoglandinlerin aracılık ettiği bir düşünülen etkiyle osteoklastlar aktive olur. Sonuçta nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir.

Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuklardan, kompakt kemikte ise trabeküler kemikten daha yavaş meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyon süresi 4–16 hafta kadardır. Bu dönemde kırık uçları arasında sert bir köprü (sert kallus) oluşur ki bu mekanik zorlamalara oldukça dayanıklıdır (Şekil-7). Kallus oluşumuyla beraber kaynamanın olduğu söylenebilir. Zamanla olgun lamellar kemiğe dönüşür (18,23).

Onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodeling) başlar.



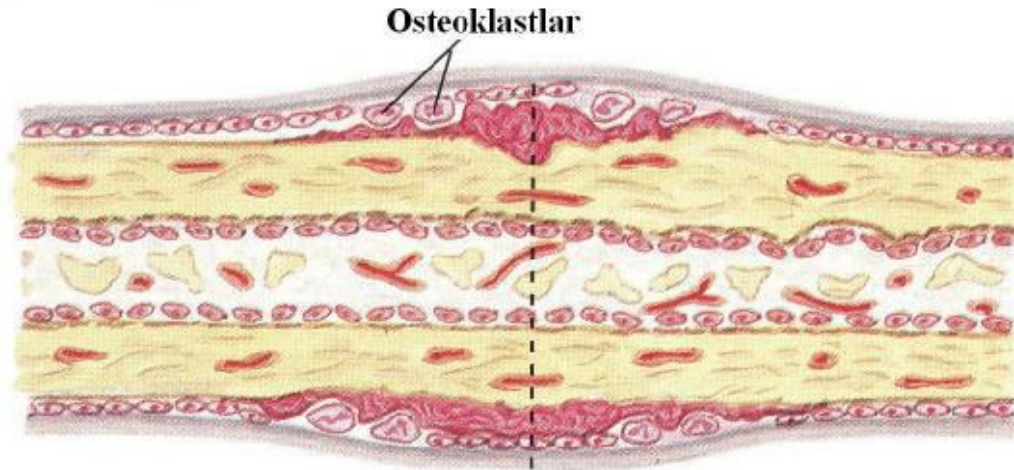
Şekil-7: Kırık iyileşmesinde sert kallus oluşturma evresi: medüller, periostal ve eksternal yumuşak kallus, sert kallusa dönüşürken mineralize olur (19).

Sert kallus oluşumundan sonra yeniden şekillenme evresi başlar. Bu Kallus dokusu rezorbe olur ve lamellar kemiğe dönüşür. Bu sırada kemiğin şekli ve medüller kanal yeniden restore edilir. Wolff 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 uyarak konkav yüzde yeni kemik oluşumuna yol açar. Böylece yeni kemiğin şekillenmesi tamamlanarak sekonder kemik iyileşmesi tamamlanmış olur

Kemiğin yeniden şekillenmesi aylar-yıllar sürebilir. Kırık çevresindeki fazla kemik dokusu rezorbe olur, medüller kanalları açılır. Normal kemik

yapısı kazanılır. Yani bir taraftan osteoklastik faaliyetle rezorbsiyon, diğer taraftan osteoblastik faaliyetle yeni kemikleşme olur (Şekil-8).

Remodelizasyon Wolff kanunlarına göre olur (59,60,61). Wolff kanunu, kemiğin remodelizasyon döneminde normal şeklini sağlamasını açıklar. Mekanik strese maruz kalan kemiğin konveks yüzü pozitif, konkav yüzü ise negatif elektrikle yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin hâkim olduğu konveks yüzde geri emilim ve osteoblastik aktivitenin hâkim olduğu konkav yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır. Böylece yeni kemiğin şekillenmesi tamamlanarak sekonder kemik iyileşmesi tamamlanmış olur (18,23,31,59,60,61). Remodelizasyon kapasitesi yaş ile ters orantılıdır. Kemiğin tıraşlanıp yeniden eski haline döndüğü yeniden şekillenme evresi 1–2 yıldan 6–9 yıla kadar uzayabilir.



Şekil-8: Kırık iyileşmesindeki kemik remodelizasyon evresi: osteoblastik ve osteoklastik aktivite sert kallusu lamellar kemiğe dönüştürür. Normal kemik konturları oluşur, hatta açılanma kısmı veya tam olarak düzelir (18).

Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

1-Genel Faktörler

En kısa kırık iyileşme süresi çocuklardadır. İskelet olgunlaşmasının ilerlemesi ile yavaşlar. Çocuklarda hücrelerin onarım oluşturma yeteneği fazladır. Aksiyel rotasyon hariç çocuklarda mükemmel bir yeniden şekillenme kapasitesi mevcuttur

Malnutrisyon kırık iyileşmesini bozan faktörler arasında yer alır

Non steroid antiinflamatuvar ajanların prostoglandin sentez inhibisyonu yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (29,30). Kortikosteroidler inflamatuvar fazı bozar, osteoblastların gelişimini yavaşlatır, matriks protein sentezini azaltır ve kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilerler(17,31,29). Zolendronate (bifosfanat grubu) kemik yapımını özellikle metafizer bölgede uyararak kemik hacmini artırır (37).

Paget hastalığı, osteopetrozis, osteomalazi, gaucher hastalığı v.b. sistemik tutulum yapan genetik ve metabolik hastalıklar kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilerler (18).

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

Parathormon kemiğe doğrudan etki ederek kemik rezorpsiyonunu artırır. Kemik kaybının artması ve kırık kaynamasını yavaşlatmaktadır. Kalsitonin ise trabeküler ve kompakt kemik yapımını artırır. Osteoblastik aktiviteyi arttırmalarının yanında kemik rezorpsiyonun azaltırlar (32,33). Yapılan çalışmalarda testosteronun kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (38).

Vitamin A mezenşimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesini olumlu etkiler. Ancak eksikliğinde kemik oluşumu yavaşlar ve epifizyel kıkırdak gelişimi azalarak encondral büyüme durur. Fazlalığında ise hücre farklılaşması yavaşlar ve kıkırdakta 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 kıkırdak şekillenmesinde etkindir. Kollajen sentezini uyararak kırık iyileşmesini olumlu etkiler (34). Eksikliğinde ise kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir. Vitamin E kırık hematomaunda oluşan serbest oksijen radikalleri üzerine antioksidan etkinliği

olduğu gösterilmiş olup erken dönemde kırık iyileşmesine olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir (35)

Kafa travması olan hastalar aşırı kallusla iyileşirler ancak bu aşırı kallusun yanında artmış heterotopik ossifikasyon riski mevcuttur (18).

Yapılan çalışmalarda sigara içmenin kırık iyileşmesini kötü yönde etkilediği ve kaynamama için önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (31,36).

Hiperbarik oksijen tedavisi kırık iyileşmesini olumlu yönde etkiler (63)

2-Bölgesel Faktörler

Fazla hareketli kırık hattı hematoma bütünlüğünü bozar, kallus köprüleri oluşumunu engeller sonuç olarak kaynamanın gecikmesine ya da kaynamamaya neden olabilir(31).

Kırık uçları arasına yumuşak doku interpozisyonu kaynamayı olumsuz yönde etkiler. Bu duruma redüksiyon sırasında ya da eksternal fiksator uygularken kırık uçlarını fazla distrikte ederek yol açılabilir (31).

Kırık olan bölgede kanlanmanın zarar görmesi kırık iyileşmesini negatif yönde etkileyen faktörlerden biridir. Zayıf kan dolaşımı olan femur boynunun intrakapsüler kırıkları, talus ya da skafoid kırıklarda bu sebeple kırık kaynaması gecikebilir (31).

Kemiğin kanlanmasının 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 (31).

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 (18,31).

Enfeksiyon kırık iyileşmesini yavaşlatmakta ve geciktirmektedir. Bu durumda inflamatuvar fazda uzama gözlenir(31).

Kallus dokusunun sertliğini artırarak kırığın mekanik direncini arttıran düşük yoğunluklu ultrason, kırık iyileşmesini hızlandırır. (31).

Radyoterapinin lokal olarak uygulanması sonrası hücre ölümü, damarlarda tromboz oluşumu ve kemik iliğinde fibrozis gelişmesi sonrası kırık iyileşmesinin gecikmesi veya durması gözlenir (18,39).

Embriyonik mezenkim dokusunun lokal uygulamaları da kırık iyileşmesine olumlu katkı sağlar (40).

Koenzim Q10

Koenzim Q10 yağda çözünen, vitamin benzeri bir maddedir ve membran stabilizasyonunda rol oynayan güçlü bir antioksidandır (56). Koenzim Q10'in oksijen radikalleri ile reaksiyona girdiği, biyomoleküllerin doğrudan hasar görmesini ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunu önlediği belirtilmiştir. Bu nedenle , kardiyak, nörolojik ve immünolojik hastalıklarda bu enzim incelenmiş ve farklı türdeki doku iskemi/reperfüzyon hasarlarına ve omurilik travmalarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (41,53,54). Kırık iyileşmesinin inflamatuvar evresinde ise polimorf nüveli lökositlerden yüksek miktarda serbest oksijen radikalleri salınmaktadır (3). Oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri osteoklast aktivasyonu yaparak kemik rezorbsiyonuna neden olmaktadır (64,65).

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 osteoporoza ve kırık oluşumuna daha yatkın hale getirir (58,59). Koenzim Q10'in osteoklast farklılaşma yolunda, reaktif oksijen radikalleri oluşumunu inhibe ettiği ve osteoblast olgunlaşmasına olumlu etkisi gösterilmiştir (42). Ancak Koenzim Q10 'in kemik remodelizasyonu sırasında yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu moleküler mekanizma hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (52).

Koenzim Q10'i hem güçlü antioksidan özelliği olan hem de kemik yapımında görev alan hücreler üzerinde, kemik yapımı lehine etkileri olan bir

maddedir. Bu nedenle koenzim Q10'in sıçan kemik iyileşmesi modelinde potansiyel terapötik etkisini araştırmayı amaçladık.



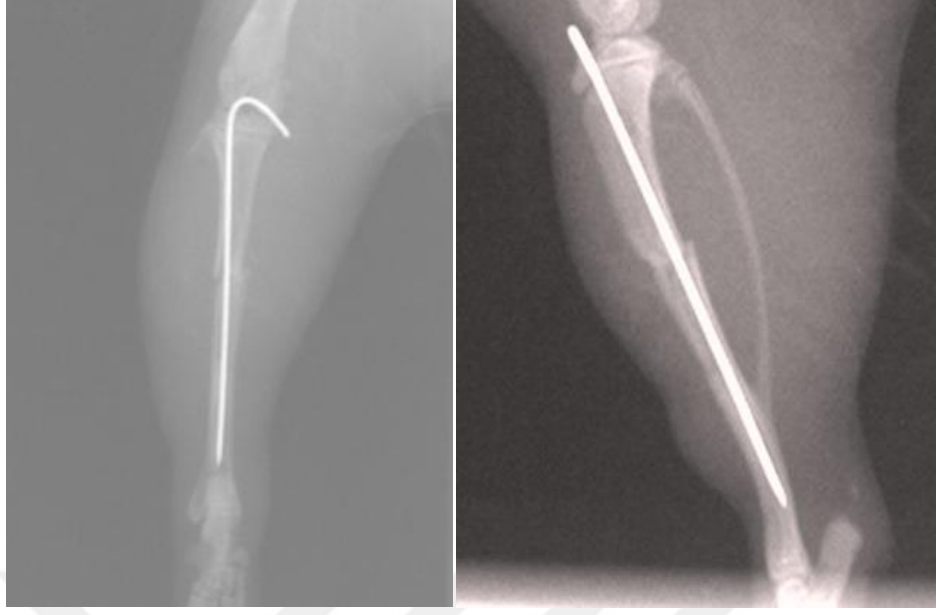
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 15.09.2015 tarihli toplantısında 2006-05/17 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 32 adet Wistar albino rat üzerinde gerçekleştirildi.

Çalışma Planı-Cerrahi Teknik

Hayvanlar her grupta 8 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu (K1), ikinci grup intraperitoneal soya fasulyesi yağı verilen grup (S1), üçüncü grup intraperitoneal 25mg/kg/gün dozunda soya fasulyesi yağında çözünmüş koenzim Q10 verilen grup (S2), dördüncü grup ise 50mg/kg/gün dozunda intraperitoneal soya fasulyesi yağında çözünmüş koenzim Q10 verilen grup olarak ele alındı. Tüm hayvanlara sevofluran ile inhalasyon anestezisi kullanarak anestezi verildi. Sterilizasyon öncesi tüm ratlar traş edildi. Daha sonra hayvanlara supin pozisyonda, sol alt ekstremitede çalışılacak şekilde pozisyon verildi.

Koksafemoral eklem ve tibiotalar eklem arasında kalan bölge %10 serbest alkol içeren povidon iyot ile dezenfekte edildikten sonra steril örtüm sağlanarak sol kruris anteriordan yapılan 0,5-1 cm lik insizyon sonrası cilt ciltaltı geçildi. Proksimal tibial diafizde margo anteriora ulaşıldı. İnce doku makası yardımı ile tibiada transvers kırık oluşturuldu.



Şekil-9 : Tibia diafizinde oluşturulan tranvers kırığın radyolojik görünümü

Kırık oluşturulmasını takiben diz anteriorundan yapılan insizyon ile tibia anterioruna ulaşıldı. tibia proksimalinden antegrad gönderilen 1mm kalınlığında kirschner teli ile fiksasyon sağlandı.

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

Ameliyat sonrası ilk günden başlamak üzere S1 grubuna 4 cc/kg/gün soya fasulyesi yağı; S2 grubuna soya fasulyesi yağı içinde çözünmüş 25mg/kg/gün koenzim Q10; S3 grubuna soya fasulyesi yağı içinde çözünmüş 50mg/kg/gün koenzim Q10 intraperitoneal olarak 28 gün boyunca enjekte edildi. Kontrol grubuna sadece standart rat yemi ve su verildi. Daha sonra her gruptan 4 rat ayrılarak erken dönem kırık iyileşmesi bakılması planlanarak 14.günde sakrifiye edildi. Ratlar önce diz ekleminde daha sonra da ayak bileği ekleminde dezartiküle edildi. Yumuşak dokular kallus dokusuna zarar vermeyecek şekilde uzaklaştırıldı. Aynı işlem kalan ratlara da 28.günde uygulandı. Kırık; radyolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendi.

Radyolojik İnceleme

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

Tablo-3: Radyolojik skorum 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 4 gruba ait 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 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

İmmünohistokimyasal İnceleme

İmmünohistokimyasal boyama Koenzim Q10 (Anti-COQ10B antibody ab41997; abcam; England) antikoru ile Leica Bond-Max otomatik immünohistokimya boyama cihazında, polimer DAB kit kullanılarak yapıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme semikantitatif olarak yapıldı. Her dört gruptaki kırık bölgesindeki fibroblast benzeri hücreler, osteoblastlar, kondrositler ve immatür osteositlerdeki boyanma dikkate alındı. Hiçbir hücrede boyanma yoksa 0, %1-25 oranındaki hücrede pozitif boyanma varsa 1, %26-50 oranındaki hücrede pozitif boyanma varsa 2, %50'nin üzerindeki hücrede pozitif boyanma varsa 3 olarak skorlandı. Koenzim Q10 immünboyasının boyanma yoğunluğu olarak 0 negatif, 1 hafif, 2 orta, 3 ise kuvvetli pozitiflik olarak yorumlandı.

İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde medyan, minumum ve maksimum değerleri kullanılmıştır. Analizlerde IBM SPSS 22 programı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile test edilmiştir. İkiiden fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında parametrik olmayan istatistiksel yöntemlerden Kruskal Wallis H testi, iki bağımsız grubun Mann-Whitney kullanılmıştır. Değerlendiricilerin uyumu Kappa katsayısı ve iki sürekli değişken arasındaki ilişiki olup olmadığı Spearman korelasyon katsayısı ile incelenmiştir. Araştırmada $\alpha=0,05$ olarak alınmıştır.

BULGULAR

Deney sırasında K1 grubundan ve S1 grubundan 1'er hayvanda diz ekleminde septik artrit gelişti. Sonuçları etkileyeceği düşünülerek bu hayvanlar çalışmaya dahil edilmedi. İntraperitoneal soya fasulyesi yağı ve İntraperitoneal soya fasulyesi yağında çözünmüş koenzim Q10 enjeksiyonu sonrası hayvanlarda herhangi bir yan etki saptanmadı.

Radyolojik Bulgular

Radyolojik değerlendirme 2 ortopedistin verdiği değerlerle yapıldı

Tablo-5.1: Radyolojik değerlendirme (Kontrol Grubu ve S1 Grubu)

Grup	Hayvan	Radyolojik erken dönem	Radyolojik geç dönem	Radyolojik erken dönem	Radyolojik geç dönem
		1.ortopedist	1.ortopedist	2.ortopedist	2.ortopedist
K	1	1	2	1	1
	2	2	3	2	3
	3	1		1	
	4	1		1	
	5	1		1	
	6	1		1	
	7	1	2	1	2
	8	-	2	-	2
S1	9	1		1	
	10	-		-	
	11	1	1	1	1
	12	1		1	
	13	1		1	
	14	1	2	1	2
	15	1	2	1	2
	16	1	2	1	2

Tablo-5.2: Radyolojik değerlendirme (S2 ve S3 Grubu)

		Radyolojik	Radyolojik	Radyolojik	Radyolojik
Grup	Hayvan	erken dönem	geç dönem	erken dönem	geç dönem
		1.ortopedist	1.ortopedist	2.ortopedist	2.ortopedist
S2	17	1	2	1	2
	18	1	2	1	2
	19	1		1	
	20	2	2	2	1
	21	2		2	
	22	1		1	
	23	1	1	1	1
	24	1		1	
S3	25	1	3	1	3
	26	1		1	
	27	1		1	
	28	1	2	1	1
	29	2	3	2	3
	30	2		2	
	31	1	2	1	2
	32	1		1	

Tablo-6: Radyolojik erken dönem ve geç dönem fark skorlarının istatistiksel değerlendirilmesi (1.Ortopedist)

1.Ortopedist		Kontrol					S1 grubu				p
Erken Dönem	Med(Min-Mak)	1	1	-	2		1	1	-	1	0,541
		S2 grubu					S3 grubu				
		1	1	-	2		1	1	-	2	
		Kontrol					S1 grubu				p
Geç Dönem	Med(Min-Mak)	2	2	-	3		2	1	-	2	0,16
		S2 grubu					S3 grubu				
		2	1	-	2		2,5	2	-	3	

Radyolojik, histopatolojik ve immünokimyasal tüm verilerin karşılaştırıldığı istatistiksel analizde ise radyolojik açıdan; kontrol, S1, S2 ve S3 gruplarında, 1. ortopedistin erken ($p=0,541$) ve geç ($p=0.160$) dönem değerlendirmelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir (tablo 6).

Tablo-7: Radyolojik erken dönem ve geç dönem fark skorlarının istatistiksel değerlendirilmesi (2.Ortopedist)

2.Ortopedist		Kontrol					S1 grubu				p
Erken Dönem	Med(Min-Mak)	1	1	-	2		1	1	-	1	0,541
		S2 grubu					S3 grubu				
		1	1	-	2		1	1	-	2	
		Kontrol					S1 grubu				p
Geç Dönem	Med(Min-Mak)	2	1	-	3		2	1	-	2	0,530
		S2 grubu					S3 grubu				
		1,5	1	-	2		2,5	1	-	3	

Radyolojik, histopatolojik ve immünokimyasal tüm verilerin karşılaştırıldığı istatistiksel analizde ise radyolojik açıdan; kontrol, S1, S2 ve S3 gruplarında, 2. ortopedistin erken ($p=0,541$) ve geç ($p=0.530$) dönem değerlendirmelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir (tablo 7).

Histopatolojik Bulgular

Radyolojik incelemenin ardından hazırlanan preparatlar Huo ark.'nın tarif ettikleri kriterlere göre histopatolojik olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede geç dönemde kontrol grubunun medyan değeri 7,0 (minimum 7,0-maksimum 7,0) ,S1 grubunun medyan değeri 7,0 (minimum 7,0-maksimum 7,0) , S2 grubunun medyan değeri 7,0 (minimum 7,0-maksimum 7,0), S3 grubunun medyan değeri 7,5 (minimum 7,0- maksimum 8,0) olarak bulundu (Tablo-8) .

Histopatolojik geç dönem bulguların immunohistokimyasal geç dönem bulgularla karşılaştırılmasında ($p=0.213$) ve radyolojik geç dönem (1.ortopedist $p=0.704$ / 2.ortopedist $p=0.242$) bulgularla karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Radyolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal tüm verilerin karşılaştırıldığı değerlendirilmelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit istatistiksel analizde ise histopatolojik açıdan; kontrol, S1, S2 ve S3 gruplarında, erken (p=1) ve geç (p=0.93) dönemlerin edilmiştir.

Tablo-8: Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme puanları

Grup	Hayvan	Histopatoloji erken dönem	Histopatoloji geç dönem	İmmünohistokimya erken dönem	İmmünohistokimya geç dönem
K	1		7		++
	2		7		+
	3	1		-	
	4	1		+++	
	5	1		+	
	6	1		+	
	7		7		++
	8		7		++
S1	9		7		+
	10		7		+
	11	1		+++	
	12		7		++
	13		7		++
	14	1		+	
	15	1		+	
	16	1		++	
S2	17	1		-	
	18	1		+	
	19		7		+
	20	1		+++	
	21		7		++
	22		7		-
	23	1		+++	
	24		7		++
S3	25	1		+	
	26		8		-
	27		7		-
	28		8		+
	29	1		+	
	30	1		+	
	31		8		-
	32	1		+	

Tablo-9: Histopatolojik istatistiksel değerlendirme

Histopatolojik		Kontrol					S1 grubu				p
Erken Dönem	Med(Min- Mak)	4	1	-	7		4	1	-	7	0,951
		S2 grubu					S3 grubu				
		4	1	-	7		4	1	-	8	
		Kontrol					S1 grubu				p
Geç Dönem Fark Skorları	Med(Min- Mak)	4	0	-	7		4	1	-	8	0,597
		S2 grubu					S3 grubu				
		5	2	-	8		4,5	1	-	8	

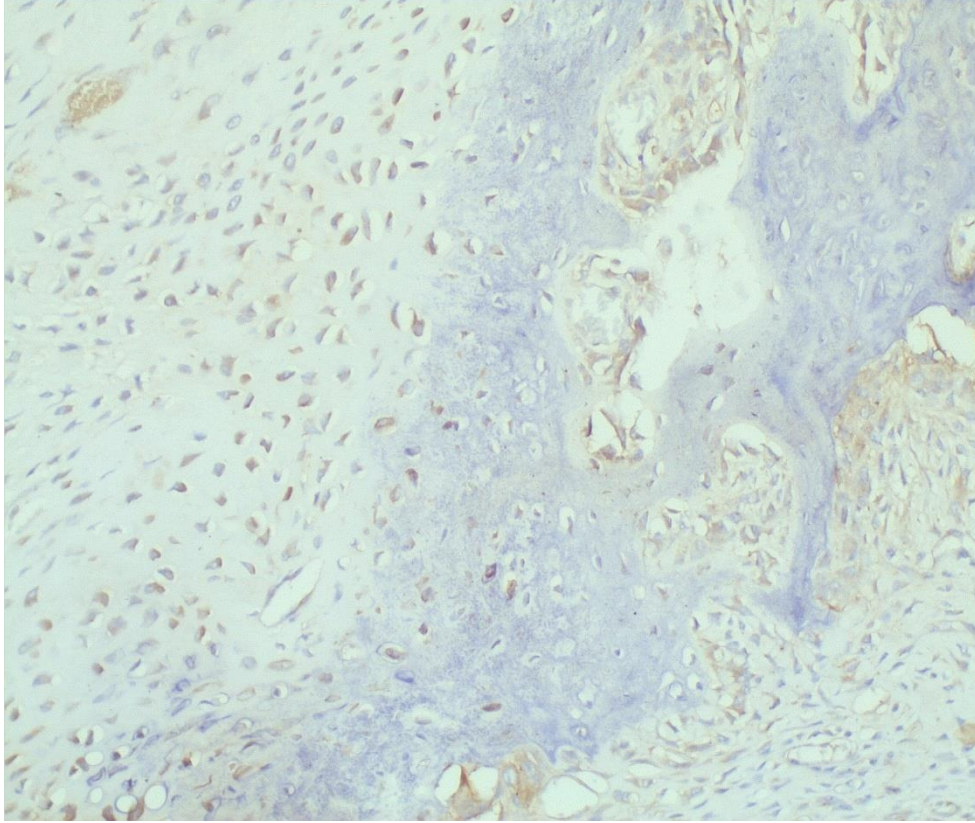
İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal geç dönem bulguların geç dönem histopatolojik bulgularla karşılaştırılmasında ($p=0.213$) ve radyolojik geç dönem (1.ortopedist $p=0.587$ / 2.ortopedist $p=0.680$) bulgularla karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

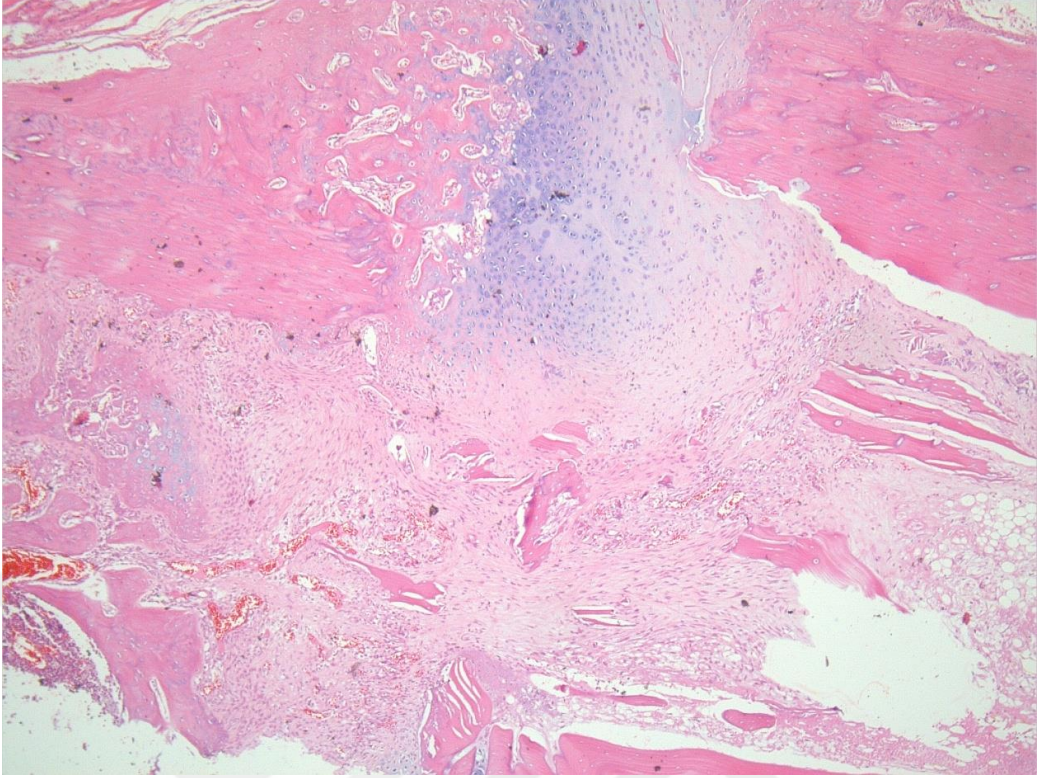
Radyolojik, histopatolojik ve immünokimyasal tüm verilerin karşılaştırıldığı istatistiksel analizde ise histopatolojik açıdan; kontrol, S1, S2 ve S3 gruplarında, erken ($p=0.693$) ve geç ($p=0.069$) dönemlerin değerlendirilmelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo-10: Immünühistokimyasal istatistiksel değerlendirme

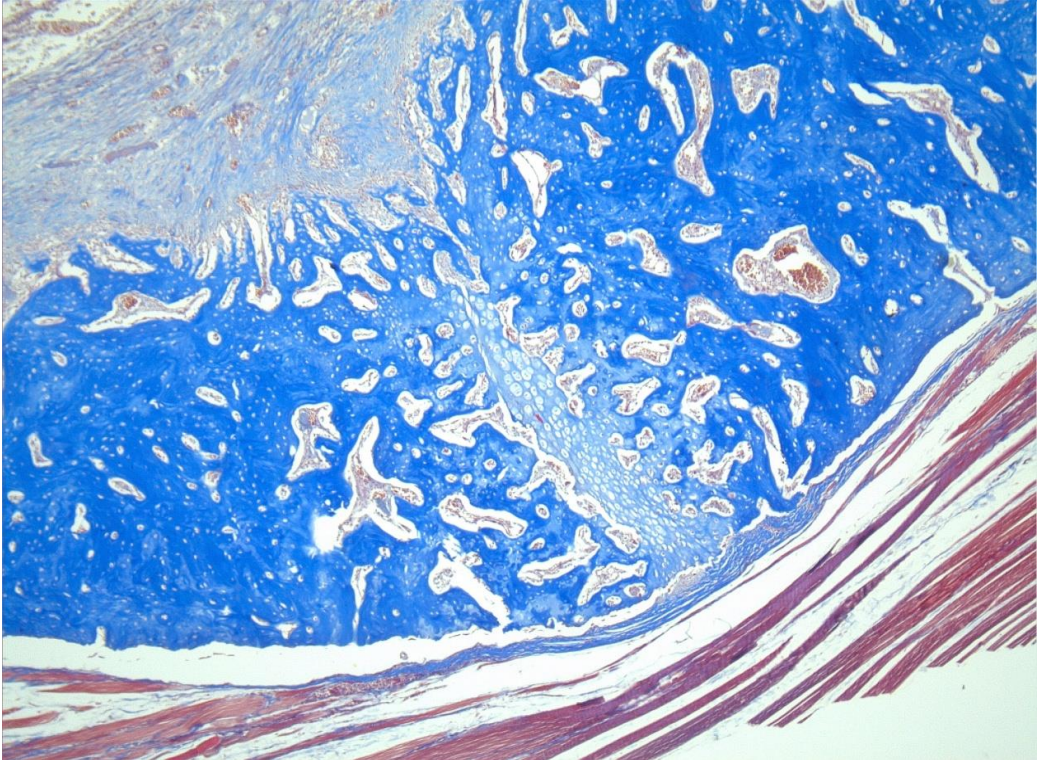
Immünühistokimya		Kontrol					S1 grubu					p
Erken Dönem	Med(Min-Mak)	1	0	-	3		1,5	1	-	3	0,693	
		S2 grubu					S3 grubu					
		2	0	-	3		1	1	-	1		
		Kontrol					S1 grubu					p
Geç Dönem	Med(Min-Mak)	2	1	-	2		1,5	1	-	2	0,069	
		S2 grubu					S3 grubu					
		1,5	0	-	2		0	0	-	1		



Şekil10: Kırık bölgesindeki fibroblast benzeri hücreler, osteoblastlar, kondrositler ve immatür osteositlerdeki Koenzim Q10 ile ++ boyanma (Koenzim Q10X200).



Şekil11:İmmatür kemik ve kırıkta dokunun izlendiği kırık iyileşmesi (HEX100).



Şekil12: Yerel kemik, immatür kemik ve kırıkta doku (Masson's TrikrómX100).

TARTIşMA VE SONUÇ

Kırık iyileşmesi sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri enflamasyon fazını da içeren 15. Günde maksimum düzeye çıkmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin düzeyindeki bu aşırı artışın, hücre hasarına yol açarak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği görölmüştür(54). Ancak açık kırıklarda enfeksiyon riski yüksektir ve serbest oksijen radikallerinin bu ajanlara karşı savunmada fizyolojik rolleri vardır. Reaktif oksijen radikalleri, enfeksiyöz ajanların varlığında; düşük/orta konsantrasyonlarda yararlı bir etkiye sahip olabilir (53).

Serbest oksijen radikallerinin kemik metabolizmasındaki rolü de ikilidir. Hem kemik hücre fonksiyonlarında anahtar modölatördür, hem de mineral dokuların patofizyolojisinde rolü vardır (53).

Yeniden şekillenme evresi onarım evresinin ortasında başlar. Normalde insanlarda 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir. Bu evrede, osteoblastik aktivitede azalma veya osteoklastik aktivitede artma; kemik mineral yoğunluğunda ve kemik kütleinde azalmaya neden olur. Bu da kemiği osteoporoza ve kırık oluşumuna daha yatkın hale getirir (44,45). Koenzim Q10'in osteoklast farklılaşma yolunda, reaktif oksijen radikalleri oluşumunu inhibe ettiği ve osteoblast olgunlaşmasına olumlu etkisi gösterilmiştir (42).

Deneyssel kırık iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda en çok kullanılan hayvanlar köpek, tavşan ve sıçanlardır. Wistar tipi sıçanların femurları Sprague-Dawley tipi sıçanların femurlarına göre insan femurlarına daha yakın morfolojiye sahip olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da insan femuru ile benzer özellik göstermesinden dolayı Wistar tipi ratlar kullanılmıştır (47,48).

Sıçanlarda ve diğer hayvanlarda kemik iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda kırık modeli oluşturmak için açık veya kapalı kırık tekniği olmak üzere iki ayrı yöntem kullanılmaktadır (47). Çalışmamızda tibiada standart

kırık oluşturmak amacı ile doku makası kullanılmıştır. Bu yüzden oluşan kırık modeli ve periost defekti bütün hayvanlarda aynı idi.

Intraperitoneal enjeksiyonlar her gün aynı saatte ve aynı kişi tarafından yapılmış ve bu uygulamanın hayvanlar üzerindeki stres faktörünü standartize ettiği düşünülmüştür.

Çalışmamızda radyolojik değerlendirme için Lane ve Sandhu'nun (49) yaygın olarak kullanılan skora sistemi kullanılmıştır. Objektifliğin sağlanması açısından bulgular iki ortopedi ve travmatoloji uzmanı tarafından değerlendirilmiştir.

Histopatolojik değerlendirilmede kırık iyileşmesi açısından Huo ve ark. (52) tarafından tanımlanan evreleme sisteminin, Allen ve ark (34,50,51) tarafından tanımlanan 5 evrelik sisteme göre daha ayrıntılı ve daha kesin sonuç vereceği görüşünderiz.

Antioksidanların kırık hematoma bulunan serbest oksijen radikallerinin etkisini azalttıkları ve kırık iyileşmesini olumlu etkileyebileceği Durak ve ark. (34) ile Sarısözen ve ark.'nın (35) yaptıkları çalışmalarla vurgulanmıştır.

Çalışmamızda koenzim Q10, düşük doz koenzim Q10 verilen gruba 25mg/kg/gün, yüksek doz koenzim Q10 verilen gruba 50mg/kg/gün verilmiştir. Radyolojik, histopatolojik ve immünokimyasal tüm verilerin karşılaştırıldığı istatistiksel analizde tüm gruplar arasında; kontrol, S1, S2 ve S3 gruplarında, erken ve geç dönem değerlendirmelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumun verilen koenzim Q10 dozundan ve gruplardaki denek sayılarının az olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Verilen koenzim Q10 dozunun ve denek sayısının artırılması sonrası daha anlamlı sonuçlar çıkabileceği kanaatindeyiz.

Literatürde intraperitoneal olarak verilen koenzim Q10'in kırık iyileşmesine etkileri üzerine bir çalışma bulunamamıştır.

Deneyisel modellerde koenzim Q10'in iskemik hasara karşı koruyucu etkisi (36,66), serebral iskemi modeli üzerindeki nöroprotektif etkisi, sıçan böbreklerinde oluşturulan oksidatif hasarı iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu

bulgular oksidatif hasara karşı güçlü bir koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

Bu konunun ileride denek sayısı artırılarak, farklı parametreler göz önüne alınarak değerlendirilmesinin ve araştırılmasının literatüre ışık tutacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- 1-Ege R.** Kırıkların Etyopatolojisi. Travmatoloji, 4. Cilt, Kadioğlu Matbaacılık, Ankara, 2-61, 1989
- 2-Schindeler A, McDonald MM, Bokko P;Little DG .**Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture.Semin Cell Dev Biol 2008;19(5):459-466.
- 3-Keskin D, Karsan O, Ezirmik N, Çiftioğlu A.** Tavşanlarda kırık iyileşmesine alfa-Tokoferol'ün etkisi. Exper. Res. 1999; 10; 207-10.
- 4-Göktürk E.** Sıçanlarda serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi. Acta Orthop Traumatol Turc. 1997; 31: 353-56.
- 5-Lee SH¹, Kim SJ, Kim SJ.** Anti-oxidant activity with inhibition of osteoclastogenesis by Atractylodes Rhizoma extract. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014;18(12):1806-12.
- 6-Rahim AH¹, Setiawan B², Dewi FR³, Noor Z⁴.** Regulation by Phloroglucinol of Nrf2/Maf-Mediated Expression of Antioxidant Enzymes and Inhibition of Osteoclastogenesis via the RANKL/RANK Signaling Pathway: In Silico study. Acta Inform Med. 2015 Aug;23(4):228-32.
- 7-Jungueria Carlos L, Carnerio J, Kelley O.** Bone. In: Basic Histology. Appleton and Lange, New Jersey, 132-151, 1995.
- 8-Netter F.H,** Kemğin 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.
- 9-Lopes JC, Canhao H, Fonseca JE.** Osteoblasts and bone formation. Acta Reumatol Port. 2007; 32:103-10.
- 10-Eriksen EF.** Cellular mechanisms of bone remodeling Rev Endocr Metab Disord. 2010; 11: 219-27.
- 11-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
- 12-Lopes JC, Canhao H, Fonseca JE.** Osteoblasts and bone formation. Acta Reumatol Port. 2007; 32:103-10.
- 13-Brinker M. R, O'Connor D.** Kemik. In: Miller M. (Ed) Miller'ın Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M; Çeviri editörleri Ankara Adya; 2006: 1-44.
- 14-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.
- 15-Rodan G.A.** Bone homeostasis. Proc. Natl. Acad. Sci. 1998; 95; 13361-62
- 16-Brinker M. R, O'Connor D.** Kemik. In: Miller M. (Ed) Miller'ın Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M; Çeviri editörleri Ankara Adya; 2006: 1-44.
- 17-Manolagas SC, Kousteni S, Jilka RL.** Sex steroids and bone. Recent Prog Horm Res. 2002; 57: 385-409.
- 18-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.
- 19-Sanders DW, Egol KA.** Fractures of the ankle and tibial plafond . In: Boyner MI (eds) . AAOS Comprehensive orthopaedic review 2. Rosemont: AAOS press; 2014 . 454.

- 20-**Cannada LK(eds). Orthopaedic Knowledge Update 11. Rosemont: AAOS press; 2014, 607.
- 21-**Giannoudis PV, Einhorn TA, Marsh D. Fracture healing: The diamond concept. *Injury* 2007; 38:3-6.
- 22-**Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. Jun, 2011; 42: 551-5.
- 23-**Schindeler A, McDonald MM, Bokko P, Little DG. Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture *Semin Cell Dev Biol*. 2008;19: 459-66.
- 24-**Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2016: 1092; 385-96.
- 25-**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.
- 26-**Andrew C, Bassed L. Current concepts of bone formation. *The Journal of Bone & joint surgery*. 1962; 44: 1217-44.
- 27-**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.
- 28-**Loveridge N. Bone: More Than a Stick. *J Anim Sci*. 1999; 77: 190-6.
- 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, et al. A comparison of the effects of ibuprofen and rofecoxib on rabbit fibula osteotomy healing. *Acta Orthop*. 2009; 80: 597-605.
- 31-**Nyary T, Scammel BE. Principles of bone and joint injuries and their healing. *Surgery* 2015; 33: 7-14.
- 32-**Çetinus E, Akgümüş M, Cever İ, Atay ÖF, Bakariş F. Kırık iyileşmesi üzerine kalsitonin hormonunun etkisi. *Exper. Res*. 2000; 11: 179-83.
- 33-**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.
- 34-**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.
- 35-**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.
- 36-**Erol B, Bozlu M, Hanci V, Tokgoz H, Bektas S, Mungan G. Coenzyme Q10 treatment reduces lipid peroxidation, inducible and endothelial nitric oxide synthases, and germ cell-specific apoptosis in a rat model of testicular ischemia/reperfusion injury. *Fertil Steril* 2010;93:280-2.
- 37-**Matos MA, Araujo FP, Paixao FB. The effect of zoledronate on bone remodeling during the healing process, *Acta Cir Bras*. 2007; 22: 115-9.
- 38-**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.
- 39-**Wraighte PJ, Scammell BE. Principles of fracture healing. *Acute Care*. 2007; 3; 243-51.

- 40-**Bombaci H, Kafadar A, Aker F, Turkmen M. The effect of embryonic mesenchymal tissue on fracture healing. *Acta Orthop Traumatol Turc* 1999; 33: 335-42.
- 41-**Erkam KÖMÜRCÜ¹ , Murat OKTAY² , Burak KAYMAZ¹ , Umut HATAY GÖLGE¹ , Ferdi GÖKSEL¹ , Gürdal NUSRAN¹ . Koenzim Q10 (CoQ10)'nun sıçanlarda steroide bağlı osteonekroz üzerine önleyici etkisi . *Acta Orthop Traumatol Turc* 2014;48(2):217-222
- 42-**Ho-JinMoon,Wan-KyuKo,Min-SeoJung et al.CoenzymeQ10RegulatesOsteoclastand OsteoblastDifferentiation. *J Food Sci.* 2013 May;78(5):H785-891.
- 43-**Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002; 2: 143-50.
- 44-**Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *NEJM* 1995; 322: 305–311.
- 45-**Sheweita SA, Koshhal K. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Current Drug Metabolism* 2007; 8: 519–525.
- 46-**Finkel T , Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and biology of ageing, *Nature* 2000; 408: 147-239.
- 47-**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.
- 48-**Öztuna V. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan deneysel hayvan modelleri (Temel ilkeler, etik unsurlar ve modeller). *TOTBİD Dergisi.* 2007; 6: 47-55.
- 49-**Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 1987; 18: 213-25.
- 50-**Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, Günel Ğ. Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand.* 1995; 66: 473-75.
- 51-**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.
- 52-**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.
- 53-**Edith Filaire¹, Hechmi Toumi², Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: Friend or enemy? *Joint Bone Spine* 79 (2012) 341–346.
- 54-**Mehmet Erdem¹, Deniz Gülabi², Murat Aşçı³, Bora Bostan³, Taner Güneş³, Reşit Doğan Köseoğlu⁴. Melatonin ve kafeik asit fenetil ester'in iskemik şartlarda kırık iyileşmesi üzerine etkisi: Deneysel çalışma. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2014;48(3):339-345.
- 55-**Perren SM. Fracture healing. The evolution of our understanding. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech.* 2008; 75: 241-6.
- 56-**Deichmann R, Lavie C, Andrews S. 2010. Coenzyme q10 and statin-induced mitochondrial dysfunction. *Ochsner J* 10:16–21.

- 57-Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P.** Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury*. Mar. 2007; 38: 11-25.
- 58-Buckwalter AJ.** Bone and Joint Healing. In: Bucholz R, Heckman J, CourtBrown C (Eds) *Rockwood and Green's Fractures in Adults*, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Vol 1: 297-307, 2006.
- 59-Brond AR, Rubin TC.** Fracture Healing. In: *Surgery of the Musculoskeletal System*. Churchill Livingstone, New York 1: 93–114, 1990.
- 60-Miller Mark D.** Bone. In: Miller M (Ed) *Review of Orthopaedics*. Saunders, Philadelphia. 1–22, 1996.
- 61-Gartner Leslie P, Hiatt James L.** Cartilage and bone. *Color Textbook of Histology*. Saunders, Saint Louis, 114–130, 1997.
- 62-Khan SN.** Bone growth factors. *Orthop Clin North Am*. 31(3): 375–388, 2000.
- 63-Sloan A, Hussain I, Maqsood M, Eremin O, El-Sheemy M.** The effects of smoking on fracture healing. *The Surgeon*. 2010; 8: 111-6.
- 64-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.
- 65-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.
- 66-Yokoyama K, Itoman M, Takagishi K, Yamamoto M.** Protective effects of coenzyme Q10 on ischemia-induced reperfusion injury in ischemic limb models. *Plast Reconstr Surg* 1992;90:890-8.
- 67-Ostrowski RP.** Effect of coenzyme Q(10) on biochemical and morphological changes in experimental ischemia in the rat brain. *Brain Res Bull* 2000;53:399-407.
- 68-Yenilmez A, Isikli B, Aral E, Degirmenci I, Sutken E, Baycu C.** Antioxidant effects of melatonin and coenzyme Q10 on oxidative damage caused by single-dose ochratoxin A in rat kidney. *Chin J Physiol* 2010;53:310-7.

TEŞEKKÜR

Başta tez danışmanım sayın Doç. Dr.Burak Akesen olmak üzere, uzmanlık eğitimimde emeği geçen tüm Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji AD öğretim üyelerine, tezime yardımcı olan Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD öğretim üyesi Prof.Dr.Ülviye Yalçinkaya'ya ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD öğretim üyesi Doç.Dr.Deniz Sığırlı'ya, Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi öğretim üyelerine ve asistanlarına, hayatım boyunca bana destek olan annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim. Bana tez aşamasında her konuda yardımcı olan sevgili arkadaşım Tuba Altay'a özel olarak teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

04.11.1980 yılında Ankara'da doğdum. İlkokul eğitimimi Ankara'da Emniyetçiler İlköğretim Okulu'nda, ortaokul ve lise eğitimimi yine Ankara'da Ankara Atatürk Lisesi'nde tamamladım. 1999 yılında girdiğim Konya Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Bölümünden mezun olduktan sonra 2009 yılında başladığım Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ihtisasını 2018 yılında tamamladım.

