



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TARSOMETATARSAL KIRIK OLUŞTURULAN TAVUKLARDA
MUSKULUS EXTENSOR DİGİTORUM LONGUSDA VİMENTİN
PROTEİNİN BELİRLENMESİ**

BÜŞRA DAĞ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ

**Şanlıurfa
2025**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TARSOMETATARSAL KIRIK OLUŞTURULAN TAVUKLARDA
MUSKULUS EXTENSOR DİGİTORUM LONGUSDA VİMENTİN
PROTEİNİN BELİRLENMESİ**

BÜŞRA DAĞ

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
Tez Danışmanı: Prof. Dr. DENİZ KORKMAZ**

**Şanlıurfa
2025**

TEŐEKKÖR

Eđitimim sırasında varlıđı ve desteđi ile bana gŰven veren, bilgi ve tecrŰbelerinden her zaman yararlandıđım, eđitim ve hayat tecrŰbesiyle yŰksek lisans eđitimimin her aőamasında bana bilgi ve deneyimlerini sunan çok kıymetli hocam, sayın Prof. Dr. Deniz Korkmaz'a, yŰksek lisans eđitimim boyunca tŰm bilgisini, tecrŰbelerini ve űnerilerini içtenlikle paylaőan ve laboratuvar deneyimlerinin yanı sıra hayata dair tecrŰbelerinden de her zaman yararlandıđım çok deđerli hocam, sayın Doç. Dr. İsmail őah Harem'e, tezimin histolojik deđerlendirmelerinde katkılarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı űđretim űyesi sayın Dr. űđr. űyesi űzlem Bedir'e, yŰksek lisans eđitimim sırasında desteđini, yardımını ve katkılarını esirgemeyen Cerrahi Anabilim Dalı űđretim űyesi çok deđerli hocam, sayın Doç. Dr. űnal Yavuz'a, tezimin cerrahi iőlemleri sırasında her tŰrlŰ desteđi ve yardımı sađlayan deđerli hocam, sayın Arő. Gűr. Mehmet Salih Karadađ'a, yŰksek lisans eđitimim sırasında her zaman yanımda olan desteđini esirgemeyen arkadaőım, Av. Berfin Ayhan'a, yŰksek lisans eđitimim sŰresince aynı çalıőma ortamını paylaőmaktan keyif aldıđım Harran Ŭniversitesi Veteriner FakŰltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı mesai arkadaőlarım, Merve Sunay, Remziye Banka ve Aden Bilge'ye, hayatımın her anında yanımda olan, beni yetiőtirip bu gŰnlere getiren, sevgisini hiç bir zaman esirgemeyen her koőulda bana gŰvenen çok sevdiđim ailem'e benim her zaman arkamda duran baőaracađıma inanan canım abilerim, Abdurrezzak Dađ, Samed Dađ ve Salih Dađ'a her koőulda destek veren her zaman bana inanan canım ablalarım, Saadet Doblan, Pınar Dađ, SŰreyya Can, ve GŰlistan Dađ'a sevgi ve fedakarlıkları için teőekkŰr ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
KISALTMALAR	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanatlı Hayvanlarda Kemik Ve Kas Dokusu	1
1.1.1. Kanatlı Hayvanlarda Kemik Kırıkları	7
1.1.2. Kas Histolojisi	9
1.1.3. Ekstansor Digitorum Longus Kası	13
1.1.4. Kas Dokusun İyileşmesi	15
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	21
2.1. Vimentin Proteini	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Materyal Metod	27
3.1.1. Gruplar	27
3.1.2. Tedavi Protokolü	27
3.1.3. Anestezi	28
3.1.4. Operasyon Tekniği	28
3.1.5. Histolojik ve Histokimyasal Yöntemler	29
3.1.5.1. Crossman'ın Üçlü Boyama Metodu	29
3.1.5.2. Strept Avidin-Biotin-Peroxidase Kompleks (Strept ABC) Metot Protokolü	30
3.1.5.3. Histometrik Ölçümler	32
4. BULGULAR	33
4.1. Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyama Yöntemi Bulguları	33
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇLAR	48
7. ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	55

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARSOMETATARSAL KIRIK OLUŞTURULAN TAVUKLARDA MUSKULUS EXTENSOR DİGİTORUM LONGUSDA VİMENTİN PROTEİNİN BELİRLENMESİ

BÜŞRA DAĞ

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ

Tez Danışman: Prof. Dr. DENİZ KORKMAZ
Yıl: 2025, Sayfa : 55

Bu çalışmada tarsometatarsal kırık oluşturulan tavuklarda kırığın etkilediği extensor digitorum longus kasında vimentin protein miktarı incelenerek oluşan onarımın ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan tavuklar 3 gruba ayrılmıştır. Çalışmada 6 adet hayvanın sağ ekstremitelerinde oluşturulan kırık sonrası sirküler eksternal fiksator uygulanmış (1. Grup), 6 adet hayvanın sağ ekstremitesinde oluşturulan kırık sonrası semisirküler eksternal fiksator uygulanmıştır (2. Grup). Çalışmada kontrol grubu olarak deneklerin sağlam sol ekstremiteleri kullanılmıştır. Uygulamadan sekiz hafta sonra sakrifiye edilen hayvanlardan alınan kas örnekleri rutin histolojik doku takibinden sonra parafinde bloklanmıştır. Bloklanan dokulardan alınan seri kesitlere genel histolojik incelemeler amacıyla üçlü boyama yöntemi uygulanırken yara iyileşmesinin bir belirteci olan vimentin proteininin tespiti amacıyla immunohistokimya metodu uygulanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara bakıldığında vimentin proteininin sirküler ekstrenal fiksator uygulanan kaslarda sağlam kaslarla benzer miktarda pozitivite gösterdiği, buna karşın semisirküler eksternal fiksator uygulanan kaslarda bu oranın daha az miktarda olduğu belirlenmiştir. Tüm bu bulgulara bakıldığında kırığa bağlı oluşan kas yaralanmasının iyileşmesinde sirküler eksternal fiksator uygulamasının hücresel düzeyde semisirküler eksternal fiksator uygulamalarda daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Kırık, Musculus extensor digitorum longus, Vimentin, Protein

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF VIMENTIN PROTEIN IN MUSCULUS EXTENSOR DIGITORUM LONGUS IN CHICKENS WITH TAROMETATARSAL FRACTURES

BÜŞRA DAĞ

**HARRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE EDUCATION
HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY**

**Thesis Supervisor: Prof. Dr. DENİZ KORKMAZ
Year: 2025, Page : 55**

The aim of this study was to investigate the amount of vimentin protein in the muscle extensor digitorum longus affected by the fracture in chickens with tarsometatarsal fracture. The chickens used in the study were divided into 3 groups. Circular external fixator was applied after the fracture in the right extremities of 6 animals (Group 1), semicircular external fixator was applied after the fracture in the right extremities of 6 animals (Group 2). The intact extremities of the animals that received fixators were used as the control group in the study. Muscle samples taken from the animals sacrificed eight weeks after the application were blocked in paraffin after routine histologic tissue follow-up. Serial sections taken from the blocked tissues were subjected to triple staining method for general histological examinations and immunohistochemistry method for the detection of vimentin protein, a marker of injury healing. The results of the study showed that vimentin protein showed a similar amount of positivity in the muscles treated with circular external fixator as the intact muscles, whereas this rate was less in the muscles treated with semicircular external fixator. Considering all these findings, it was determined that circular external fixator application gave better results than semicircular external fixator application at the cellular level in the healing of muscle injury due to fracture.

KEYWORDS: Fracture, Musculus extensor digitorum longus, Vimentin, Protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tavukta fibula-tibiotarsus'un cranial görüntüsü (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016).	4
Şekil 1.2. Tavukta ayak iskeletinin cranial görüntüsü (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016).	5
Şekil 1.3. Tavuk iskelet kası hücresinin iplik şeklindeki görüntüsü. Ok: kas lifi yapısı	10
Şekil 1.4. Tavuk kas görünümü (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016).	12
Şekil 1.5. Tavukta ekstansordigitorum longus kası Ok: ekstansordigitorum kası	14
Şekil 2.1. Vimentin proteini, aktin filamentleri ve mikrotübüllerin dinamiklerini koordine ederek yönlendirilmiş hücre göçünü destekler. Vimentin parçacıkları hücre çevresinde parçalanır ve muhtemelen olgun filamentlere dahil olmak için enine aktin yayları üzerinde retrograd taşınmaya uğrar. Olgun vimentin filamentleri retrograd aktin akışını kısıtlar ve hücre göçü sırasında nükleer konumlandırmayı kontrol eder. Uzun ömürlü vimentin filamentleri, yeni mikrotübüllerin önceki yolları boyunca büyümesini modellemek için kısa ömürlü mikrotübüllerle birleşerek göç sırasında hücre polaritesinin korunmasını koordine eder (Cheng F., vd. 2016).	23
Şekil 3.1. Fiksatorlar uygulanırken kullanılan ürünler a) 1. Gruba uygulanan Schanz pini, b) 2. Gruba uygulanan K-teli, c) Tüm gruplarda kullanılan bakır halka, d) 1. Gruba uygulanan serklaj teli, e) 2. Gruba uygulanan klips kelepçe, f) Tüm gruplarda kullanılan epoksi resin macun	28
Şekil 3.2. Tüm gruplarda uygulan immunohistokimya teknikleri a) xylol-alkol serilerinde bekletilmesi b) hidrojen peroksitte dokuların bekletilmesi c) hidrojen peroksitten dokuların alınıp düzeneğe yerleştirilmesi d) v blok damlatılma işlemi.	31
Şekil 3.3. Her gruba uygulanan immunohistokimya yöntemlerinin preparat kapatma uygulaması.	32
Şekil 4.1. Kontrol grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif sarkolemma. StreptABC metot X10	34
Şekil 4.2. Kontrol grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif hücreler StreptABC metot X20	35
Şekil 4.3. Semisirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. StreptABC metot X20	36
Şekil 4.4. Semisirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. StreptABC metot X10	37
Şekil 4.5. Sirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif hücreler	38
Şekil 4.6. Sirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif hücreler	39
Şekil 4.7. Semisirküler eksternal fiksator grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X10	40
Şekil 4.8. Kontrol grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X10	40
Şekil 4.9. Kontrol grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X20	41
Şekil 4.10. Sirküler eksternal fiksator grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X20	42
Şekil 4.11. Sirküler eksternal fiksator grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X20	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Kas Rejenerasyonunda Görevli Hücreler	18
Çizelge 1.2.	Kas iyileşmesinde görevli hücreler	19

KISALTMALAR

ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
Anizotrop	A bandı
ATP	Adenozin Trifosfat
Ca	Kalsiyum
CO₂	Karbondioksit
DAB	3.3N-Diaminobenzidine Tertahydrochloride
ECM1	Ekstraselüler Matriks Proteini 1
EMT	Epitel -Mezenkimal Geçiş
HDAM	Hayvan Deneyi Uygulama ve Araştırma Merkezi
IF	İmmünofloresan
IM	İntra muscular (Kas içi)
IV	İntra venöz (Damar içi)
K-Teli	Kirschner teli
Mg	Magnezyum
MMP	Matriks Metalloproteinaz
mRNA	RNA molekülü
MYoD	Miyojenik Düzenleyici Faktör
MYOG	Miyogenin
P	Fosfor
PBS	Fosfat tamponlu su
PGA	Poliglikolik asit
SER	Sarkoplazmik Retikulum
TGF1-B	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta 1
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alpha (Tümör Nekroz Faktörü Alfa)
VEGF	Venöz Endotelial Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ

1.1. Kanatlı Hayvanlarda Kemik Ve Kas Dokusu

Kanatlı hayvanlarda kemiğin iki ana görevi bulunur, bunlardan ilki kas sistemine destek sağlamak, ikincisi kalsiyum-fosfor deposu olarak görev yapmaktır (Loveridge N, Thomson BM, Farquharson C., 1993). Kemik yapısı yalnızca hayvanın vücuduna destek sağlamakla kalmaz, aynı zamanda yumurta oluşumu sırasında meydana gelen önemli fizyolojik süreçler için gerekli olan kalsiyumu da depolar. Yumurta gelişimi için en önemli kalsiyum deposu medullar kemik rezervidir (Thorp B.H., 2001). Kanatlılarda kemik dokunun histolojisi ırk, yaş, cinsiyet ve beslenmeye göre değişkenlikler göstermektedir (Ali SY., 1993). Kanatlı hayvanların kemik anatomisi, uçuş yeteneği, vücut ağırlığının azaltılması ve solunum sistemiyle entegre olması açısından memelilere göre önemli farklılıklar gösterir.

Kanatlıların birçok kemiği pneumatik yapılıdır, içi boştur ve hava kesecikleriyle bağlantılıdır. Bu kemikler kanatlı hayvanların ağırlığını azaltır ve uçuş yeteneklerine olanak sağlayabilir. Havalı kemikler genellikle uzun kemiklerdir. Bunlar: humerus, klavikula, sternum, femur ve vertebral kemiklerdir. Omurga (vertebral kolon) da servikal omurlar çok hareketlidir. Tavuklarda olduğu gibi kuşlarda da 13-15 kadar servikal omur bulunur. Torakal omurların bazıları kaynaşmıştır ve notarium adı verilen yapıyı oluşturur. Sternum kanatlılarda büyük ve belirgindir. Ortasında carina adı verilen çıkıntı vardır; güçlü uçuş kaslarının tutunduğu yerdir. Uçamayan kanatlılarda (örneğin tavuk) bu yapı daha az gelişmiştir (Jacob J. And Pescatore T., University of Kentucky., 2013). Lumbal, sakral ve bazı kaudal omurlar synsacrum adıyla birleşmişlerdir. Kuyruk omurları pygostyl denilen kemikle sona erer; bu kuyruk tüylerin tutunma noktasıdır. Pelvis kemikleri açık yapıdadır; yumurta bırakmayı kolaylaştırır. Femur, tibiotarsus ve tarsometatarsus özel bileşik kemiklere sahiptir. Ayak parmakları genellikle üç önde bir arkadadır (anisodaktil düzen); bu yere tutunmayı sağlar. Tibiotarsus ve tarsometatarsus kuşlara özgü olarak kemiklerin kaynaşmasıyla oluşur.

Kemik doku, organizmadaki en sert doku olması sayesinde vücuda destek sağlar. Kemiklerin birleşmesiyle iskelet sistemi oluşur ve organizma kendi özgün şeklini kazanarak vücut yükünü taşır (Özer A, Sağlam M, Aştı RN., 2001). Kemik doku yaklaşık olarak %70 mineral, %20 organik madde ve %10 sudan oluşur (Rath NC, Huff GR, Huff WE, Balog JM., 2000). Kanatlı hayvan kemiğinde %37,2 kalsiyum (Ca), %16,42 fosfor (P), %5,5 karbondioksit (CO₂), %0,51 magnezyum (Mg) bulunmaktadır (Nickel R, Schummer A, Seiferle E., 1977).

Kanatlı kemikleri genellikle pnömatik yapıdadır bu içi havadolu yapı uçuşu kolaylaştırmak içindir. Memelilerde ise kemikler daha yoğundur.

Kanatlılarda hava kesecikleri solunum sistemine bağlıdır fakat memelilerde solunum sistemi kemiklerle bağlantılı değildir.

Kanatlılarda dişler yerine keratinize bir gaga bulunur. Kafatası hafif, kemikler kaynaşmış ve kinetik bir yapıya sahiptir. Memelilerde ise genellikle dişler bulunur.

Mandibula, kanatlı hayvanlarda 11 kemikten oluşmuştur fakat memelilerde alt çene yapısı mandibula tek bir kemikten oluşmuştur.

Kanatlılarda omurga oldukça rijittir memelilerde ise omurga daha esnektir.

Boyun omurları kanatlılarda 12-18 adet olarak bulunur, memelilerde ise boyun omurları genellikle 7 adettir.

Kanatlılarda pygostyle ve geniş pelvis, memelilerde ise değişken kuyruk yapısı ve hareketli pelvis bulunur.

Kanatlılarda omuz kemeri tam bir şekilde meydana gelmiştir fakat evcil memelilerde oluşmamıştır.

Kanatlılarda ön uzuvlar kanat olarak özelleşmişlerdir, memelilerde ise ön ve arka uzuvlar hareket için uyarlanmıştır.

Kanatlılarda humerus, radius ve ulna kısalmış el kemikleri carpometacarpus olarak kaynaşmıştır.

Memelilerde parmak kemikleri (phalanges) çeşitlidir ve pençe, tırnak veya toynak taşır.

Kanatlılarda sternum genellikle büyük ve karinalıdır bu özellik uçuş kasları içindir. Memelilerde ise göğüs kafesi karburgalar ve sternumdan oluşur ancak karina bulunmaz.

Kanatlılarda pelvis (synsacrum ile kaynaşmış) uçuş sırasında denge sağlar.

Kanatlılarda kuyruk omurları azalmış ve pygostyle adı verilen bir yapıya dönüşmüştür; memelilerde pelvis genellikle dar ve hareket için özelleşmiştir.

Kanatlılarda tibia, metatarsus ile birleşmiştir.

Kanatlılarda ayak parmak sayısı dördüttür. Parmak sayısına “bir” eklenmesiyle çıkan toplam phalanx sayısına eşittir.

Kanatlı iskelet sisteminde, cartilago articularis dışında başka bir cartilago mevcut değildir (Dursun N., 2002).

Kanatlılarda bulunan kemiklerin en önemli özelliği pnömatik kemik olmalarıdır. Bu kemikler akciğerlerdeki hava keseleri (sacci pneumatici) aracılığıyla solunum sistemini etkiler (Çalışlar T., 1986).

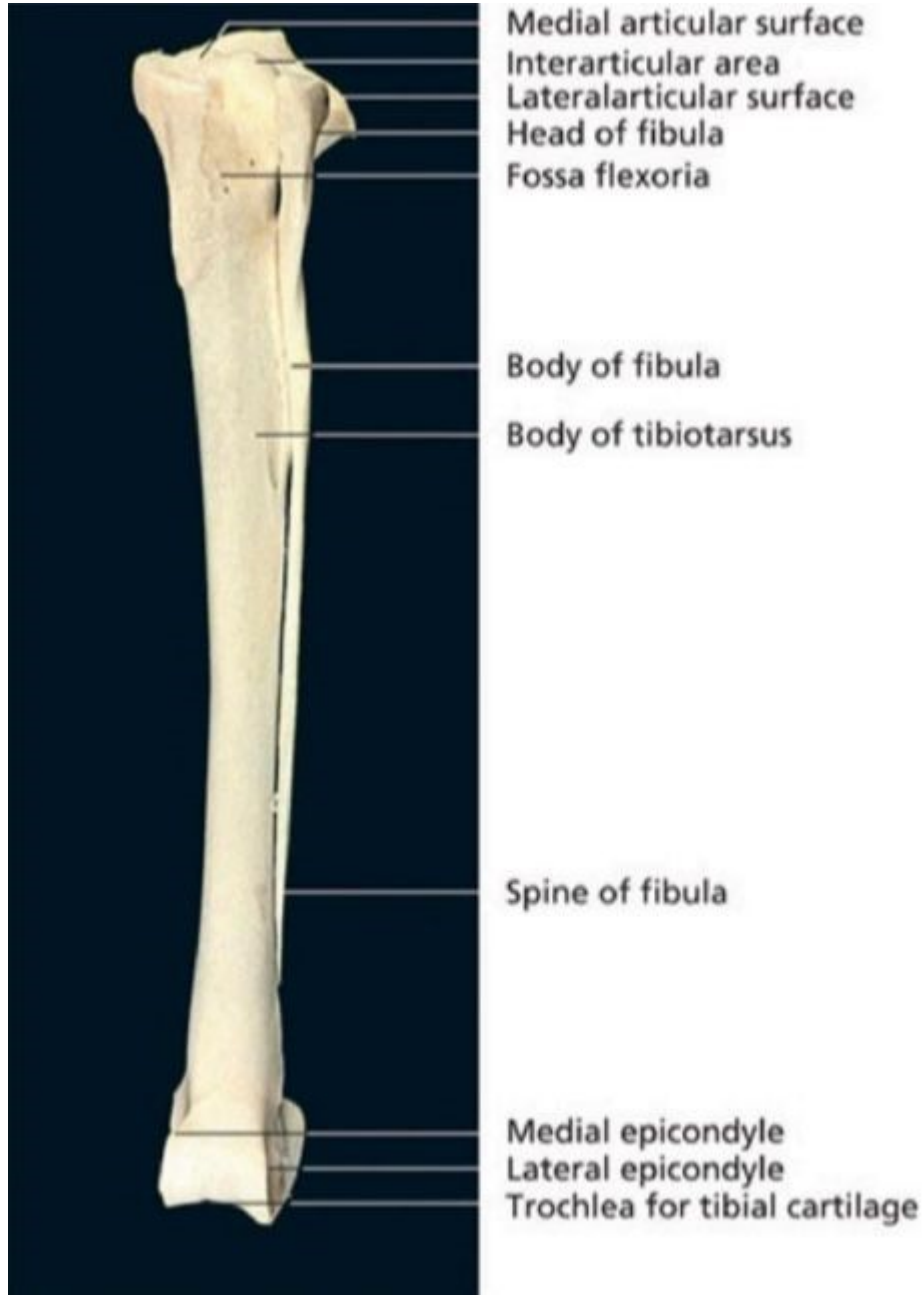
Kanatlılarda kemik yapısı 3’e ayrılır. Bunlar; kortikal (kompakt), spongiosa (süngerimsi) ve meduller kemikler olarak gruplandırılır (Hodges RD., 1974).

Kanatlılarda kemikler şekil olarak 3 kısımdan oluşur. Bunlar; uzun, kısa ve yassı kemiklerdir. Uzun kemiklerde cavitas medullaris ve kemiği kaplayan substantia kompaktan oluşur. Trabekül olarak isimlendirilen, kemiklerin uçlarında yer alan ve ince kemik yapılarını meydana getiren substantia spongiosa (süngerimsi) kompakt kemik formundadır (Nickel R, Schummer A, Seiferle E., 1977).

Skeleton femoris (Femur, patella); boru şeklinde ve sağlam bir yapıda olan femur’un uç (proksimal) kısmında yer alan yarım küre şeklindeki femur başını (caput femoris) kısa bir boyun (collum femoris) takip eder (Dursun N., 2002).

Tavukların femurunda pnömatizasyon görülmez (Hogg DA., 1984). Patella elips şekilli bir sesamoid kemiktir ve quadriceps kasının tendonu içinde yer alır. Femur üzerinde aşağı ve yukarı hareket etme görevi vardır (Dursun N., 2002).

Skeleton cruris (Tibia-Fibula); Uzun yapıdaki tibia ile ondan daha ince olan fibula’dan oluşur (Şekil 1.1). Tibia’nın alt (distal) ucu ossa tarsi’nin üst (proksimal) sırası ile birleşmiştir. Bu kısma tibiotarsus denir.

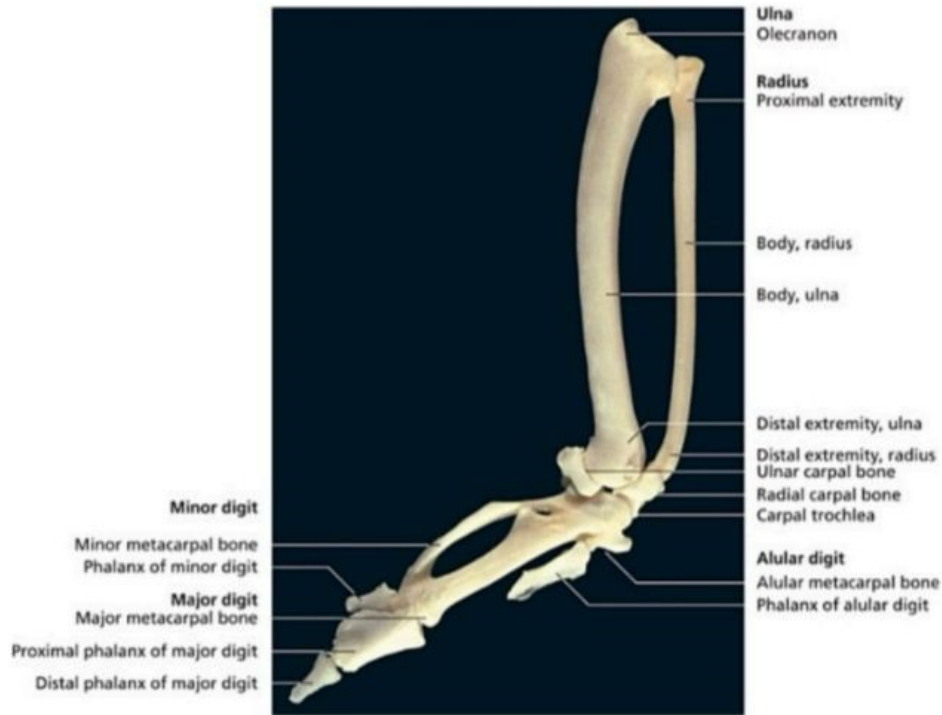


Şekil 1.1. Tavukta fibula-tibiotarsus'un cranial görüntüsü (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016).

Tavuk ve güvercinde tibia femur'dan uzundur. Tibia'nın üst (proksimal) uç kısmında oluklu şekilde iki condylus tibia bulunur. Lateral condylus'un dış yüzü ile fibulanın baş kısmı (caput fibulae) eklemler. Tibia'nın gövde (corpus) kısmı hafif derecede içe dönüktür. Alt ucu ise trochlea biçiminde olup ön kısmında parmağın ekstensor kirişleri için boşluklar bulunur. Tibia, fibula ile eklemlenmiştir. Fibula'nın aşağıya doğru uzandıkça incelişen gövde kısmı tibia'ya köprü biçiminde birleşir (Dursun N., 2002).

Skeleton pedis; kanatlılarda tarsal kemikler bulunmaz. Bunun nedeni ayak bilek kemiklerinin üst kısmının tibia ile (tibiotarsus), alt kısmının ise metatarsus ile (tarsometatarsus) birleşmiş olmasıdır (Dursun N., 2002).

Kanatlılarda tarsometatarsus tek bir bütün olarak bulunur (Şekil 1.2). Tarsometatarsus; ikinci, üçüncü ve dördüncü metatarsus'lar ile tarsal kemiklerin alt kısmının birleşmesiyle oluşmuştur. Kanatlılar içerisinde gövdesine oranla en uzun tarsometatarsus boyuna sahip kanatlı tavuktur. Distal uç kısmında boşluklarla birbirinden ayrılmış üç adet trochlea bulunur (King AS., 1984).



Şekil 1.2. Tavukta ayak iskeletinin cranial görüntüsü (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016).

Kanatlılarda bulunan parmak sayısı dört adettir. Birinci parmak medial kısımda bulunur. Birinci parmak, aşağı iç kısma doğru; diğer parmaklar ise yukarı dış kısma doğru şekil almıştır. Parmaklarda bulunan phalanx sayısı her bir parmakta sayıca bir fazladır. Örneğin; birinci parmakta iki, ikinci parmakta üç, üçüncü parmakta üç adettir. Phalanx şekil olarak üçgene benzer ve uç kısımlarında çengel şeklinde tırnaklar bulunur (Dursun N., 2002).

Kanatlıların ekstremitelerindeki kemiklerin etrafı deri ve kas dokusu ile sarılmıştır. Kanatlılarda kemik travmaları çoğunlukla parçalı kırık veya açık kırıkla sonuçlanmaktadır (Ketz C, Schawalter P., 1996). Kanatlı iskeleti, kanatlıların yeteneğine, yürüme alışkanlıklarına ve arka ayakları üzerine tünemelerine olanak sağlar. Kemikler, kaslara yapıştırlar ve vücuda şeklini vererek iç organları korurlar. Temelde kemik, ince matriks kollajenine dönüşmüş hidroksiapatit kristallerinden oluşmuş ve sürekliliğini canlı hücrelerle devam ettiren bir yapıdır. Kemikler total vücut kalsiyumunun %99'unu ve vücut fosforunun yaklaşık %80'ini içerir (Gilbert, S.F., 1997). Uzun kemiklerin büyümesi epifizyal bölgede hyalin kıkırdığın şekillenmesiyle başlar (Bain, S.D., Watkins, B.A., 1993). Kemik büyümesi iki farklı faktöre bağlı olarak şekillenir; 1- iskeletin şekillenmesini sağlayan growth hormone (büyüme hormonu) ve insulin-like growth faktor-I (insülin benzeri büyüme faktörü-1) (IGF-1) 2- paratiroid ve kalsitonin gibi kalsinotropik hormonlardır. Kemik büyümesi bazı özelleşmiş hücrelerin aktivitesi ve etkileşimine bağlıdır. Kemiklerin uzunlamasına büyümesinden birinci derece sorumlu olan hücreler büyüme plağındaki kondrositlerdir. Kanatlı kemikleri dış görünüşlerine göre 3 tipe ayrılırlar, kompakt kemikler, konsellar kemikler ve medullar kemikler (Pead. M.J., Suswillo, R., Skerry, T.M., Vendi, S., Lanyon, L.E., 1998). Histolojik olarak uzun kemik; shaft (kemiğin gövde kısmı) ve diafizden oluşur. Kemiklerin her iki ucunda da metafiz, büyüme plağı ve epifiz bulunur. Kemiğin dış bölgesi ise artiküler kıkırdak ile çevrilidir. Tavukların proksimal femurları hyalin kıkırdaktan oluşur ve sekonder ossifikasyon (ikincil kemikleşme merkezleri) yoktur fakat bazı kanatlılarda epifiz sekonder ossifikasyon merkezi içerir ve çoğu kuşta büyümenin sonuna kadar kıkırdak olarak kalır. Gelişimini tamamlamamış kuşlarda epifizyal kan damarları epifiz kıkırdığını oluşturan kanallar içerisinde yer alır. Endokondral kemikleşme kemiklerin uzunlamasına büyümesini ve kırık iyileşme sürecini tanımlar. Uzunlamasına büyüme, kemikteki metafizyal ve epifizyal bölgeleri birleştiren büyüme plağı bölgesinde meydana gelir. Endokondral kemikleşmenin fizyolojik aktiviteleri; kondrosit üremesi, hücre dışı matriks üretimi, kondrosit hipertrofisi, matriks kalsifikasyonu, damar invazyonu, matriks yıkımı ve birincil kemik şekillenmesidir (Duff, S.R.I., 1984). Temelde kemik, ince matriks kollajenine dönüşmüş hidroksiapatit kristallerinden oluşmuştur ve sürekliliğini canlı hücrelerle devam ettirirler.

Kanatlı hayvanların pnömatik uzun kemiklerinde geniş medullar boşluk içeren, ince ve kolay parçalanabilen bir korteks mevcuttur. Bu nedenle travma sonucu komminüt kırıklar şekillenebilmektedir (Orth, M.W., Cook, M.E., 1994).

1.1.1. Kanatlı Hayvanlarda Kemik Kırıkları

Kırık, kemik dokusunda oluşan anatomik bütünlüğün bozulmasıdır. Bu; patolojik sebeplerle ya da herhangi bir travma sonucu ortaya çıkabilir. (Aslanbey D, Candaş A., 1994).

Kemiklerde meydana gelen kırıkların ortaya çıkmasında şiddetli travmalar önemli bir rol alır. Mineralizasyon, memelilere oranla daha fazla olduğu için, kanatlıların kemikleri daha serttir. Kanatlıların ekstremitelerindeki kemiklerin etrafı, sıkı şekilde kas dokusu ile sarılmıştır. Bunun sonucunda herhangi bir travmada kemikte parçalı kırık veya açık kırık oluşabilmektedir (Ketz C, Schawalder P., 1996).

Kırık oluşumu; hazırlayıcı ve yapıcı faktörler olmak üzere iki ana başlık altında değerlendirilir.

Hazırlayıcı faktörler; farklı anatomik bölgelerde oluşan hasarlar, neoplazik oluşumlar, yaşlanma, vitamin ve mineral yetersizlikleri, hormonal dengesizlikler, aşırı yorgunluk ve bazı metabolik hastalıkların neden olduğu bozukluklar gibi etkenleri kapsar. Bu faktörler, zamanla kemik dokunun direncini azaltarak kırık gelişimine zemin hazırlar (Arıcan M., 2020).

Yapıcı faktörler; sıklıkla travmaya bağlı gelişir. Bu gruba; çarpma, ısırılma, darbe alma, yüksekte düşme, ezilme, sıkışma, aşırı zorlama ve ateşli silah yaralanmaları gibi doğrudan travmatik olaylar dahildir. Ayrıca kemiğe aşırı yük binmesi, uzun kemiklerde yapılan zorlayıcı dönme (rotasyon) hareketleri ve kasların şiddetli çekilmelerinin ekstremiteler hareketleriyle uyumsuz olması da yapıcı faktörler arasında bulunur (Arias JI, Beato C, Espinoza A., 2015).

Kırık iyileşmesi, kemiğin bütünlüğünü yeniden kazanmak için organizmanın gösterdiği biyolojik bir onarım sürecidir. Bu süreç üç aşamada ilerler: yangı (inflamasyon), yenilenme (reparasyon) ve yeniden şekillenme (remodelling). Yangı fazında hematoma oluşur ve inflamatuvar hücreler bölgeye göç ederek ölü dokuyu temizler. Reparatif fazda ise yumuşak kallus oluşur, ardından osteoblastlar devreye girerek sert kallus meydana getirir. Son aşamada, bu kallus yeniden şekillendirilerek lameller yapıya kavuşur.

Histolojik olarak kemikler primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer kemik, kollajen liflerinin düzensizliği nedeniyle düşük mekanik direnç gösterir. Zamanla yerini lameller yapıda ve daha dirençli olan sekonder kemiğe bırakır.

Osteoblastlar yeni kemik dokusunu oluştururken, osteoklastlar yıkım işlemini üstlenir.

Kanatlı hayvanlarda kas-iskelet sistemi hastalıkları, hem refah hem de ekonomik kayıplara yol açar. Kırık iyileşmesi memelilere benzerlik gösterse de bazı farklılıklar barındırır. İyileşme süresi, kırık uçlarının yer değiştirmesi, enfeksiyon durumu, damarlaşma ve kırık bölgesinin hareketsizliği gibi faktörlere bağlı olarak değişir.

Kallus oluşumu, 7–10 gün içinde başlar. Histolojik olarak büyüme plağı; rezerv, proliferatif, hipertrofik, rezorpsiyon ve ossifikasyon bölgelerinden oluşur. Kemik büyümesi tamamlandıktan sonra şekil ve kalsiyum dengesi korunmalıdır. Bu süreç osteoblastlar ve osteositler gibi hücrelerin etkinliğiyle sağlanır. Osteoblastlar, mineralize olmayan osteoid doku üreterek kemik oluşumunda önemli rol oynar.

Hematom, fibrin ağı oluşturarak bölgeyi stabilize ederken, osteojenik hücrelerin gelmesini de sağlar. Aynı zamanda makrofajlar ve osteoklastlar hasarlı dokuları uzaklaştırır. Yangı sırasında salgılanan IL-1, TNF ve VEGF gibi faktörler damarlaşmayı artırır ve onarıma destek olur. Onarımın ikinci evresinde osteoblastlar kallusu güçlendiren matriksi üretir. Bu yapı süngerimsi kemik, kırıkta ve bağ dokusundan oluşur. Kırığın stabilitesi arttıkça iyileşme süresi kısalır.

İyileşme hem intramembranöz hem de endokondral ossifikasyon ile gerçekleşir. Remodeling aşamasında ise oluşan kallus osteoklastlar tarafından yıkılarak lameller kemik halini alır.

Veteriner ortopedide, kırık tedavisinde amaç; hayvana en kısa sürede normal ekstremit fonksiyonlarını kazandırmaktır. Tedavide iki unsur çok önemlidir: doğru fiksasyon ve yumuşak dokuların korunması. Uygulanan fiksasyon yöntemi kırığın şekline ve yerine göre belirlenir. Tedavi yöntemleri arasında; kafes istirahati, bandaj, serklaj teli, intramedüller pin, vida, plak ve eksternal fiksator uygulamaları yer alır.

Kırık tedavisi bağ dokusu iyileşmesi temelinde işler, ancak kemik özelinde osteoblast ve osteoklastların aktif rol alması ile farklılaşır. Kanatlılarda da memelilerdeki gibi yumuşak doku diseksiyonuna dikkat edilmeli ve minimum kallus oluşumu hedeflenmelidir.

Veteriner Ortopedi ve Travmatoloji alanında sirküler ve semisirküler eksternal fiksator yöntemleri hayvanlarda kırık sağıaltımında kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde diğer yöntemler gibi standart yapılanma bulunmaz. Bunun yerine her probleme ayrı çözümler üretilir. Vakanın operasyon öncesi radyografileri ve klinik verileri değerlendirildikten sonra her olgu için özel bir fiksator hazırlanmaktadır. Bu amaçla kırık ile fiksatorün uyumu sağılanmakta, operasyon sırasında ve hatta sonrasında fiksatorre müdahale edilerek yapılanmada düzeltme ya da değışiklik sağılanabilmektedir (Arıcan M., 2020).

1.1.2. Kas Histolojisi

Memeli ve kanatlılarda üç türlü kas dokusu vardır.

1. İskelet kası dokusu (Skelatal muscle)
2. Kalp kası dokusu (Cardiac muscle)
3. Düz kas dokusu (Smooth muscle)

Kas terminolojisi;

- Kas hücre zarına Sarkolemma
- Kas hücre sitoplazmasına Sarkoplazma
- Kas hücre SER'na Sarkoplazma Retikulumu
- Kas hücre mitokondriyonuna Sarkozom denir.

Kaslar uzayıp kısalma zorunda olduklarından kas hücreleri iplik şeklini alırlar (şekil 1.3). Şekillerinden ötürü kas hücreleri kas teli (fibra muskularis) olarak adlandırılır. Kas tellerinin sitoplazmalarına sarkoplazma, Endoplazmik retikulumuna sarkoplazmik retikulum, Plazma membranlarına da sarkolem adı verilir. Kas dokusunu oluşturan hücreler; şekil, büyüklük, çekirdek sayısı ve yerleşimi, kontraktilemanların organizasyonu ve innervasyon tipine göre farklılıklar gösterir (Dr. Pawlina W., 2020).



Şekil 1.3. Tavuk iskelet kası hücresinin iplik şeklindeki görüntüsü. Ok: kas lifi yapısı

Tavuk kasları, memelilerinki gibi farklı türde liflerden oluşur. Her lif tipinin farklı morfolojik, fonksiyonel, kasılma ve metabolik özellikleri vardır. Lif türlerinin sınıflandırılması, bunları ayırt etmek için kullanılan parametrelere bağlıdır. Lifler renklerine, metabolizmalarına, kasılma özelliklerine, kasılma proteinlerinin (aktin ve

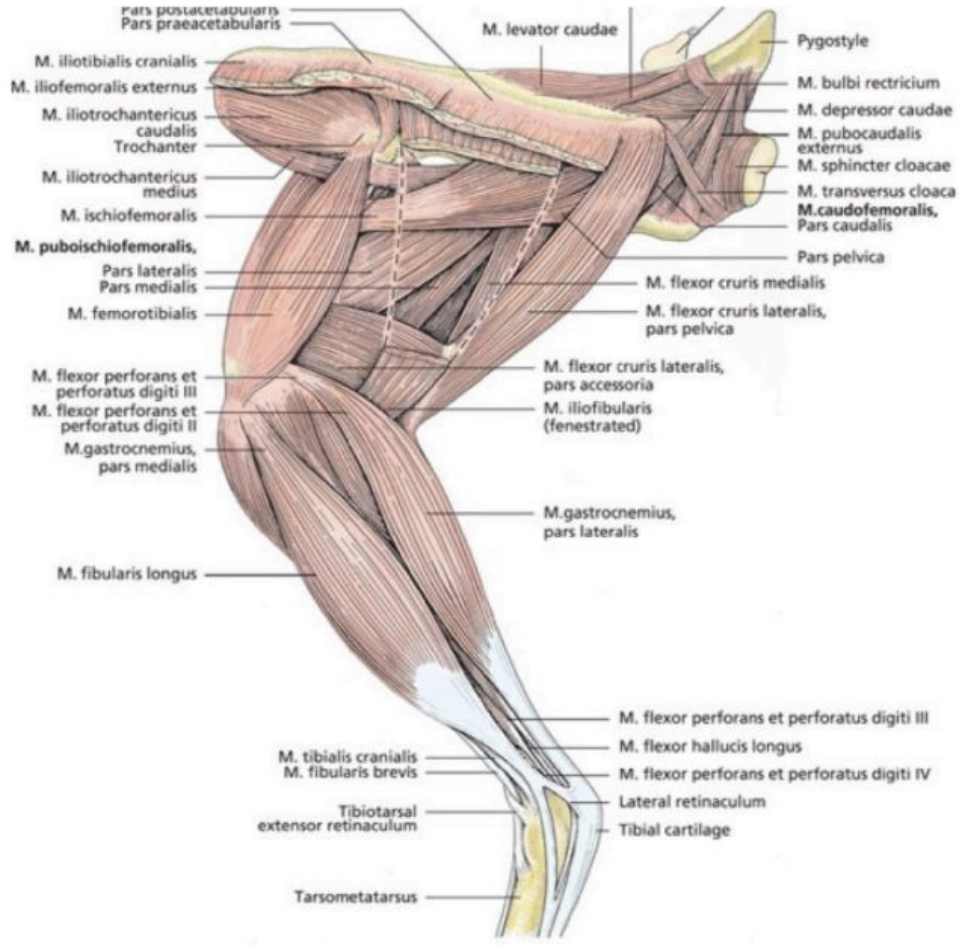
miyozin) ve enzimlerin (ATPazlar) farklı izoformlarına veya morfolojilerine göre sınıflandırılabilir (Hyttel P, Sinowatz F, Vejlsted M., 2010). İskelet kasları omurgalıların duruşu ve hareketi için gereklidir. Aktif olduklarında önemli miktarda enerji ve oksijen tüketirler (Owen M., 1988).

Kaslardaki kanamalar yaralanmayla yakından ilişkilidir. Kaslara zarar veren mekanizmalar aynı zamanda kan damarlarına da zarar verebilir ve bunun tersi de geçerlidir. Kas yaralanması sonucunda, hücresel bileşenler interstisyuma ve kana salınır ve burada zararlı fizyolojik ve/veya patolojik tepkilere yol açabilir veya meydana gelen yaralanmaya bağlı olarak hem lokal hem de sistemik olarak dokuya zarar verebilir.

Kas yaralanmaları; travma, yorucu kas aktivitesi, aşırı çevre koşullarına maruz kalma, kısıtlama ile oluşabilir. Kaslarda kanamalar kas yaralanmasıyla yakından ilişkilidir (R. W. Kranen,' E. Lambooij, C. H. Veerkamp't. H. Van Kuppevelt and J. H. Veerkamp., 2000).

Travmanın neden olduğu doku hasarı, doku özelliklerine bağlı olduğu kadar, darbe kuvvetine ve dokuya aktarılan enerjiyi belirleyen değişkenlere de bağlıdır. Travma nedeniyle yaralanma bu nedenle oldukça değişkendir. Travmada kas lifi yaralanmaları tek başına meydana gelmez. Kas liflerinin yanı sıra kan damarları, deri, deri altı doku, sinirler, tendonlar ve kemikler de zarar görebilir (Dr. Pawlina W., 2020).

İskelet Kaslarında; Hem bağımsız kas lifleri, hemde kas lifi demetlerini çevreleyen bağ dokusu kılıfları güç aktarımı için önemlidir. Kasların sonunda bağ dokusu kılıfları tendon şeklinde kası kemiğe tutundurur (şekil 1.4) (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016). Kas lifleriyle ilişkisine göre bağ dokusu kılıfları özel isim alır.



Şekil 1.4. Tavuk kas görünümü (König HE, Korbel R, Liebich HG., 2016).

- Endomisyum: Bir tek kas lifini sarar, retikulum tellerinden ve az sayıda kollajen telden oluşur. Küçük çaplı kan damarları ve ince akson uzantıları bulunur.
- Perimisyum: Bir kas demetini (fasikülünü) sarar. Tip 1 ve tip 3 kollajen içerir. Kan damarları sinir dallanmaları içerir.
- Epimisyum: Kası dıştan saran sıkı bağ dokusu yapısında kılıftır. Ana damar ve sinirler epimisyumu çevreler.

İskelet kasları; isteğe bağlı fonksiyonları oldukları için istemli kasılan kaslardır. Bir iskelet kas hücresinde çok sayıda çekirdek bulunur. Sarkolemin hemen altında yerleşmiş bol miktarda mitokondriyon bulunur. Sarkoplazma içinde ribozom,

glikojen tanecikleri, lipid damlacıkları ve miyoglobin bulunur. İskelet kası hücrelerinde enine çizgililiği sağlayan miyofibrillerdir. Mikroskopik olarak incelendiğinde miyofibrillerin aktin ve miyozin miyofilamanlardan oluştuğu görülür. Aktin filamanları bir araya gelerek açık (İzotrop bant, I bandı), miyozin filamanlarında bir araya gelerek koyu (Anizotrop bant, A bandı) bölgeler oluşturur. Anizotrop (A) bandını kalın olan miyozin filamanları oluşturur. Anizotrop (A) bandının ortasında sadece miyozin filamanlarını içeren dar banda H bandı adı verilir. H bandının ortasında ise M çizgisi bulunur. İzotrop (I) bandının tamamını ince olan aktin filamanları oluşturur. İzotrop bandının ortasında Z bandı bulunur. Bir Z çizgisinden diğer bir Z çizgisine kadar olan bölge sarkomer olarak isimlendirilir.

İskelet kas dokusunu oluşturan her bir kas hücresi bazal lamina ile çevrilmiştir. Bazal lamina retiküler iplikler ile birlikte endomizyum oluşturur. Bu kas hücreleri bir araya gelerek primer demetleri oluşturur ve bu primer demetler perimizyum ile çevrilidir. Primer demetler bir araya gelerek sekonder ve tersiyer demetleri oluşturur. Bir kasta bulunan demetlerin tamamı ise daha kalın bir bağ doku çevrilidir. Buna da epimizyum denir (Dr. Pawlina W.,2020).

1.1.3. Ekstansor Digitorum Longus Kası

Ekstensordigitorum longus kası, tavuklarda alt arka ekstremitte bölgesinde bulunur (şekil 1.5).

Ayak parmaklarının ekstansiyonundan sorumludur. Tavuklarda alt arka ekstremitte anatomisi, memelilere kıyasla daha özelleşmiş olduğundan bu kas tarsometatarsus ve parmak eklemleriyle ilişkilidir.



Şekil 1.5. Tavukta ekstansordigitorum longus kası Ok: ekstansordigitorum kası

İskelet kası olan ekstansördigitorum uzun ve iğ biçimli bir kastır. Çizgili kas liflerinden oluşur ve tendonlar aracılığıyla kemiklere bağlanır. Tavuklarda bu kas, parmakların dorsal (üst) yüzeyinde yer alan tendonlara bağlanarak parmakların açılmasını sağlar. Kas distal uçlarında ekstansör tendonlara geçiş yapar. Bu

tendonlar, parmakların falanks kemiklerine (özellikle ikinci, üçüncü, dördüncü) yapışır ve ekstansiyon hareketini koordine eder.

Ekstansördigitorum kası, tavuklarda parmakların düzleştirilmesini sağlar. Bu, yürüme, tırmanma veya yere tutunma gibi hareketlerde kritik öneme sahiptir. Tavuklarda bacak kasları, özellikle alt arka ekstremite kasları, yürüme ve koşma sırasında zeminle temas eden parmakların kontrolünü sağlar. Tavuklar, tüneme veya ağaç dallarında tutunma gibi davranışlarda parmaklarını kullanır. Ekstansördigitorum bu süreçte parmakların uygun pozisyonda tutulmasına katkıda bulunur (Nickel R., Schummer A., Seiferle E., 1977).

Memelilerde ekstansördigitorum kası, ön bölgede bulunurken kanatlılarda bu kas arka alt bölgede bulunur ve parmak hareketlerini kontrol eder. Fonksiyonel olarak memelilerle benzerlik gösterse dahi anatomik olarak konumu farklıdır. Tavuklar, uçuş yetenekleri sınırlı olan kanatlı hayvanlardır. Bu nedenle arka alt ekstremite kasları, yürüme ve tüneme gibi karasal hareketler için özelleşmiştir. Tavuklarda iskelet kasları hızlı kasılan (fast-twitch) ve yavaş kasılan (slow-twitch) lifler içerir. Ekstansördigitorum, hızlı hareketler için optimize edilmiş hızlı kasılan lifler açısından zengin olabilir çünkü parmak hareketleri genellikle hızlı ve aniden gerçekleşir. Ekstansördigitorum kasında vimentin, uydu hücrelerin migrasyonu ve kas onarımı sırasında yapısal destek sağlamak için önemlidir. Hasar sonrası rejenerasyonda vimentin ekspresyonu artabilir. Tavuklarda ekstansördigitorum kası, fiziksel travma, aşırı kullanma veya enfeksiyonlar nedeniyle hasar görebilir. Tavuklarda kas rejenerasyonu, memelilere kıyasla daha hızlı olabilir çünkü kanatlı hayvanlar yüksek metabolik hıza sahiptir. Vimentin ekstansördigitorum gibi alt arka ekstremite kaslarının iyileşmesi sırasında, hücrelerin migrasyonu ve fibroblastların ECM üretimini destekler. Bu parmak hareketlerinin geri kazanılmasında önemlidir (Dyce, K.M., Sack, W.O., & Wensing, C.J.G., 2010).

1.1.4. Kas Dokusunun İyileşmesi

Uydu hücreler (satellite cells), iskelet kaslarının rejenerasyon ve onarımında kritik rol oynayan yetişkin kök hücreleridir. Hayvanlarda kas dokusunun yenilenmesi, büyümesi ve hasar sonrası iyileşmesi için temel bir bileşendir. Uydu hücreleri, iskelet kas liflerinin bazal laminası ile plazma zarı (sarkolemma) arasında bulunur. Bu konum hücrelere uydu adını verir çünkü kas lifine bitişik, ancak ayrı bir yapıdadır. Uydu hücreleri, küçük, tek çekirdekli hücrelerdir. Normalde durağan (quiescent) haldedirler, yani çoğalmazlar veya farklılaşmazlar. Uydu hücreleri, kas dokusunun homeostasisini ve onarımını destekler (Tidball J.G., 2017, Charge S.B.,

Rudnicki M.A., 2004).

Kas dokusu şu durumlarda zarar görebilir:

Travma (darbe, yırtık, cerrahi)

Egzersiz (özellikle eksantrik hareketler)

İskemik hasar (kan akımının azalması, kesilmesi)

Enflamasyon (iltihap) ve otoimmün hastalıklar

Nörolojik bozukluklar

İlaçlar veya toksinler

Kas hasarının türleri 3'e ayrılır:

1) Akut Hasar: Travma, aşırı egzersiz, kesik, yırtılma gibi ani olaylar sonucu oluşur. Örneğin, atlarda aşırı egzersiz sonrası kas lifi yırtılması yaygın görülen kas hasarlarındanıdır.

2) Kronik Hasar: Tekrarlayan mikro travmalar veya dejeneratif hastalıklar sonucu gelişir. Örneğin, köpeklerde kas distrofisi gibi genetik kronik kas hasarına yol açabilir.

3) İskemik Hasar: Kan akışının azalmasıyla kas dokusunda nekroz meydana gelmesi ile oluşan kas hasarı türüdür.

Kanatlı hayvanlarda kas hasarı sık görülen bir hastalıktır. Ancak yüksek metabolik kapasiteleri hızlı iyileşmelerini sağlar.

Kas iyileşme sürecinde ise; Uydu hücrelerinin kas hasarından sonra iyileşme sürecinin merkezindedir. Uydu hücreler enflamatuar hücrelerle (makrofajlarla) birlikte çalışarak hasarlı dokuyu temizler. Nekrotik liflerin yerine yeni miyofiberler üretir. Hasarlı liflere miyoblast göndererek onarımını destekler. Normalde durağan uydu hücrelerde vimentin ekspresyonu düşüktür. Kas hasarı sonrası uydu hücreler aktive olduğunda vimentin ekspresyonu artabilir. Vimentin, miyoblastların (uydu hücrelerinden çoğalan hücreler) göçü ve hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi için gereklidir. Makrofajlar gibi enflamatuar hücreler, vimentini eksprese eder ve hasar

bölgesindeki nekrotik dokuyu temizler. Bu süreç, uydu hücrelerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu teşvik eden sinyallerin salınmasını sağlar (Swayne D.E., Boulianne M., Logue C.M., McDougald L.R., Nair V., Suarez D.L., 2020).

Yıkım (Destrüksiyon) Aşaması:

Hasar sonrası kas liflerinde nekroz meydana gelir.

İmmnun hücreler (nötrofil, makrofajlar) dokuya gelir.

Ölü hücrelerin ve yıkıntıların temizlenmesi sağlanır (fagositoz).

Sitokinler ve büyüme faktörleri salınır (örneğin TNF-alfa, IL-6, TGF- beta)

Onarım (Rejenerasyon) Aşaması:

Uydu hücreler aktivasyon geçirir. Bunlar kas hücrelerinin kök hücreleridir.

Uydu hücreleri proliferasyona girer ve miyoblastlara dönüşür. Miyoblastlar birleşerek yeni miyotüpler (kas lifçikleri) oluşturur. Vimentin, desmin, MyoD, MyoG gibi proteinler bu süreçte devreye girip görev alırlar.

Yeniden Yapılanma (Remodeling) Aşaması:

Yeni oluşan kas lifleri büyür ve olgunlaşır.

Ekstraselüler matriks (ECM) yeniden düzenlenir.

Damarlanma artar.

Kas fonksiyonu ve yapısı normale döner.

Çizelge 1.1. Kas Regenerasyonunda Görevli Hücreler

Hücre Türü	Görevi
Uydu hücleri	Kas kök hücrelerinin yenilenmesinde görev alır.
Makrofajlar	Doku temizliği ve büyüme faktörü salınımında görevli hüclerdir.
Fibroblastlar	ECM üretimi, yara alanının onarımında görevlidir.
Endotelial hüclerler	Yeni damar oluşumunda (anjiyogenez) görevlidir.
Miyoblastlar	Yeni liflerini oluşturur.

Kas İyileşmesini Etkileyen Faktörler:

Yaş: Hayvanlarda yaş ilerledikçe iyileşme yavaşlar.

Beslenme: Protein, aminoasitler, karbonhidratlar ve mikro besinler kas onarımı için kritik beslenme araçlarıdır. Yetersiz beslenme iyileşmeyi yavaşlatır.

Egzersiz: Aşırı yüklenme veya yüksek yoğunluklu egzersiz kas hasarını artırabilir bu da daha uzun süre iyileşme süreci gerektirebilir. Hafif egzersizler kan akışını artırarak iyileşmeyi destekler.

Hastalıklar: Kas hasarının şiddeti, enfeksiyon varlığı veya kroik hastalıklar iyileşme sürecini olumsuz etkiler.

Steroidler ve ilaçlar

Fizksel tedavi, elektroterapi gibi destekleyici yöntemler kas iyileşmesini olumlu ya da olumsuz yönde etkileyen faktörlerdir.

Dinlenme ve uyku: Kaslar dinlenme ve uyku sırasında, özellikle derin uyku evresinde salgılanan büyüme hormonunun sayesinde onarılır. Yetersiz uyku iyileşmeyi geciktirir.

Hidrasyon: Dehidrasyon, kas dokusuna oksijen ve besin ulaşımını azaltarak iyileşmeyi olumsuz etkiler.

Genetik faktörler: Hayvanın tür, cinsi ve genetik yapısı kas onarım kapasitesini etkiler.

Çevresel faktörler: Sıcaklık, nem ve barınak koşulları kan dolaşımını ve metabolik süreçleri etkileyerek iyileşmeye katkıda bulunabilir.

Çizelge 1.2. Kas iyileşmesinde görevli hücreler

Molekül / Protein	Fonksiyonu
Vimentin	Uydu hücre aktivasyonu, iskelet yapısının düzenlenmesini ve yara onarımında görev alır.
Desmin	Kas liflerinin stabilizasyonunda görev alır.
Myogenin, MyoD	Kas farklılaşmasını düzenler.
TGF-beta, IGF-1	Hücre proliferasyonu ve iyileşmeyi kontrol eder.
MMP'ler (matriks metalloproteinazlar)	ECM'nin yeniden düzelenmesinde görev alır.
VEGF	Damar oluşumu (anjiyogenesis)

Hayvanlarda kas dokusunun iyileşmesi, kas hasarından sonra dokunun onarılması ve fonksiyonunun geri kazanılması için gerçekleşen biyolojik bir süreçtir. İnsanlardaki kas iyileşme sürecine benzer olsa da, hayvan türleri arasında anatomik, fizyolojik farklılıklar nedeniyle bazı varyasyonlar bulunur (Swayne D.E., Boulianne M., Logue C.M., McDougald L.R., Nair V., Suarez D.L., 2020).

Hayvanlarda Türler Arası Farklılıklar:

Küçük Memeliler (fare, sıçan vb.): Laboratuvar hayvanlarında kas iyileşmesi hızlıdır ve uydu hücre aktivasyonu yüksektir. Bu nedenle fareler, kas rejenerasyonu çalışmalarında yaygın olarak kullanılır.

Büyük Memeliler (At, Sığır vb.): İyileşme daha yavaş olabilir ve skar dokusu oluşumu daha belirgindir. Atlarda, tendon-kas birleşim yerindeki yaralanmalar sık görülür ve iyileşme uzun sürebilir.

Kanatlı hayvanlar: Pektoral kaslar yüksek rejenerasyon kapasitesine sahiptir.

Patolojik Kas İyileşmesi (Fibrozis):

Kas yeterince iyileşmezse veya sürekli zarar görürse, normal doku yerine fibrotik (skar) doku oluşabilir. Miyofibroblastlar aktifleşerek kollajen biriktirir, bu da kas fonksiyonunu bozar.

Kas iyileşmesi; iltihap, onarım ve yeniden yapılanma aşamalarından geçen, uydu hücrelerinin ve çeşitli büyüme faktörlerinin kontrol ettiği karmaşık bir süreçtir. Uygun destekle tamamen fonksiyonel dokuya dönüşebilir; ancak bazı durumlarda fibrozisle sonuçlanabilir.

Bu çalışmada semisirküler ve sirküler eksternal fiksator yöntemleri tavukların tarsometatarsal kemik kırıklarında sağaltım tekniği olarak kullanıldı. Sağaltım tekniklerinin sonuçları histolojik yöntemlerle incelendi. İncelemeler sonrası çıkan sonuçlar semisirküler eksternal fiksatorün sirküler eksternal fiksator düzeyinde kırık iyileşmesine ulaşp ulaşmadığı yönünden değerlendirildi ayrıca kırık iyileşmesinde vimentin proteinin kas dokusu üzerine etkisi araştırıldı.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

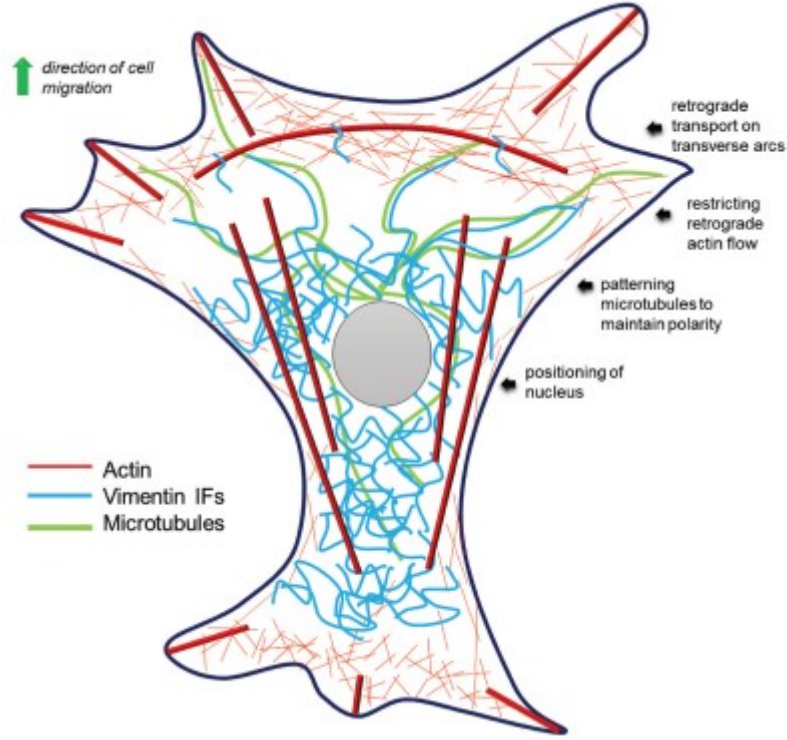
Eksternal fiksatorler, kemik kırıklarını veya deformitelerini tedavi etmek için kullanılan, vücudun dışına yerleştirilen ortopedik cihazlardır. Genellikle metal çubuklar, vidalar ve halkalardan oluşur; kemiklere dışarıdan bağlanarak stabilizasyon sağlar. Sirküler ve semisirküler eksternal fiksatorler, stabilizasyon özelliği ile hayvanın ekstremitelerini erken dönemde kullanmasını, eklem hareketlerini kısıtlamaması ve operasyon sonrası dönemde yara bakımının daha kolay olmasını sağlayan fiksatorlerdir. Son yıllarda kırık ve çeşitli ortopedik hastalıkların tedavisinde, insan hekimliğinde uzun süredir başarıyla kullanılan eksternal fiksator yöntemleri, küçük hayvan hekimliğinde de yaygın biçimde uygulanmaya başlanmıştır. Özellikle sirküler ve semisirküler eksternal fiksatorler, Radius/ulna ile tibia/fibula gibi çift kemik yapısına sahip ekstremitte bölgelerinde oluşan kırıklar veya deformitelerin tedavisinde önemli bir yer tutmakta ve sıklıkla tercih edilmektedir (Milovancev M, Ralphs CS., 2004, Speer BL., 2015). Eksternal fiksator sistemleri, yalnızca kırık iyileşmesinde değil; aynı zamanda ekstremitte uzatma işlemleri, osteomyelit veya tümör gibi nedenlerle kemik segmentinin çıkarılması gereken durumlarda da gittikçe artan oranda kullanılmaktadır. Bu yöntemin temel amacı, ölüm oranını azaltmak, anatomik yapıya uygun ve sağlam bir fiksasyon sağlamak, erken dönemde rehabilitasyonu mümkün kılmak ve olası komplikasyonları en aza indirmektir (Yavuz Ü., 2012). Kanatlı hayvan hekimliğinde ise hem evcil hemde yabani türlerde, kanat ve bacak bölgelerinde meydana gelen uzun kemik kırıkları oldukça yaygın olarak görülmektedir. Bu tür kırıkların tedavisiz kalması veya komplikasyon gelişmesi durumlarda, iyileşme süreci sekteye uğrayabilmekte; bunun sonucunda hayvan uçuş yetisini kaybedebilmekte, hatta yaşamını yitirebilmektedir (Roush JK., 2005). Farklı kanatlı türleri üzerinde yapılan çalışmalarda, linear ve sirküler eksternal fiksator tekniklerinin etkinliği karşılaştırılmış ve sirküler sistemlerin daha rijit bir stabilizasyon sağladığı, kallus oluşumunu hızlandırdığı ve dolayısıyla iyileşme süresini azalttığı belirlenmiştir. Ancak anatomik özelliklerinden dolayı, bu yöntem her bölgeye uygulanmamaktadır; özellikle femur gibi çevresi yoğun kas dokusu ile sarılı olan kemiklerde, sirküler eksternal fiksatorlerin kullanımı teknik zorluklar nedeni ile sınırlı kalmaktadır (Milovancev M, Ralphs CS., 2004).

2.1. Vimentin Proteini

Vimentin, ara filaman proteinleri grubuna ait bir yapısal proteindir. Tip III ara filament protein ailesindendir. Özellikle mezenkimal hücrelerde (bağ dokusu kökenli hücrelerde) bol miktarda bulunur. Fibroblastlar, endotelial hücreler ve bazı yağ

dokusu hücrelerinde yaygın olarak bulunur. Ayrıca kanser hücreleri, immun hücreler, kök hücreler, yaralı doku hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinde de görülür. Hücre iskeletinin bir parçası olarak hücrelerin biçimini ve mekanik bütünlüğünü sağlar. organellerin yerleşimini düzenler. Hareket, polarite ve adezyon (yapışma) süreçlerinde görev alır. Yaralanmalarda doku yenilenmesi, hücre şeklinin korunması, organel yerleşimi, mekanik stabilite işlevleri vardır. Apoptoz (hücre ölümü) sırasında yıkıma uğrar, bu süreçte kaspazlar tarafından hedef alınır (Karen M.R., John E.E., Milos P., Robert D. G., 2022).

Bağlayıcı proteinler kalın ve ince filamanların birbirine tutunmasını, belli bir hızda tutulmasını, aralarındaki optimum mesafenin korunmasını sağlar. Bol miktarda sitoplazmik ara filamen proteini olan Vimentin, hücre içi yapının stabilize edilmesindeki önemli rolüyle tanınmaktadır ayrıca Vimentin proteini hücre plastisitesinde mekanik işlev görür. Ek olarak Vimentin, diğer tüm sitoplazmik ara filamentlere benzer şekilde, kinazların yanı sıra sinyalleşmeden sorumlu hücresel bileşenlerle etkileşime girme yeteneği sayesinde gen düzenleyici ağlar üzerinde kontrol sağlar (Vaittinen S., vd., 2001, Wickert, U., vd., 2005). Hücrelerde vimentin, sitoplazmayı kaplayan bir filament ağı halinde birleşir (Ramaekers, F.C.; Dunia, I.; Dodemont, H.J.; Benedetti, E.L.; Bloemendal, H., 1982). Vimentin birçok protein için bir iskele görevi görür ve iki ana filamanlı bileşenle, yani aktin filamentleri ve mikrotübüllerle doğrudan etkileşim yoluyla hücre göçünün, yapışmasının ve bölünmesinin düzenlenmesine katılır. Vimentin, metafaz sırasında F-aktin interaktom açısından zengindir ve plektine bağımlı bir şekilde aktin korteks organizasyonunda ve mitozda aktif yer alır. (Ramaekers, F.C.; Poels, L.G.; Jap, P.H.; Bloemendal, H., 1982, Zhang J, Ma L., 2012). Vimentin, hücre içi olarak plektin ile etkileşime girer ve hücre iskeletinin üç ana bileşeni için hücre iskeleti çapraz bağlayıcısı olarak görev yapar; bu bileşenler, hücre iskeleti sistemlerinin lokalizasyonu, dinamikleri ve hücre morfogenezi için önemlidir (Tapscott, S.J.; Bennett, G.S.; Toyama, Y.; Kleinbart, F.; Holtzer, H., 1981, Sax, C.M.; Farrell, F.X.; Zehner, Z.E., 1989). Ara filaman proteinlerinden biri olan vimentin birçok farklı organizmanın hücre ve dokularında eksprese edilir (Uhlén, M., vd. 2015). Vimentin, embriyonun gelişiminin erken aşamalarında oldukça öncü hücreler içinde eksprese edilirken doğum sonrası yaşamda ekspresyonu endotel hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücreleriyle sınırlıdır. Yetişkin hayvanlarda vimentin ekspresyonu bazı hücre tipleriyle sınırlı olsa da, epiteyal yara iyileşmesi gibi rejenerasyon sırasında *in vivo* olarak yeniden uyarılabilir (şekil 2.1) (Cheng F., vd., 2016).



Şekil 2.1. Vimentin proteini, aktin filamentleri ve mikrotübüllerin dinamiklerini koordine ederek yönlendirilmiş hücre göçünü destekler. Vimentin parçacıkları hücre çevresinde parçalanır ve muhtemelen olgun filamentlere dahil olmak için enine aktin yayları üzerinde retrograd taşınmaya uğrar. Olgun vimentin filamentleri retrograd aktin akışını kısıtlar ve hücre göçü sırasında nükleer konumlandırmayı kontrol eder. Uzun ömürlü vimentin filamentleri, yeni mikrotübüllerin önceki yolları boyunca büyümesini modellemek için kısa ömürlü mikrotübüllerle birleşerek göç sırasında hücre polaritesinin korunmasını koordine eder (Cheng F., vd. 2016).

Vimentinin filamenli veya filamentsiz formlarda hem mekanik hem de mekanik olmayan fonksiyona sahip olduğu ileri sürülmüştür. Hücre içi vimentine ek olarak, hücre yüzeyinde veya hücre dışı ortamda vimentin varlığı, hücrelerin temizlenmesi, kanser ve travmatik kas dokusu hasarı gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte yer almaktadır (Battaglia R.A., Delic S., Herrmann H., Snider N.T., 2014). Vimentin çok çeşitli patofizyolojik durumlarla bağlantılı olan bir proteindir.

Vimentin göç eden mekanizmal hücrelerde eksprese edilir ve bu ekspresyon, kastaki desmin proteini gibi dokuya özgü IF proteinlerinin etkilerini kolaylaştırır (Schaffeld M, vd., 2001).

Vimentin proteini, merkezi 310 amino asit uzunluğunda sarmal bir çubuk alanından oluşur.

70 asidik ve 46 bazik amino asit içerir. Vimentinin ayrıca birçok translasyon sonrası modifikasyona uğradığı da bilinmektedir (Danielsson F., Peterson Mc. K., Araújo H.C., Lautenschläger F., Britt Gad A.K., 2018).

Tavuk ve farelerde yapılan daha ileri çalışmalarda ise vimentin proteininin esas olarak hücrelerde ekspresyonunu ortaya koyulmuştur.

Ayrıca yapılan çalışmada bağ dokusu ve merkezi sinir sisteminin yanı sıra eritroid ve kas hücrelerinde vimentin proteinin bulunduğu görülmüştür (Wickert, U., Mücke, N. Wedig, T.; Müller, S.A.; Aebi, U.; Herrmann, H., 2005).

Çalışmalarda; Tavuklarda ve hamsterlerde kas ve sinir dokularının gelişiminin, mRNA'da vimentin proteinine bağlı daha da arttığı gözlemlenmiştir (Zehner, Z.E.; Paterson, B.M., 1983).

Bu çalışmaya ek olarak vimentinin yüksek proliferatif ve farklılaşmamış hücrelerde eksprese edildiği görülmüştür. Daha sonraki ekspresyon çalışmalarında vimentin proteininin tüm önemli genlerde yapısal olarak eksprese edildiği gözlemlenmiştir (Wickert, U., Mücke, N. Wedig, T.; Müller, S.A.; Aebi, U.; Herrmann, H., 2005).

Kas yaralanmalarında uydu hücreleri (kas kök hücreleri) aktive olur. Bu hücrelerde vimentin proteini artar. Kas liflerinin yeniden yapılanması ve doku organizasyonu için gereklidir. Desmin gibi diğer ara filamentlerle birlikte çalışarak yeni kas liflerinin oluşumunu destekler. Fibroblast aktivasyonu ve miyofibroblast dönüşümü süreçlerinde vimentin, doku onarımında kilit bir rol oynar (Vater R., Cullen J. M., Harris B.J., 1994).

TGF-beta sinyali, EMT(epitel-mezenkimal geçiş) süreçlerinde vimentin seviyeleri artar. Vimentin ekspresyonu, birçok tümörde (özellikle sarkomlar ve metastatik karsinomlar) artar. EMT sürecinde, hücrelerin invaziv ve metastatik özellik kazanmasında katkı sağlar. Kronik inflamasyon ve yara iyileşmesi sonrası aşırı fibroblast aktivasyonu ile fibrotik dokuda artar. Alzheimer, ALS gibi bazı nörodejeneratif hastalıklarda glial hücrelerde vimentin artışı gözlemlenmiştir (Kidd M.E., 2014).

Immunohistokimya ile vimentin boyaması tümör tiplerini sınıflandırmada da yardımcı olur. Mezenkimal kaynaklı olup olmadığını gösterir. Vimentin, kas dokusundaki ekstrasellüler matriksin yeniden düzenlenmesinde rol oynar.

Fibroblastlar ve miyoblastlar mezenkimal kökenli hücrelerde eksprese edilir ve hücre migrasyonunu destekler. Vimentin, immun hücrelerin kas hasarının olduğu bölgeye doğru göçün düzenlenmesinde rol alır (Yang W., Ping H., 2018).

Yara iyileşmesi, genellikle üç ana fazda gerçekleşir.

1. Enflamasyon (iltihap)
2. Proliferasyon (çoğalma)
3. Remodeling (yeniden şekillenme)

Vimentin bu süreçlerin özellikle proliferasyon ve remodeling fazında rol oynar (Laumonier T., Menetrey J., Huard J., 2014).

Yara bölgesinde fibroblastlar göç eder ve burada yeni doku sentezine başlar. Vimentin, fibroblast göçü ve epiteliyal mezenkimal geçiş (EMT) süreçlerinde önemli rol oynar. Hücrelerin esnekliğini ve hareket etme kabiliyetini artırır (Chernoivananenko I. S., 2020).

Fibroblastlar vimentin sayesinde ekstraselüler matriks (kolajen vb.) sentezler. Bu matriks, yara bölgesine yeni bir yapı sağlar ve iyileşmenin altyapısını oluşturur (Chernoivananenko I. S., 2020).

Vimentin, makrofaj aktivitesini de etkiler. Bu bağışıklık hücreleri, ölü hücreleri temizler ve büyüme faktörleri salgılar.

Vimentin eksikliği olan fare modellerinde yara iyileşmesinin geciktiği gözlemlenmiştir.

Vimentin eksikliği olan hayvanlarda yara iyileşmesinin daha yavaş olduğu, granülasyon dokusunun daha az olduğu tespit edilmiştir.

Vimentin, TGF-beta gibi büyüme faktörlerinin etkisini artırarak fibroblast aktivasyonuna katkıda bulunur.

Vimentin, yara iyileşmesinde ;

Hücre göçünü kolaylaştırarak,

Fibroblastların ECM üretmesini destekleyerek,

Bağışıklık hücrelerinin işlevlerini düzenleyerek katkıda bulunur.

Iyileşme sürecine çok önemli katkılar sağlar. Bu nedenle vimentin, hem doku hemde yara tedavisinde potansiyel bir hedef molekülü olarak değerlendirilmektedir (Chernoivanenko I. S., 2020).

Post-translasyonel Modifikasyonlar; vimentin, fosforilasyon, glikosilasyon, sumoilasyon ve asetilasyon gibi modifikasyonlara uğrar. Özellikle fosforilasyon, vimentin filamentlerinin dinamik olarak yeniden düzenlenmesini sağlar. Aktin, mikrotübüller ve diğer ara filament proteinleriyle etkileşime girer. Dinamik yapısı, hücre döngüsü ve çevresel uyarılara bağlı olarak hızlı bir şekilde birleşip dağılabilir. Vimentin, agresif tümörlerde yüksek oranda eksprese edilir.

Vimentin eksikliği, yara iyileşmesinde gecikme, damar bütünlüğünde bozulma ve immun sistemde değişiklikler gibi fenotipler gösterir. Ancak, bazı proteinlerinin vimentin kadar etkili olmasa da bazı işlevleri yerine getirebileceği de görülmüştür. Vimentin, evrimsel olarak korunmuş bir proteindir ve omurgalılarından omurgasızlara kadar geniş bir yelpazesi bulunur. Bazı bakteriler (örneğin; mycobacterium tuberculosis), vimentinle etkileşime geçerek hücre içine girebilir. Vimentin, hücre dışı ortamda da bulunabilir. Bu formu, immun sistemi modüle edebilir (Vaknin N., Punturieri A., Sitwala K., Markovitz D., 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal Metod

Yapılan çalışmada toplam 12 adet Broiler cinsi tavuk (*Gallus gallus domesticus*) kullanılmıştır. Kullanılan hayvanların sağ ekstremitelerinde deneysel kırık oluşturulmuştur.

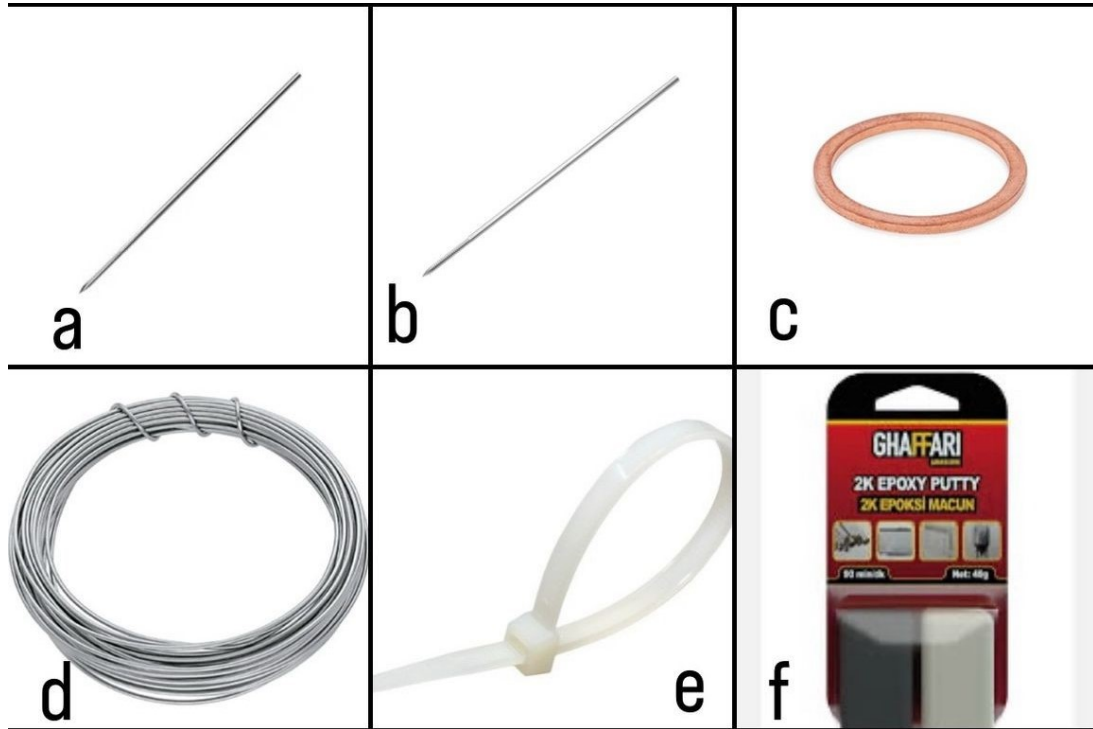
3.1.1. Gruplar

Çalışma grubu olarak hayvanlar 3 grup altında toplanmıştır. 1. Gruptaki (6 adet) hayvanlara kırık sonrası sirküler eksternal fiksator, 2. Gruptaki (6 adet) hayvanlara kırık sonrası semisirküler eksternal fiksator uygulanmıştır. Çalışmada kontrol grubu (6 adet) olarak kırık oluşturulmayan ayaktaki extensor digitorum longus kası kullanılmıştır. Uygulamalar sonra postoperatif dönemde kallus ve iyileşme klinik ve radyografik olarak takip edilmiştir. Tedavi süresi olan sekiz hafta sonunda tüm tavuklar intra venöz (IV) yolla 182 mg pentobarbital sodyum (Penbital, Bioveta, 400 mg/ml) kullanılarak sakrifiye edilmiştir. Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan doku örnekleri histolojik incelemeler için %10 nötral formalinde 24 saat tespit edilmiştir.

3.1.2. Tedavi Protokolü

Konfigürasyon materyali ve operasyon öncesi hazırlık: Birinci gruptaki tavuklarda semisirküler halka sisteminde; her biri 2.0 mm çapında ve ucu yivli toplam 4 adet Schanz pini, 40 gram epoksi resin materyali, 4 adet yarım daire biçiminde bakır halka ile bağlantılı noktaların sabitlemesi için 0.5 mm çapında ve 10 cm uzunluğunda 4 adet seklaj teli kullanıldı. İkinci gruptaki tavuklarda ise sirküler halka sistemine yönelik olarak; 1.5 mm çapında 4 adet Kirschner (K) teli, 60 gram epoksi resin materyali, 4 adet 50 mm çapında tam daire formundaki bakır halka ve bağlantı sabitlemeleri için her biri 2.5 mm çapında ve 10 cm uzunluğunda 8 adet plastik klips kelepçe kullanımı gerçekleştirildi (Şekil 3.1).

Tüm tavukların operasyon öncesinde ağırlıkları ölçülüp genel sağlık muayeneleri yapıldı. Sadece fizyolojik değerleri normal sınırlar içinde bulunan tavuklar çalışmaya dahil edildi. Operasyondan 8 saat önce yem ve su verilmesi durduruldu.



Şekil 3.1. Fiksatorler uygulanırken kullanılan ürünler a) 1. Gruba uygulanan Schanz pini, b) 2. Gruba uygulanan K-teli, c) Tüm gruplarda kullanılan bakır halka, d) 1. Grupta uygulanan serklaj teli, e) 2. Gruba uygulanan klips kelepçe, f) Tüm gruplarda kullanılan epoksi resin macun

3.1.3. Anestezi

Her iki gruba preoperatif analjezi sağlamak amacıyla 0.5 mg/kg dozunda meloksikam (Maxicam, Sanovel, 5 mg/ml) kas içi (IM) yolla uygulandı. Bu nonsteroid antienflamatuvar ilacın enjeksiyonundan 5 dakika sonra, anestezinin indüksiyonu için 20 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketasol %10®, Richter Farma, 100 mg/ml) IM yolla enjekte edildi.

3.1.4. Operasyon Tekniği

Asepsi-antisepsi kurallarına uygun şekilde, her iki grupta operasyon bölgesi hazırlandı. Tüm tavuklar sağ lateral pozisyonunda sabitlenerek, sol tarsometatarsal kemiğin orta diyafizer bölgesinde lateralden 1 cm'lik cilt kesisi yapıldı. Deri, fascia, Musculus ekstensor digitorum longus ve Musculus fleksor perforatus kasları ekarte edildi. (Şekil 3.2). Sol tarsometatarsal kemiğin orta diyafizer bölgesinde 2.0 mm'lik Schanz pini ile 3 ayrı tünel açıldıktan sonra bu bölgeye kontrollü kuvvet uygulanarak transversal kırık oluşturuldu. Oluşturulan kırığın ardından fasya, kas dokusu ve cilt katmanı, 2/0 poliglikolik asit (PGA) ipliği (PGA) (Rted, Shandong Haidike Medical

Products Co. Ltd., China) kullanılarak kapatıldı.

Grup 1'deki tavuklarda, kırık tedavisi amacıyla sol tarsometatarsal kemiğe semisirküler eksternal fiksator uygulanırken, Grup 2'deki tavuklarda aynı bölgeye sirküler eksternal fiksator yerleştirildi. Grup 1'de Schanz pinleri, Grup 2'de K-telleri ile kemik fragmentlerine giriş sağlandı.

Her iki grupta da pinlerin yönleri ve aralarındaki mesafeler operasyon sırasında radyografi ile kontrol edilerek doğrulandı. Grup 1'de, pin gövdesi olarak yarım daire şeklinde bakır halkalar, Grup 2'de ise tam daire şeklindeki bakır halkalar kullanılarak kemik segmentlerinin stabilizasyonu sağlandı.

Her iki yöntemde, pin-halka bağlantılarını sağlamak amacıyla epoksi resin materyalleri tercih edildi. Epoksi kürleşme süreci tamamlandıktan sonra, her iki grupta da pinlerin fazla uzunlukları pin kesme makası ile kesilerek operasyon sonlandırıldı.

3.1.5. Histolojik ve Histokimyasal Yöntemler

Tedavi protokolünden sekiz hafta sonunda yukarıda bahsedildiği gibi sakrifiye edilen deneklerden alınan kas örnekleri 24 saat %10 Nötr Formalinde tespit edildi. Tespit işleminin ardından 24 saat akarsuda yıkanan dokular dehidrasyon amacıyla dereceli alkol (70, 80, 96 ve 100) ve xylol serilerinden geçirildikten sonra parafinde bloklanmıştır. Daha sonra parafin bloklardan 50 µm ara ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alınmıştır. Alınan kesitlere genel histolojik incelemeler için Crossman'ın modifiye üçlü boyama yöntemi (Crossman, 1937), ve vimentin proteinin tespiti için Strept Avidin-Biotin-Peroxidase kompleks (Strept ABC) metodu (Withanage vd., 1997) uygulandı. Her bir deney grubundan Crossman'ın üçlü boyama metodu ile boyanan rastgele 3 preparat seçilmiştir. Seçilen her bir preparatta 3 ayrı bölgede 6'şar ölçüm yapılmış böylece her preparatta toplam 18 kas çapı ölçülmüştür. Bu bağlamda denek gruplarından her birinde toplamda 54 kas çapı ölçümü gerçekleştirilmiştir.

3.1.5.1. Crossman'ın Üçlü Boyama Metodu

Hazırlanan preparatlar parafinini gidermek için xylollerde bekletildikten sonra dercelei alkollerde (%100, %96, %80, %70) muamele edilerek suya getirildi. Bu boyama yönteminde çekirdekleri ortaya çıkarmak için hemotoksilen, stoplazmayı göstermek için asit fuksin, bağ doku için de anilin blue boyamaları kullanıldı. Daha sonra yine dereceli alkollerde (%70, %80, %96, %100) rehidre edilen dokular

xylollerde parlatılarak entellanla kapatıldı.

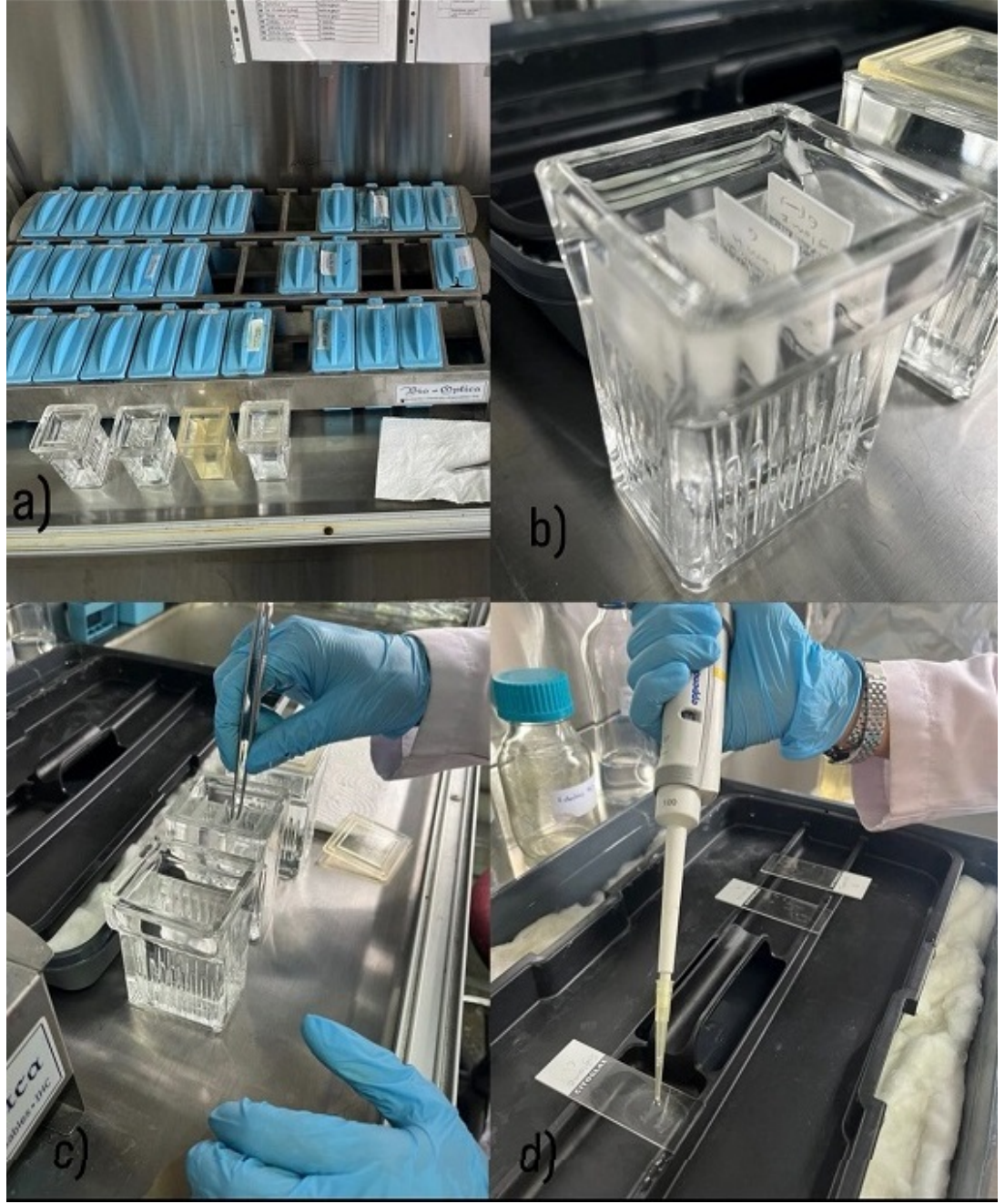
Bu metotta da ilk olarak dokular xylol I ve xylol II de bekletildi. Daha sonra Absol I (%100 alkol) ve Absol II’de tutulan dokular sırasıyla %96 alkol , %80 alkol ve %70 alkolde tutulduktan sonra distile suda çalkalandı ve akarsuda yıkandı. Akarsuda yıkanan doku çekirdek boyası için Weigert Hematoxylin da bekletildi. Daha sonra akarsuda yıkanan dokular metil alkolde çalkalandı ve tekrar akarsuda yıkandı. Akarsudan çıkarılan dokular distile suda tutuldu. Dokular daha sonra sitoplazma boyaması için Asit Fuksin’de bekletildi. Tekrar distile suda çalkalandı. Boyanın fazlasını almak için dokular daha sonra Phospotungustik asitte bekletildi ve iki defa distile suda yıkandı. Yıkanan dokular bağ doku boyaması için Anilin Blue’da uygulandı.. Boyadan çıkarılan dokular distile suda iki defa yıkanıp %2 asetik asitte bekletildi. Distile suda çalkalanan dokular %96 Alkolden başlayan dereceli alkol serilerinde tutulduktan sonra Xyloller’de parlatıldı ve entellan ile kapatıldı.

Boyanan kesitler Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarından bulunan Olympus marka BX63 (Tokyo/Japon) araştırma mikroskobu ve buna bağlı DP73 kamera ile incelenerek ölçüldü ve fotoğraflandı

3.1.5.2. Strept Avidin-Biotin-Peroxidase Kompleks (Strept ABC) Metot Protokolü

1. GÜN

İlk olarak dokularda parafini uzaklaştırmak amacı ile Xylol I ve Xylol II de bekletildi. Daha sonra rehidrasyon amacıyla dokular Absol I ve Absol II (%100 alkol), %96 alkol ve %70 alkolde bekletildi (Şekil 3.2). Rehidre olan dokular akarsuda yıkandı. Akarsuda yıkanan dokular dokunun yerini belirlemek için elmas kalemlle çizildi ve citrate bufferda kaynatıldı. Bu sürenin sonunda dokular soğumaya bırakıldı. Soğuyan dokular hidrojen peroksitte tutuldu. PBS ile 4 kez yıkanan dokular V blok’da bekletildi. Bu sürede primer antikör olan vimentin antikoru 1/100 oranında sulandırılarak vortex ile karıştırıldı. V blok uygulamasından sonar PBS ile yıkanan dokulara antikör uygulanarak 1 gece buzdolabında bekletildi.

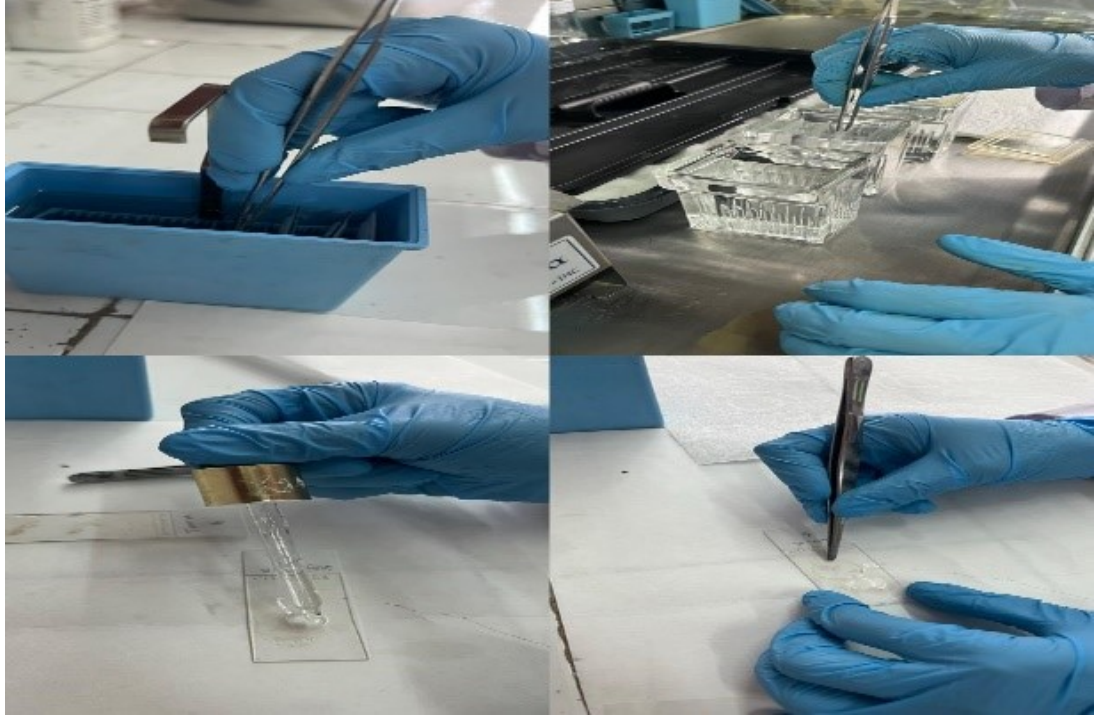


Şekil 3.2. Tüm gruplarda uygulan immunohistokimya teknikleri a) xylol-alkol serilerinde bekletilmesi b) hidrojen peroksitte dokuların bekletilmesi c) hidrojen peroksitten dokuların alınıp düzeneğe yerleştirilmesi d) v blok damlatılma işlemi.

2. GÜN

Buzdolabından çıkarılan dokular tekrar 4 defa PBS ile yıkandı. Biotinylated goat antipolyvalent'te bekletilen dokular sürenin sonunda PBS ile 4 kez yıkanarak Streptavidin Peroxidase'da bekletildi. Bu süre zarfında antikorun görünür kılmak için kullanılacak olan DAB (3,3N-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride) ile muamele

edildi. DAB boyamasından sonra akarsuda yıkanan dokulara çekirdekleri görmek amacıyla Hematoksilen boyası yapıldı. Boyamadan sonra akarsuda yıkanan dokular dereceli alkollerden geçirildikten sonra (%70, %96, Absol I ve Absol II) Xylol I ve Xylol II de bekletilerek entellan ile kapatıldı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Her gruba uygulanan immunohistokimya yöntemlerinin preparat kapatma uygulaması.

Boyama sonunda preparatlar Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan Olympus marka BX63 (Tokyo/Japon) araştırma mikroskobu ve buna bağlı DP73 kamera ile incelenerek fotoğraflandı.

3.1.5.3. Histometrik Ölçümler

Crossmann'ın üçlü boyama yöntemi ile boyanan dokular Oylmpus mikroskobu ve DP73 fotoğraf ataçmanı ve buna entegre olan sayım ve ölçüm programında (cellSens Entry) X20 büyütmdde kas genişlikleri ölçüldü. her grupta her hayvan için seçilen 3 preparatta 3 ayrı bölgede 6'şar ölçüm yapıldı. Böylece her bir hayvan grubunda toplamda 54 ölçüm yapılmış oldu. Elde edilen verilerin ortalaması alınarak her gruptaki kasların ortalama genişliği hesaplandı.

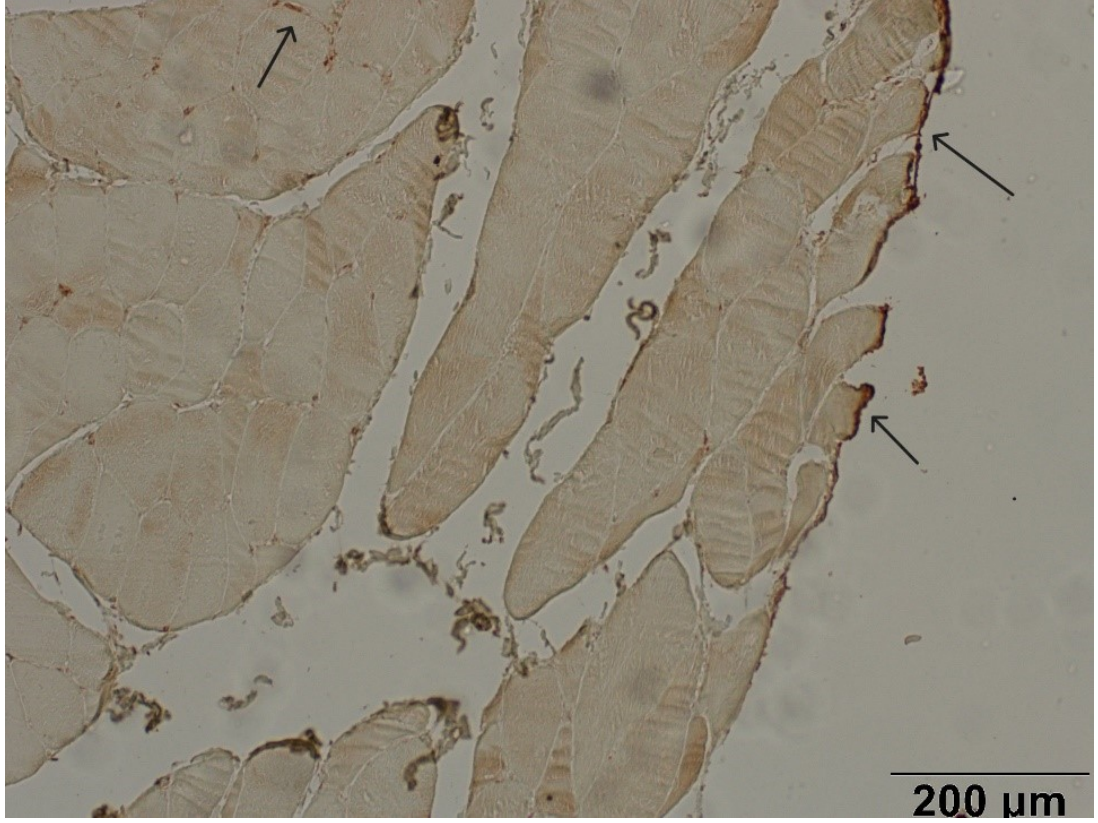
4. BULGULAR

4.1. Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyama Yöntemi Bulguları

Crossman'ın modifiye üçlü boyama yöntemi uygulanan preparatlarda yapılan kas çapı ölçümleri dikkate alındığında Sirküler eksternal fiksator uygulanan kaslarda kasın ortalama genişliği 81,6883 olarak belirlenirken; semisirküler eksternal fiksator uygulanan kaslarda kasın ortalama genişliği 72,407 olarak ölçüldü. Bununla birlikte kontrol grubunda bulunan kaslarda kasın ortalama genişliği 99,416 olarak hesaplandı.

Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında kontrol grubunda bulunan sağlam kaslardaki kas çapının genişliği sirküler eksternal fiksator uygulanan kaslardan fazla olduğu, buna karşı en az kas çapının semisirküler eksternal fiksator uygulanan kaslarda olduğu belirlendi.

Çalışma sonunda kontrol grubunda Vimentin pozitif hücrelerin oldukça az olduğu tespit edildi. Yine bu grupta kaslarda kası saran sarkolemmada az miktarda vimentin pozitivitesi görüldü (Şekil 4.1). Kontrol grubu olarak kullanılan sol ekstremite kaslarında az oranda plazmalemada da vimentin pozitif hücrelere rastlandı. Kaslar arasındaki bağ dokuda da az oranda immunpozitif hücreler görüldü. Bağ dokuda rastlanan immunpozitif hücrelerin damarların etrafındaki adventisya tabakasında ve fibroblastlarda yoğunlaştığı tespit edildi (Şekil 4.2).

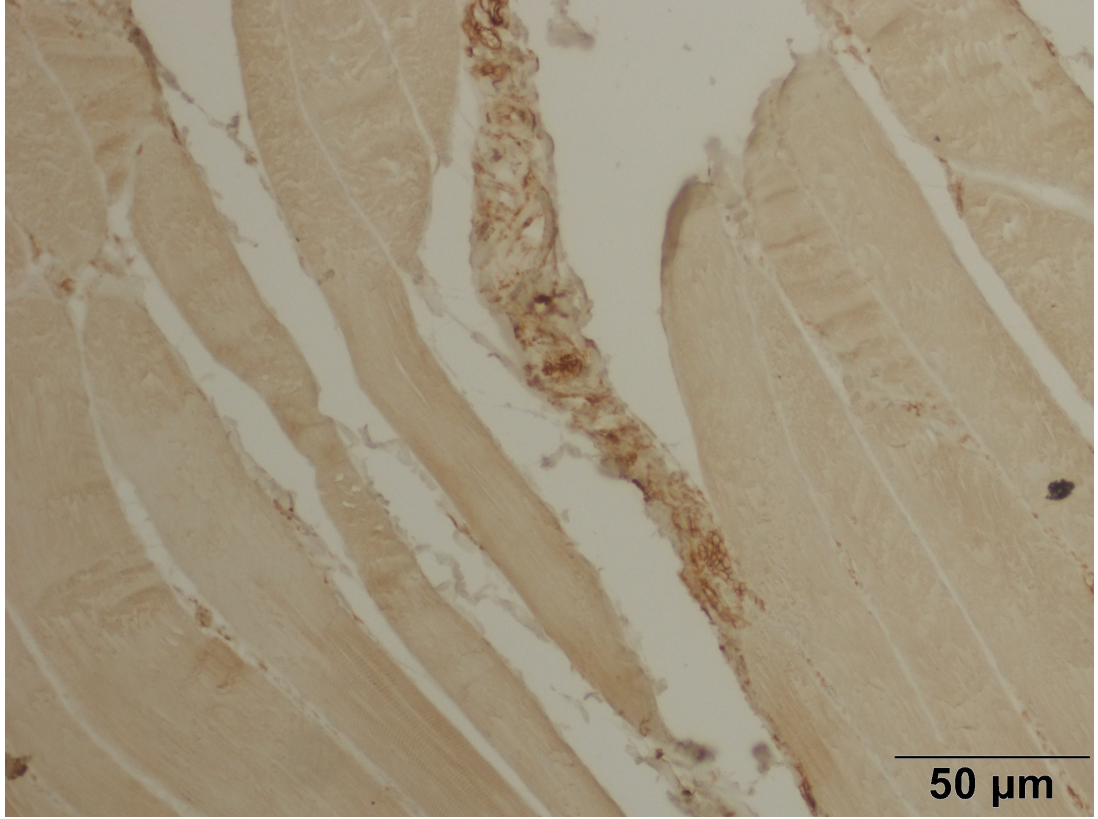


Şekil 4.1. Kontrol grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif sarkolemma. StreptABC metot X10

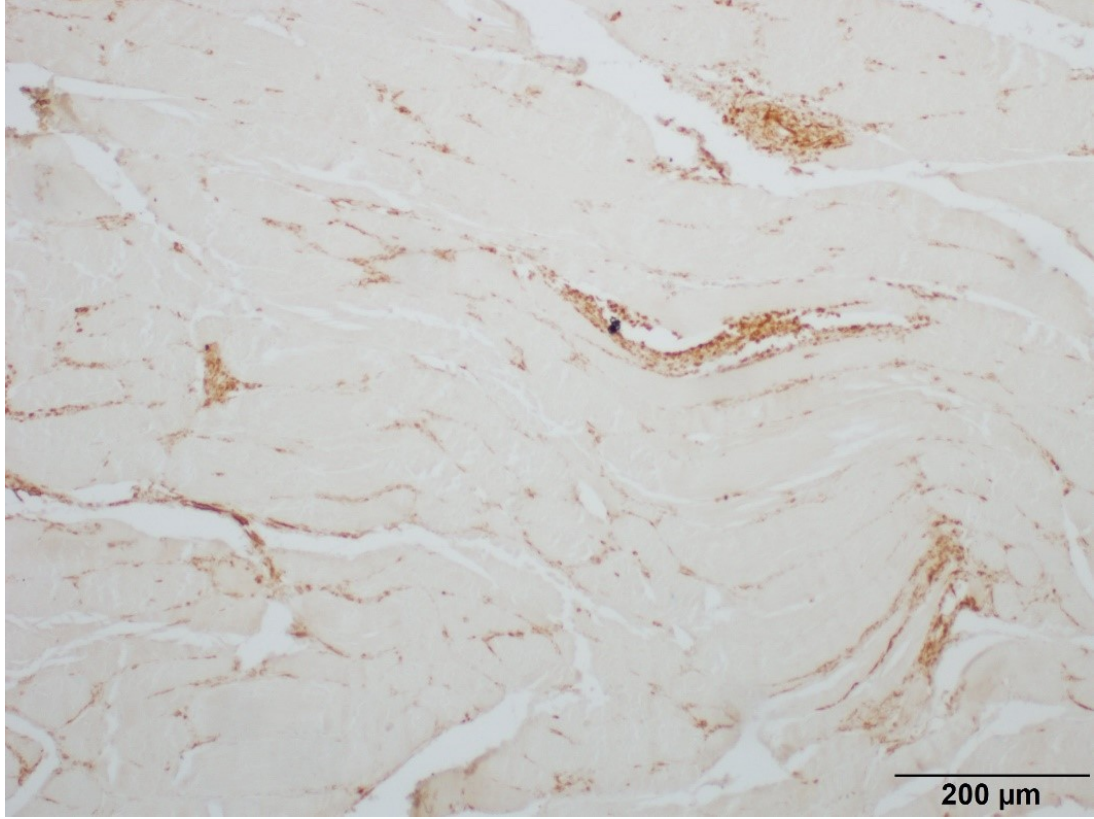


Şekil 4.2. Kontrol grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif hücreler
StreptABC metot X20

Semisirküler eksternal fiksator uygulanan ekstremitelerde kaslardaki vimentin ekspresyonunun sağlam ekstremitelerdeki kaslarla benzerlik gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.3). Bu grupta sarkollemada, perimizyum tabakasında ve bağ dokuda az miktarda vimentin pozivitesine rastlandı (Şekil 4.4).

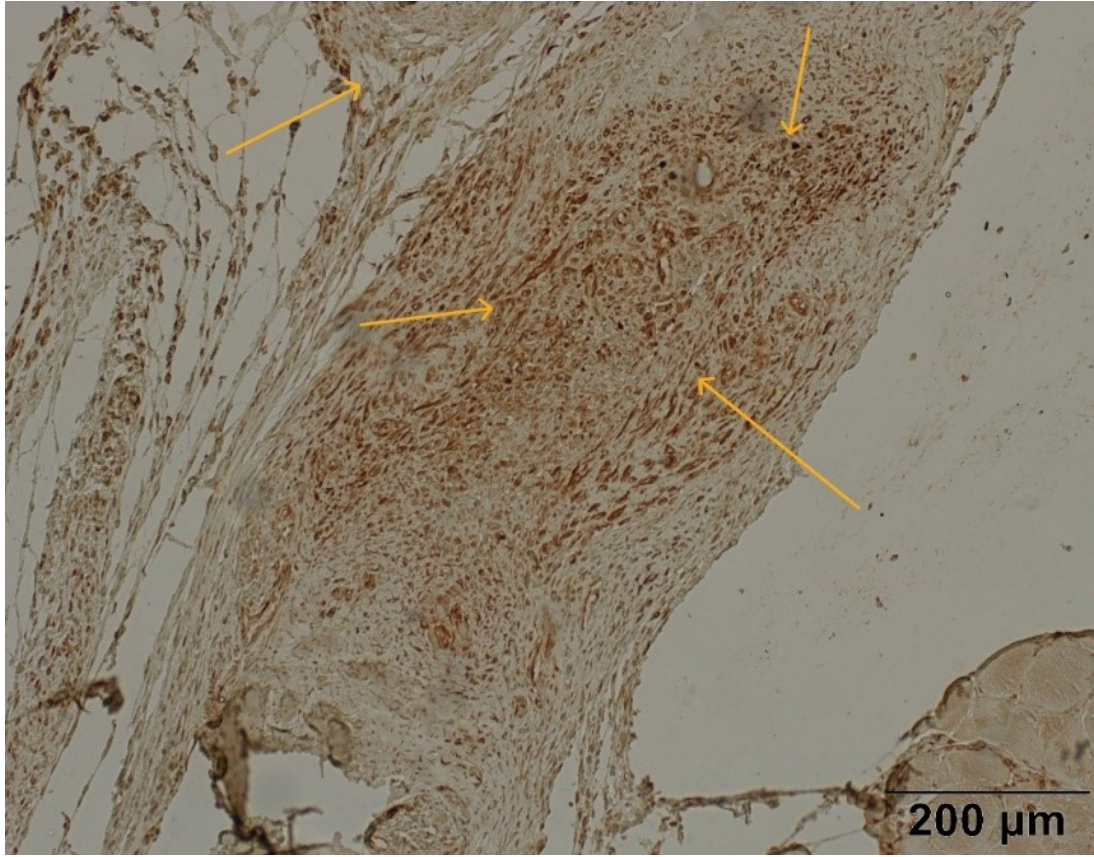


Şekil 4.3. Semisirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. StreptABC metot X20

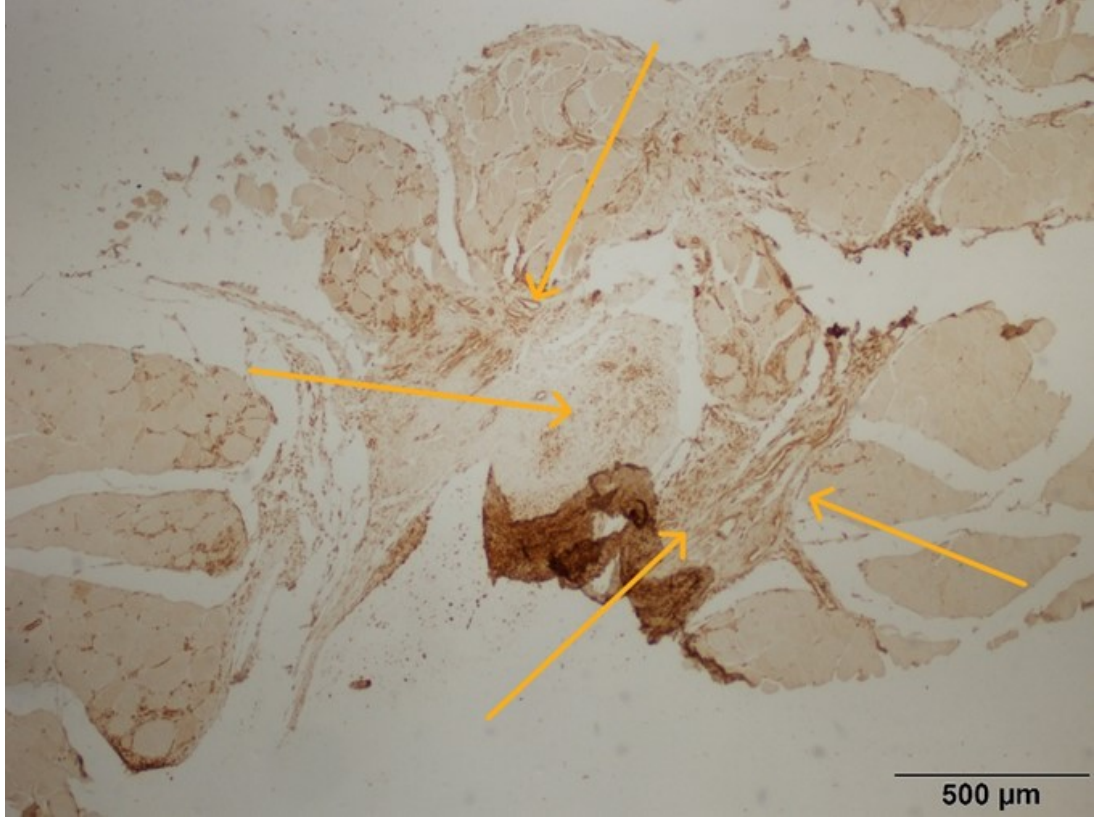


Şekil 4.4. Semisirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. StreptABC metot X10

Sirküler eksternal fiksator uygulanan ekstremitedeki kaslar incelendiğinde vimentin pozitivitesinin kontrol grubuna ve semisirküler halka uygulanan gruba göre oldukça arttığı görüldü. Pozitivitenin sarkolemma ve bağ dokuda yoğunlaştığı tespit edildi (Şekil 4.5). Yine sirküler eksternal halka uygulanan dokuda kas dokunun da arttığı tespit edildi (Şekil 4.6).

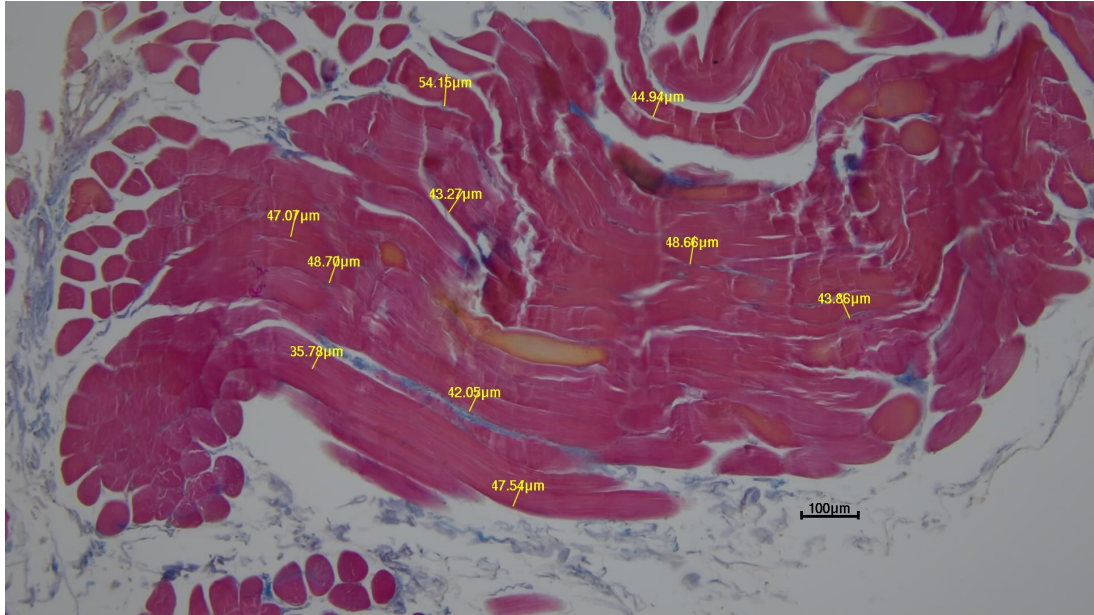


Şekil 4.5. Sirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif hücreler

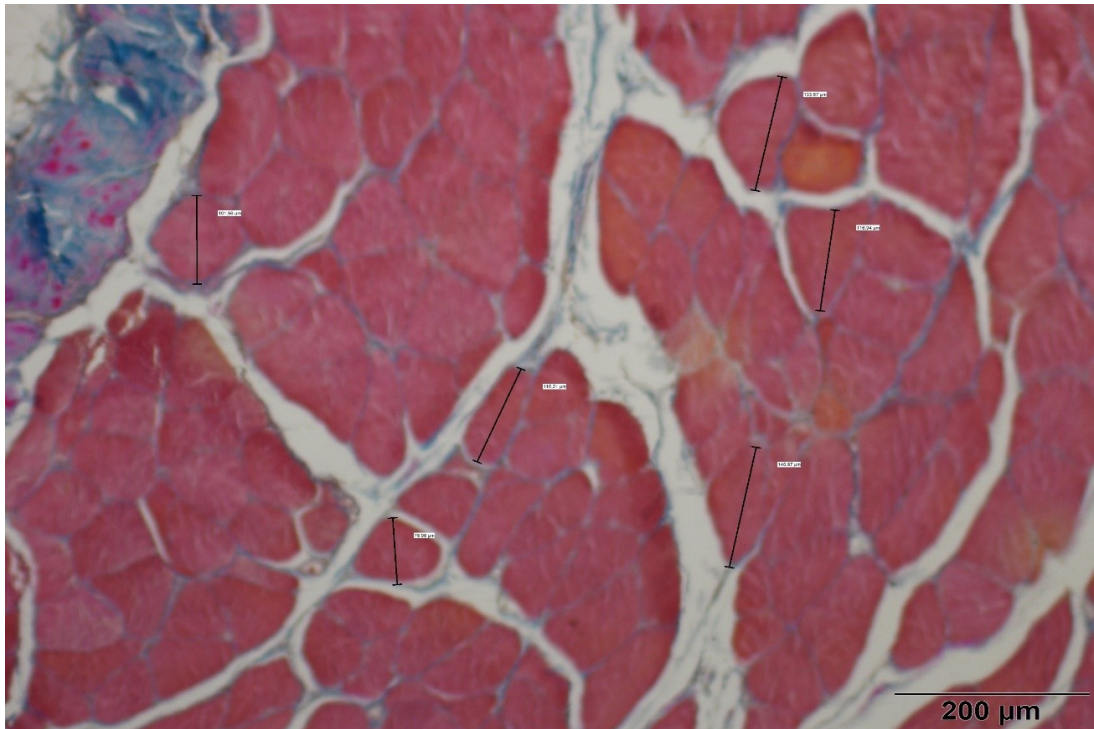


Şekil 4.6. Sirküler eksternal fiksator grubu vimentin pozitivitesi. Ok: vimentin pozitif hücreler

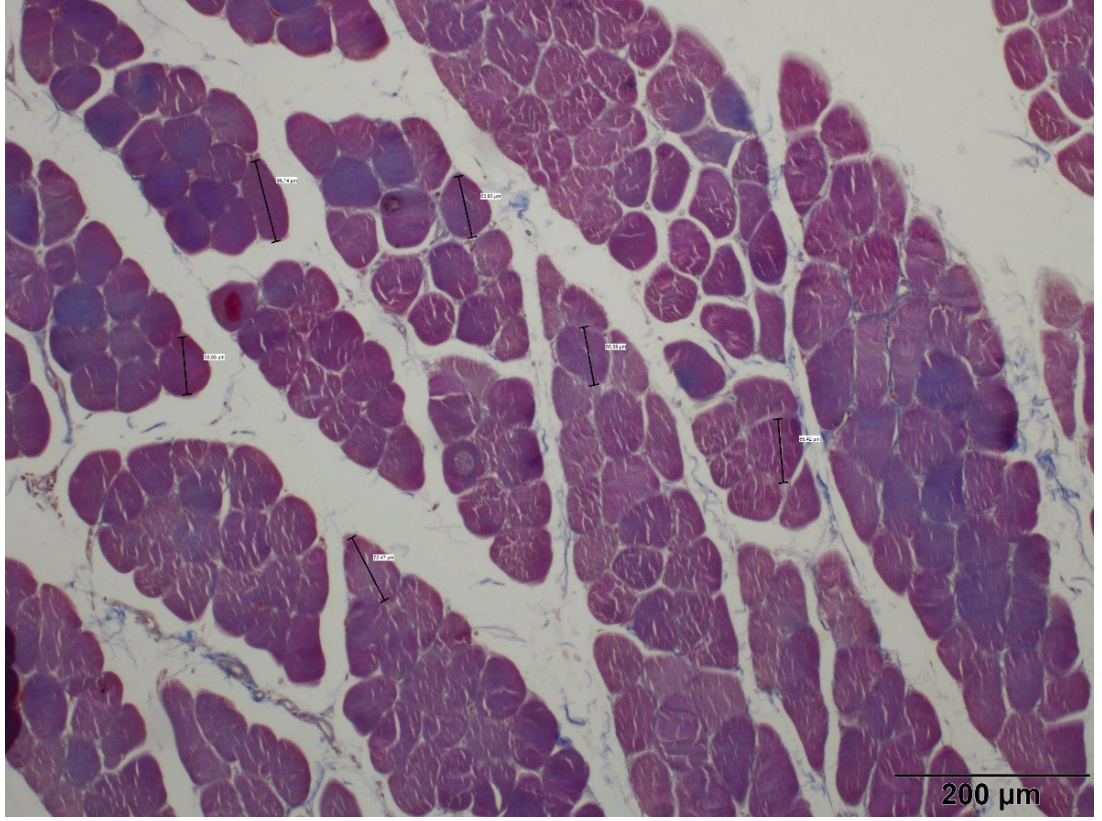
Semisirküler eksternal fiksator uygulanan ekstremitedeki kaslar incelendiğinde kas miktarının sağlam ekstremitedeki kaslara oranla oldukça azalmış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.7).



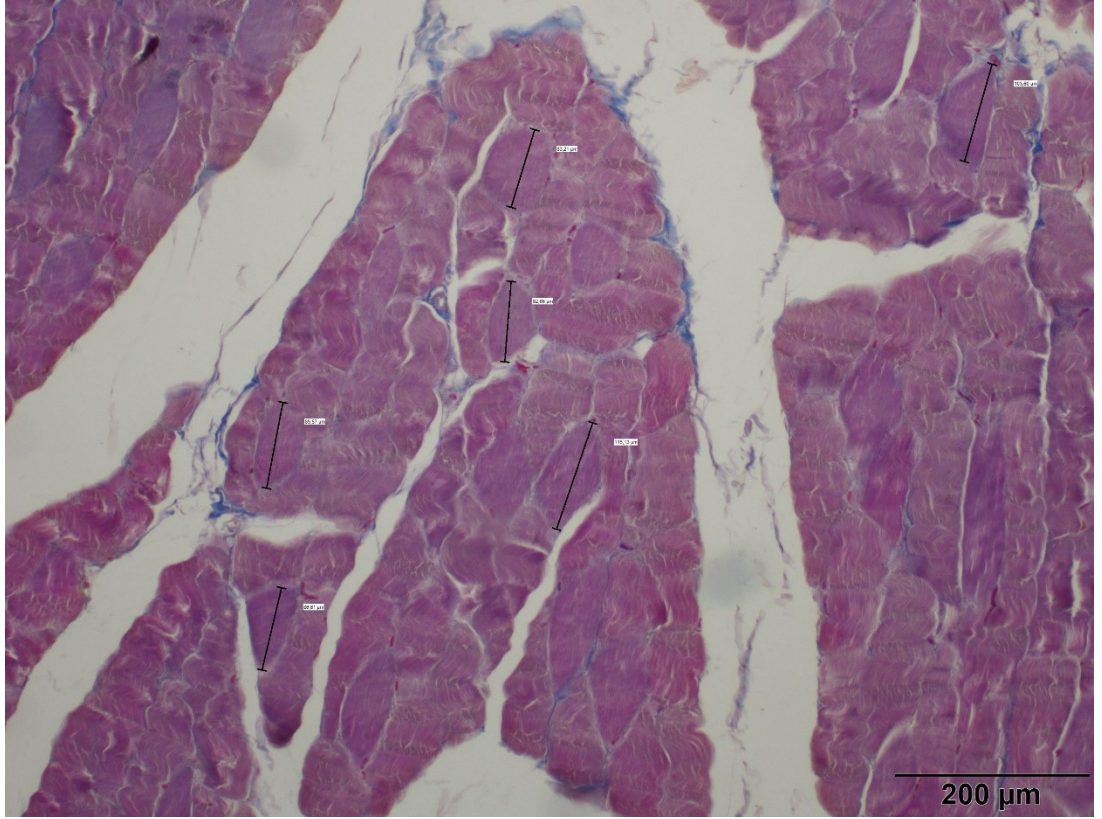
Şekil 4.7. Semisirküler eksternal fiksator grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X10



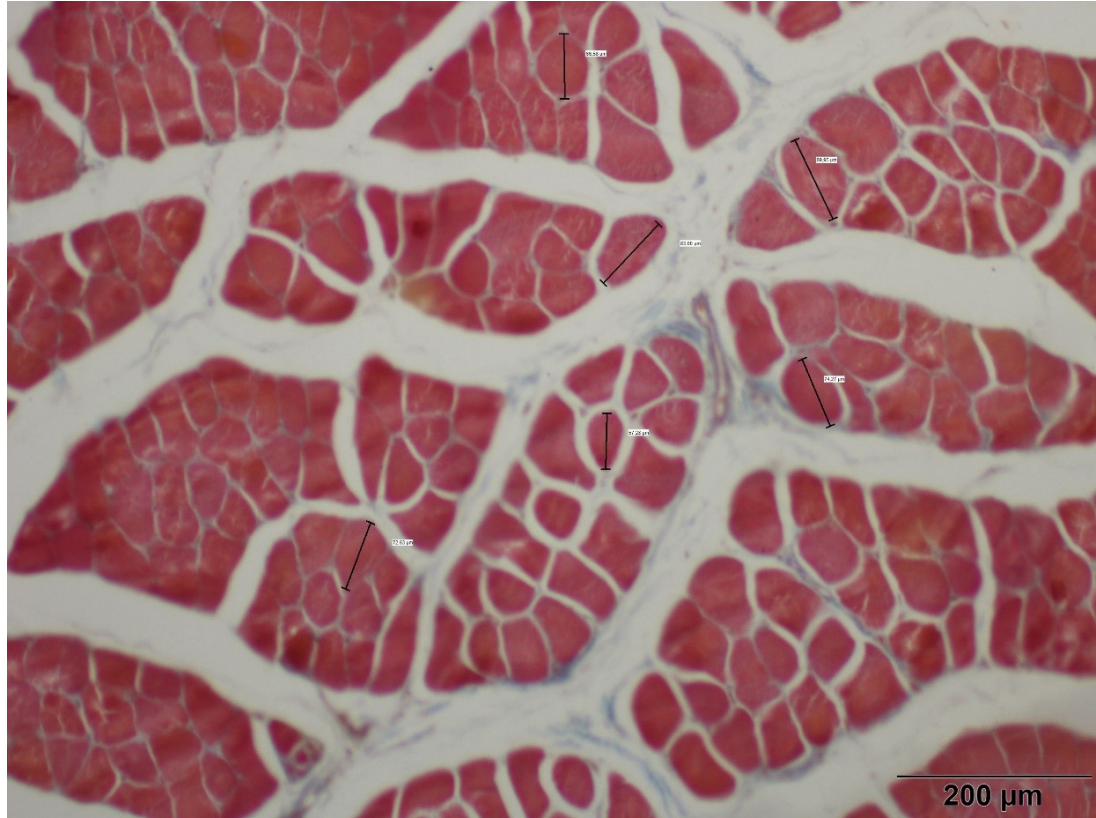
Şekil 4.8. Kontrol grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X10



Şekil 4.9. Kontrol grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X20



Şekil 4.10. Sirküler eksternal fiksator grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X20



Şekil 4.11. Sirküler eksternal fiksator grubu kas yoğunluğu Crossmn's üçlü boyama yöntemi X20

5. TARTIŞMA

"Vaithinen vd., 2001" çalışmalarında vimentinin, yaralanan kasta hızlı bir regülasyon sağladığını ve belirli bir farklılaşma aşamasına ulaşmış yenilenen kas liflerinde oldukça aktif rol oynadığını bildirmişlerdir (Vaithinen vd., 2001). Sunduğumuz çalışmada özellikle sirküler halka uygulanan kemiğe yapışık olan m. extensor digitorum longus kasında vimentin proteinin yoğun olduğu ve kasın bir regülasyon sürecine girdiğini tespit ettik. Bu bulgu da bize tam halkanın söz konusu kasta bir iyileşmeye neden olduğunu göstermektedir.

"Danielsson vd., 2018" çalışmalarında vimentinin bağ dokuda ara filamentlerde ve kas dokusunun epimizyum ve perimizyumda bulunduğunu açığa çıkarmıştır. Bunun yanı sıra yapılan çalışmada vimentin eksikliğinin yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği dokuda vimentin protein ekspresyonunun azalması durumunda dokunun kütle kaybına uğradığını ve daha uzun sürede toparlandığını belirtmişlerdir (Danielsson vd., 2018). Bizim çalışmamızda aynı şekilde doku hasarı olan kasta vimentin proteinin sağlam kasa oranla daha çok ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bu bulgunun da vimentinin doku onarımında yer aldığını düşündürmektedir.

"Gabbiani vd., 1981" çalışmalarında çeşitli memelilerden (insan, inek, domuz, tavuk, sıçan) farklı kan damarlarının (aort, küçük arterler, arterioller, venüller ve vena kava) düz kas dokusunu, hücre proteinlerinin tek ve iki boyutlu jel elektroforezi ve farklı orta büyüklükteki filament proteinlerine karşı antikorlar kullanılarak immüno floresan mikroskopisi ile incelenmiştir. Çalışma sonunda vasküler düz kas hücrelerinin orta büyüklükteki filamentlerinin bol miktarda vimentin içerdiği görülmüştür. Vasküler düz kas hücrelerinin ara filament ve aktin kompozisyonunun diğer düz kas hücrelerinden ayrı bir farklılaşma yolunu yansıttığı ve kan damarlarının özel işlevleri ve patolojik bozukluklarıyla vimentinin ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Gabbiani vd., 1981). Sunmuş olduğumuz tez çalışmada ise vimentinin sağlıklı kasta kan damarları etrafında, sarkolemmada ve bağ dokuda bulunsa da yoğunluğunun az olduğu tespit edildi. Bununla birlikte "Gabbiani vd., 'nın belirttiği gibi bizim çalışmamızda da vimentinin kırık oluşturulan kemiğe ait kaslarda ve kan damarlarının etrafında daha yoğun olduğu dolayısı ile patolojik durumlarda miktarının artabileceği tespit edilmiştir. Çalışmamızda vimentin miktarının özellikle sirküler eksternal fiksator uygulanan kaslarda arttığı tespit edilmiştir.

"Rogel vd., 2011" çalışmalarında, vimentin'in akciğer alveolar epitel

hücrelerinde yara onarımı ve yeniden yapılanma süreçlerinde nasıl bir rol oynadığını gösterilmiştir. Çalışmada TGF-beta1'in, vimentin ekspresyonunu artırarak hücre hareketliliğini ve böylece yara iyileşme hızını arttırdığı belirlenmiştir (Rogel vd., 2011). Bizim çalışmamızda da vimentin proteininin hasarlı dokuda daha fazla tespit edilmesi yara iyileşmesinde önemli rol oynadığını ve dokudaki onarım sürecini hızlandırdığını, bunun sonucunda da vimentinin yara dokusunu iyileştirmede önemli bir protein olduğunu düşünmemizi sağlamıştır.

"Cheng vd., 2016" çalışmalarında vimentin'in fibroblast çoğalması ve keratinosit farklılaşmasında aldığı görev aldığı araştırılmıştır. Çalışma sonunda vimentin eksikliğinin, fibroblast büyümesinde ciddi bir azalmaya yol açarak, epitel-mezenkimal geçişin (EMT) iki ana başlatıcısı olan TGF-beta1 sinyali ve slug proteinini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu durumun, keratinosit aktivasyonunun azalmasına ve yara iyileşmemesinin yavaşlamasına neden olduğu belirtilmiştir. Vimentinin, fibroblast proliferasyonu, TGF-beta1-slug sinyal yolu, kolajen birikimi ve EMT süreçlerini kontrol ederek iyileşmeyi düzenlediği öne sürülmüştür (Cheng vd., 2016). Bizim çalışmamızda vimentinin hasarlı bölgedeki bağ dokuda ve epitelyal dokuda daha yoğun olarak bulunduğunu gözlemledik. Bu da tıpkı Cheng vd. çalışmalarında olduğu gibi fibroblast büyümesinde bağ dokudaki vimentin proteininin etkisi olduğunu düşünmemize neden olmuştur.

"Walker vd., 2018" çalışmalarında vimentinin yara onarımında mezenkimal öncül hücrelerin miyofibroblastlara dönüşümünü nasıl yönlendirdiğini incelemişlerdir. Çalışma sonunda yaralanma sonrası, vimentinin hücre dışına salınarak bu hücrelerin yüzeyine bağlandığı ve böylece yara kapanmasını desteklediği ortaya konulmuştur. Walker vd. ayrıca vimentinin, mezenkimal öncül hücrelerin miyofibroblast fenotipine geçişini sağlayarak fibrozis gelişimine katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir (Walker vd., 2018). Biz de çalışmamızda vimentinin sağlam dokuya oranla hasar almış dokuda daha fazla bulunduğunu tespit ettik. Bu nedenle Walker vd. gibi biz de vimentinin yara onarımını katkı sağladığı kanısına vardık.

"Coelho-Rato vd., 2023" ara filamentler (Intermedier Flament) (IF) ailesinin bir üyesi olarak vimentinin, yara iyileşmesinin birçok temel sürecinde yer alan son derece dinamik ve çok yönlü bir sitoskeletal protein olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada vimentinin, epitel hücrelerine daha dinamik ve hareketli özellikler kazandığı böylece yara iyileşmesi ve metastaz sırasında epitel-mezenkimal geçişte (EMT) yer aldığı bildirilmektedir. Vimentinin, hücre büyümesini, çoğalmasını,

göçünü, hücrenin hayatta kalmasını ve stres dayanıklılığını destekleyen birden fazla hücresel aktiviteye kattığı bildirilmiştir (Coelho-Rato vd., 2023). Biz de çalışmamızda vimentinin kas hücresinin büyümesinde ve yenilenmesinde büyük önem taşıdığını temel bir protein olduğunu ve yara iyileşmesi açısından birçok önemli görevlerinin bulunduğu kanısına vardık.

"Vater vd., 1994" tarafından yapılan çalışmada, vimentin proteininin iskelet kası rejenerasyonu sırasında uydu hücrelerinde bulunduğu gözlemlenmiştir. Vimentin, kas hasarından 12 saat sonra aktifleşen uydu hücrelerinde tespit edilmiştir. İyileşmenin erken aşamalarında vimentin seviyesi artmış, ancak kas lifleri olgunlaştıkça azalmıştır. Bu bulgular, vimentinin kas rejenerasyonunun erken evrelerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Vater vd., 1994). Vater vd. farklı olarak biz çalışmamızda vimentin proteinin iyileşmenin sekizinci haftasında sirküler eksternal fiksator uygulanan bacağa ait kasta ortaya çıkan vimentin proteinin varlığını yoğun olarak tespit ettik. Bununla birlikte kas kütle artışının da en fazla bu grupta olduğu ortaya konulmuştur. Bu bulgu da bize kas kütlesi artışı ve iyileşme sürecinin birlikte olduğunu tüm bu aşamalarda da vimentinin etkin rol oynadığını düşündürmektedir.

"Soglia vd., 2022" araştırmalarında broiller tavukların pectoralis majör kaslarında vimentin ve desmin proteinlerinin rejenerasyon sürecindeki rollerini incelemişlerdir. Vimentin ve desminin birlikte ifade edilmesi, kas rejenerasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Bu proteinlerin seviyeleri, kas liflerinin yeniden yapılanması sırasında değişiklik göstermiştir (Soglia vd., 2022). Çalışmamızda vimentin proteininin kas rejenerasyonunda aktif görev aldığını ve sağlam olan kasta az miktarda bulunmasına rağmen hasara uğramış kasta daha fazla yoğunlaştığını gözlemledik.

"Janmey vd., 2014" vimentinin hücre sertliği (stiffness) ile ilişkisini incelemiş çalışma sonunda vimentin miktarının kas hücrelerinin mekanik özelliklerini etkilediği gösterilmiştir. Çalışmada kas dokusunda, vimentin filamentlerinin mekanik strese karşı direnç sağladığı ve uydu hücrelerin migrasyonunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Vimentinin kas liflerinin kontraktıl kuvvet üretiminde değişikliklere sebep olduğu da gözlemlenmiştir (Janmey vd., 2014). Çalışmamızda da hasarlı kas dokusunda vimentin proteinin daha fazla olduğunu belirlememiz Janmey vd.'nın belirttiği gibi vimentin proteininin hasarlı olan kas dokusunun toparlanma ve iyileşme sürecinin hızlandığını gösterebilir.

"Vakhrusheva vd., 2019" tarafından yapılan çalışmada fare fibroblastlarında vimentinin hücre göçünü düzenlediği gösterilmiştir. Çalışma sonunda vimentinin kas onarımı sırasında fibroblastların hasar bölgesine doğru hareketini desteklediği ortaya konulmuştur (Vakhrusheva vd., 2019). Bizde çalışmamızda vimentin aktivasyonun hasarlı dokuda arttığını hücre yenilenmesini sağladığını bu da iyileşme sürecini hızlandırdığını ve vimentin proteinin doku onarımı için gerekli bir protein olduğu kanısına vardık.

"Snider vd., 2014" ün yaptığı çalışmada vimentinin fosforilasyon, glikosilasyon ve sumoilasyon gibi post translasyon modifikasyonlarda yer aldığı ve böylece, kas hücrelerinde filament dinamiklerini düzenlediği rapor edilmiştir. Özellikle fosforilasyonda, kas hasarı sonrası vimentin filamentlerinin hızlı bir şekilde yeniden düzen sağladığı gözlemlenmiştir (Snider vd., 2014). Bizde çalışmamızda vimentin proteinin arafilementlerden biri olduğu daha çok bağ dokuda ve kasın beslenmesini sağlayan damarların çeperlerinde bulunduğunu bu sebeple vimentin proteinin kas hasarında arttığını ve hızlı bir remodeling süreci sağladığını gözlemledik.

"Nekrasova 2011" tarafından yapılan çalışmada vimentinin mitokondri, endoplazmik retikulum ve lipid damlacıkları gibi organellerin pozisyonunu sabitlemede rol aldığı gösterilmiştir. Kas dokusunda, bu özellik mitokondrial fonksiyonların korunması ve enerji üretiminin desteklenmesi için önemlidir. Çalışma sonunda Vim +/- farelerde mitokondrial membran potansiyelinde azalma gözlemlenmiştir (Nekrasova 2011). Bizim çalışmamızda vimentin proteinin birçok önemli rolü olduğunu gözlemledik.

"Kidd 2014" tarafından yapılan çalışmada kas hastalıkları üzerinde vimentin etkisi araştırılmış ve vimentinin kas distrofisi gibi hastalıklarda fibrotik yanıtları düzenlediği gösterilmiştir. Duchenne musküler distrofisi modellerinde, vimentin ekspresyonu artarak fibroblast aktivitesini ve kollajen birikimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Bu durumun kas fonksiyonunu olumsuz etkileyebileceği sonucuna varılmıştır (Kidd 2014). Sunmuş olduğumuz çalışmada ise biz vimentin proteininin özellikle hasarlı kas dokusunda fazla miktarda bulunduğunu, dolayısı ile iyileşme sürecine giren sirküler ve semisirküler ekternal fiksator uygulamaları gibi tedavilere yanıt vererek miktarında değişiklikler olabileceğini gözlemledik. Yapmış olduğumuz çalışmada vimentinin yara iyileşmesi sırasında kaslarda miktarının artmasıyla kas iyileşmesine katkı sağladığı sonucuna vardır.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak yapılan çalışmada elde edilen bulgulara bakıldığında ve diğer literatür bilgileri incelendiğinde vimentinin yara iyileşmesinde kaslara önemli oranda destek sağladığı sonucuna vardık. Yapmış olduğumuz çalışmada sirküler ekstrenal fiksator uygulanan kaslarda vimentin protein ekspresyonu sağlam kaslarla benzer miktarda görülürken, semisirküler eksternal fiksator uygulanan kaslarda bu oranın düştüğü tespit edilmiştir. Yine kas yoğunluğuna bakıldığında sağlam ve sirküler fiksator uygulanan ekstremitelerde benzer büyüklükte ve miktarda kas yoğunluğu saptanmışken bu oran semisirküler fiksator uygulanan grupta düşmüştür. Sirküler fiksator uygulanan kaslarda semisirküler fiksator uygulanan kaslara oranla kas çapında dolayısıyla kas kütlelerinde artışa neden olduğu gözlemlendi.

Sirküler fiksator uygulanan kaslarda vimentin proteinin ekspresyonu semisirküler fiksator uygulanan kaslara oranla çok daha fazla ortaya çıkmıştır. Vimentin yara onarımı aşamasında ortaya çıkan bir proteindir. Dolayısıyla kontrol grubunda hiç görülmeyen semisirküler fiksator uygulanan grupta çok az miktarda görülen vimentin proteini ekspresyonu sirküler fiksator uygulanan kaslarda çok yoğun miktarda görülmüştür. Bu yoğunluk sirküler olan kaslarda iyileşmenin çok daha fazla olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak yapmış olduğumuz deneysel çalışmanın sonucunda kemik kırıklarından sonra uygulan sirküler fiksator hem kas çapında dolayısıyla kas kütlelerinde hem de vimentin proteininin ekspresyonunda pozitif etkisi olduğunu göstermektedir. Bu da bize kemik kırıklarında uygulanacak olan sirküler eksternal fiksatorün daha fazla iyileşmeye neden olabileceğini göstermektedir.

7. ÖNERİLER

Kemik kırıklarında uygulanan bir yöntem olan eksternal fiksator kullanımında sirküler fiksator uygulanan kaslarda vimentin proteinin ekspresyonu semisirküler fiksator uygulanan kaslara oranla çok daha fazla ortaya çıkmıştır. Vimentin yara onarımı aşamasında ortaya çıkan bir proteindir bu nedenle kemik kırıklarında uygulanan yöntemler göz önüne alındığında sirküler fiksator kullanımının yara onarımını daha hızlı bir şekilde arttırdığı görüldü.

Bu çalışmanın ışığında günümüz tıbbının ve histolojinin kemik kırıklarında yara onarımının proteinsel olarak ele alınması konusunda bir fikir ortaya atılmış ve ileri çalışmalarda vimentin proteinin yara iyileşmesi üzerinde etkileri hususunda bir önadım atılmıştır.

KAYNAKLAR

- Ali, S. Y. (1993). Matrix formation and mineralization in bone. In C. C. Whitehead (Ed.), *Bone biology and skeletal disorders in poultry: Poultry Science Symposium No. 23* (pp. 19–38). Carfax Publishing.
- Arıcan, M. (2020). *Kedi ve köpek ortopedi ve travmatoloji*. Anka Promosyon Matbaa.
- Arias, J. I., Beato, C., & Espinoza, A. (2015). Epoxy putty external skeletal fixation in a tibiotarsal fracture of a wild choroy parakeet (*Enicognathus leptorhynchus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67(3), 671–678.
- Aslanbey, D., & Candaş, A. (1994). *Veteriner operasyon* (pp. 689–698). Medisan Yayınevi.
- Bain, S. D., & Watkins, B. A. (1993). Local modulation of skeletal growth and bone modeling in poultry. *Journal of Nutrition*, 123, 317–322.
- Battaglia, R. A., Delic, S., Herrmann, H., & Snider, N. T. (2014). Vimentin in action: New developments in cell migration. *F1000Research*. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15967.1>
- Charge, S. B., & Rudnicki, M. A. (2004). Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiological Reviews*, 209–238.
- Cheng, F., Shen, Y., Mohanasundaram, P., Lindstrom, M., Ivaska, J., Ny, T., & Eriksson, J. E. (2016). Vimentin coordinates fibroblast proliferation and keratinocyte differentiation in wound healing via TGF- β -Slug signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, E4320–E4327. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519197113>
- Chernoivanenko, I. S. (2020). Role of vimentin in cell migration and adhesion. *Cells*, 9(2), 346. <https://doi.org/10.3390/cells9020346>
- Crossmon, G. (1937). A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of principles involved. *The Anatomical Record*, 69(1), 33–38. <https://doi.org/10.1002/ar.1090690104>
- Çalışlar, T. (1986). *Evcil hayvanların anatomisi (II. At, tavuk disseksiyonu)* (pp. 271–280). Gür-Ay Matbaası.
- Danielsson, F., Peterson, M. C. K., Araújo, H. C., Lautenschläger, F., & Gad, A. K. B. (2018). Vimentin diversity in health and disease. *Cells*, 7(10), 147. <https://doi.org/10.3390/cells7100147>
- Duff, S. R. I. (1984). Capital femoral epiphyseal infarction in skeletally immature broilers. *Research in Veterinary Science*, 37, 303–309.
- Dursun, N. (Ed.). (2002). *Evcil kuşların anatomisi* (pp. 5–6). Medisan Yayınevi.
- Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. G. (2010). *Textbook of veterinary anatomy*. Saunders Elsevier.
- Gabbiani, G., & Acad, P. N. (1981). Vascular smooth muscle cells differ from other

- smooth muscle cells: Predominance of vimentin filaments and a specific alpha-type actin. *Circulation Research*, 48(2), 309–321.
- Gilbert, S. F. (1997). Early vertebrate development: Mesoderm and endoderm. In *Developmental biology* (5th ed.). Sinauer Associates.
- Hodges, R. D. (1974). The histology of the fowl (pp. 273–293). Academic Press.
- Hogg, D. A. (1984). The development of pneumatization in the postcranial skeleton of the domestic fowl. *Journal of Anatomy*, 139, 105–113.
- Jacob, J., & Pescatore, T. (2013). Avian skeletal system (ACS-202). University of Kentucky.
- Janmey, P. A., Restle, D., & Mendez, M. G. (2014). Vimentin enhances cell elastic behavior and protects against compressive stress. *Journal of Cell Science*, 127(14), 314–323.
- Karen, M. R., John, E. E., Milos, P., & Robert, D. G. (2022). Roles of vimentin in health and disease. *Genes & Development*. <https://doi.org/10.1101/gad.349358.122>
- Ketz, C., & Schawalder, P. (1996). Manuflex: A different way of treating bone fractures of birds. European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians, First Scientific Meeting, May 16–18, Germany (pp. 1–7).
- Kidd, M. E. (2014). EMT and vimentin in cancer invasion and metastasis. *Frontiers in Oncology*, 4, 587–597.
- King, A. S., & McLelland, J. (1984). *Birds: Their structure and function* (pp. 9–77). Bailliere Tindal.
- König, H. E., Korbel, R., & Liebich, H. G. (2016). *Avian anatomy: Textbook and colour atlas*. 5M Publishing.
- Kranen, R. W., Lambooi, E., Veerkamp, C. H., Van Kuppevelt, H., & Veerkamp, J. H. (2000). Haemorrhages in muscles of broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 56(3), 275–287.
- Laumonier, T., Menetrey, J., & Huard, J. (2014). Basic principles of muscle healing (pp. 17–26). In *Muscle injuries in sport athletes*. Springer.
- Loveridge, N., Thomson, B. M., & Farquharson, C. (1993). In C. C. Whitehead (Ed.), *Bone biology and skeletal disorders in poultry: Poultry Science Symposium No. 23* (pp. 3–17). Carfax Publishing.
- Milovancev, M., & Ralphs, C. S. (2004). Radius-ulna fracture repair. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 19(3), 128–133.
- Nekrasova, O. E., et al. (2011). Vimentin intermediate filaments modulate the motility of mitochondria. *Molecular Biology of the Cell*, 22(13), [2282–2289](#).
- Nickel, R., Schummer, A., & Seiferle, E. (1977). *Anatomy of the domestic birds* (pp. 1–25). Verlag Paul Parey.
- Orth, M. W., & Cook, M. E. (1994). Avian tibial dyschondroplasia: A morphological

- and biochemical review of the growth plate lesion and its causes. *Veterinary Pathology*, 31, 403–414.
- Owen, M. (1988). Marrow stromal stem cells. *Journal of Cell Science. Supplement*, 10, 63–76.
- Özer, A., Sağlam, M., & Aştı, R. N. (2001). Genel histoloji (6. baskı, pp. 9–207).
- Parvanian, S., Coelho-Rato, L. S., Eriksson, J. E., & Patteson, A. E. (2023). The molecular biophysics of extracellular vimentin and its role in pathogen–host interactions. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 120.
- Pawlina, W. (2020). *Histology: A text and atlas: With correlated and molecular biology*. Wolters Kluwer.
- Pead, M. J., Suswillo, R., Skerry, T. M., Vedi, S., & Lanyon, L. E. (1998). Increased 3H-uridine levels in osteocytes following a single short period of dynamic bone loading in vivo. *Calcified Tissue International*, 43(2), 92–96.
- Ramaekers, F. C., Dunia, I., Dodemont, H. J., Benedetti, E. L., & Bloemendal, H. (1982). Lenticular intermediate-sized filaments: Biosynthesis and interaction with plasma membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(10), [3208–3212](#).
- Ramaekers, F. C., Poels, L. G., Jap, P. H., & Bloemendal, H. (1982). Simultaneous demonstration of microfilaments and intermediate-sized filaments in the lens by double immunofluorescence. *Experimental Eye Research*, 35(4), 363–369.
- Rath, N. C., Huff, G. R., Huff, W. E., & Balog, J. M. (2000). Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science*, 79(7), 1024–1032.
- Rogel, M. R., & Faseb, J. (2011). Vimentin is sufficient and required for wound repair and remodeling in alveolar epithelial cells. *FASEB Journal*, 25(11), [3873–3883](#).
- Roush, J. K. (2005). Management of fractures in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 35(5), 1137–1154.
- Sax, C. M., Farrell, F. X., & Zehner, Z. E. (1989). Down-regulation of vimentin gene expression during myogenesis is controlled by a 5'-flanking sequence. *Developmental Biology*, 135(1), 235–242.
- Schaffeld, M., Herrmann, H., Schultess, J., et al. (2001). Vimentin and desmin of a cartilaginous fish, the shark *Scyliorhinus stellaris*: Sequence, expression patterns and in vitro assembly. *European Journal of Cell Biology*, 80(10), 692–702.
- Sinowatz, F. (2010). Musculo-skeletal system. In P. Hyttel, F. Sinowatz, & M. Vejlsted (Eds.), *Essentials of domestic animal embryology* (pp. 286–316). Elsevier Health Sciences.
- Soglia, F., Bordini, M., Mazzoni, M., Zappatera, M., Nunzio, M. D., Clavezani, P., Davoli, R., Meluzzi, A., Sirri, F., & Petracci, M. (2022). The evolution of vimentin and desmin in pectoralis major muscles of broiler chickens supports

- their essential role in muscle regeneration. *Frontiers in Physiology*, 13, 970034. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.970034>
- Speer, B. L. (2015). Advances in anesthesia, analgesia and surgery. In *Current therapy in avian medicine and surgery* (pp. 631–667). Elsevier.
- Swayne, D. E., Boulianne, M., Logue, C. M., McDougald, L. R., Nair, V., & Suarez, D. L. (Eds.). (2020). *Diseases of poultry*. Wiley-Blackwell.
- Tapscott, S. J., Bennett, G. S., Toyama, Y., Kleinbart, F., & Holtzer, H. (1981). Intermediate filament proteins in the developing chick spinal cord. *Developmental Biology*, 86(1), 40–54.
- Thorp, B. H. (2001). Diseases of the musculoskeletal system. In F. Jordan (Ed.), *Poultry diseases* (pp. 437–454). W. B. Saunders.
- Tidball, J. G. (2017). Mechanisms of muscle injury repair and regeneration. *Comprehensive Physiology*, 7(3), 1629–1665.
- Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., ... Pontén, F. (2015). Tissue-based map of the human proteome. *Science*, 347(6220), [1260419](https://doi.org/10.1126/science.1260419). <https://doi.org/10.1126/science.1260419>
- Vaittinen, S., Lukka, R., Sahlgren, C., Hurme, T., Rantanen, J., Lendahl, U., Eriksson, J. E., & Kalimo, H. (2000). The expression of intermediate filament protein nestin as related to vimentin and desmin in regenerating skeletal muscle. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 59(6), 588–598.
- Vakhrusheva, A., et al. (2019). The role of vimentin in directional migration of rat fibroblasts. *Cytoskeleton*, 76(1), 55–65.
- Vaknin, N., Punturieri, A., Sitwala, K., & Markovitz, D. (2002). Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nature Cell Biology*, 3(6), 414–418. <https://doi.org/10.1038/ncb901>
- Vater, R., Cullen, J. M., & Harris, B. J. (1994). The expression of vimentin in satellite cells of regenerating skeletal muscle in vivo. *Histochemical Journal*, 26(11), 916–928.
- Walker, J. L., Bleaken, B. M., Romisher, A. R., Alnwibit, A. A., & Menko, A. S. (2018). In wound repair vimentin mediates the transition of mesenchymal leader cells to a myofibroblast phenotype. *Molecular Biology of the Cell*, 29(17), [2206–2217](https://doi.org/10.1091/mbc17-09-0540).
- Wickert, U., Mücke, N., Wedig, T., Müller, S. A., Aebi, U., & Herrmann, H. (2005). Characterization of the in vitro co-assembly process of the intermediate filament proteins vimentin and desmin: Mixed polymers at all stages of assembly. *European Journal of Cell Biology*, 84(3), 379–391.
- Withanage, G. S. K., Baba, E., Sasai, K., Fukata, T., Kuwamura, M., Miyamoto, T., & Arakawa, A. (1997). Localization and enumeration of T and B lymphocytes in the reproductive tract of laying hens. *Poultry Science*, 76(5), 671–676.

<https://doi.org/10.1093/ps/76.5.671>.

- Yang, W., & Ping, H. (2018). Skeletal muscle regeneration is modulated by inflammation. *Journal of Inflammation Research*, 11, 25–32.
- Yavuz, Ü. (2012). Köpek ve kedilerde ekstremitte uzun kemik kırıklarının dinamik kompresyon plağı ve akrilik eksternal fiksator ile sağaltımlarının klinik ve radyografik yöntemlerle karşılaştırılması [Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi].
- Zehner, Z. E., & Paterson, B. M. (1983). Characterization of the chicken vimentin gene: Single copy gene producing multiple mRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(4), 911–915.
- Zhang, J., & Ma, L. (2012). MicroRNA control of epithelial–mesenchymal transition and metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 31(3–4), 653–662.