

Deneysel Kırık İyileşmesi Üzerine Clonidine'nin Etkisi

Ali BAKTIR^x, Eyüp S. KARAKAŞ^x, Turan ÖKTEN^{xx}, Selim KURTOĞLU^{xxx}, Ahmet CAN^{xxxx}

Özet: Bu çalışmanın amacı, clonidine tedavisinin kırık iyileşmesi üzerine etkisini belirlemektir. Deney için kullanılan her bir sıçanın sağ bacağında standart tibia kırığı oluşturuldu. Toplam 72 sıçan kullanıldı ve bu sıçanlar her bir grupta 18'er hayvan olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Her bir grup sıçanın yarısına belirli dozda intraperitoneal olarak clonidine verilirken diğer yarısı da kontrol olarak kullanıldı. 7,15,28 ve 56 gün sonra sıçanlar öldürülerek; kırık tamir durumu radyolojik, histokantitatif ve çekme testi ölçümleriyle belirlenmeye çalışıldı. Her bir hayvandan ölmeden hemen önce kan alınarak serum büyüme hormonu tayini yapıldı. Radyolojik ve kantitatif histolojik ölçümler sonunda, clonidine tedavisinin, kırık iyileşme hızını ve yeni kemik sentezini artırabileceği kanaatine varıldı. Çekme testi ve büyüme hormonu tayini sonunda da, clonidine tedavisinin ilk bir haftalık dönemden sonra anlamlı bir şekilde değerlerde artışa sebep olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Clonidine, kırık iyileşmesi, histo-kantitatif analiz

Effect of Clonidine on Experimental Fracture Healing

Summary: The purpose of this study was to clarify the effect of clonidine treatment on the healing of fracture. Standardized tibial fractures were produced in right hind legs of the rats. Seventy-two rats were divided into four groups of 18 animals. Half of each group received maintenance doses of clonidine intraperitoneally. The other half of them was used for control. Seven, fifteen, twenty-eight and fifty-six days after operation the animals were sacrificed respectively. The fracture healing was evaluated by radiographic, histo-quantitative and tensile force measurements. Before sacrifice, the serum growth hormone value of the each animal was evaluated. The radiographic examination and histo-quantitative analysis of the new bone formation showed that the clonidine treatment could accelerate the fracture healing. The tensile forces and the serum growth hormone levels of the rats receiving clonidine were also significantly higher than those of the control animals after first week.

Key words: Clonidine, fracture healing, histo-quantitative analysis

x Erciyes Üniv. Tıp Fak. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

xx Erciyes Üniv. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

xxx Erciyes Üniv. Tıp Fak. Pediatri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

xxxx Erciyes Üniv. Tıp Fak. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

Deneyel Kırık İyileşmesinde Clonidine: BAKTİR, Ali ve ark.

Antihipertansif bir ilaç olarak uzun yıllar kullanılan clonidine'nin merkezi sinir sistemi noradrenerjik reseptörleri için spesifik bir agonist olduğu daha sonraları keşfedilmiştir. Bu özelliğinden dolayı, clonidine verilmesinden sonra, serum büyüme hormonu (BH) düzeyinin arttığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (5,6,12). Yine hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, clonidine'nin BH salınımını arttırmasını; hipotalamustaki büyüme hormonu serbestleştirici faktörü uyarak yaptığı belirlenmiştir (7,14).

Kırık tedavisinde asıl amaç, iskelet sisteminin anatomik ve fonksiyonel yapısının en erken sürede restore edilmesidir. Büyüme hormonu periostun osteoblastik hücrelerinin proliferasyonunun, mezenkimal kemik iliği hücrelerinin kondroblastlara ve osteoblastlara dönüşümünü ve böylece endokondral kemikleşmeyi arttırarak kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır (9,11,15,25). Yine ön hipofizi stimule ederek, büyüme hormonu salınımını arttıran L-Dopa'nın kırık iyileşmesini hızlandırdığı ve yeni kemik yapımını arttırdığı gösterilmiştir (10,17,25).

Son yıllarda, büyüme gecikmesi olan kısa boylu çocuklara clonidine verilerek büyümenin stimule edildiği ve bu çocukların serum büyüme hormonu düzeyinin önemli derecede arttığı gözlenmiştir (5,8,13,19,20). Biz de clonidine'nin büyüme hormonu salınımını arttırmasını gözönüne alarak, kırık iyileşmesini hızlandırmada ve yeni sentez edilen kemik dokusunun dayanıklılığını arttırmada etkili olup olmadığını sıçanlarda yaptığımız bu deneysel çalışmayla belirlemeye çalıştık.

Materyal ve Metod

Bu çalışma için ağırlıkları 232 ± 14 gr (ortalama \pm standart sapma) olan ve yaşları altı ay ile dokuz ay arasında değişen beyaz sıçanlar kullanıldı. Toplam yetmiş iki adet sıçanın herbirinin sağ tibiasında, açık eter anestezisi kullanılarak Aro ve ark (1,2) tarafından tarif edilen standart kırık oluşturuldu. Herbir sıçanın sağ tuberosidaz tibiasının hemen lateralinden 1.5 cm'lik lateral insizyon yapıldı. El perforatörü yardımıyla, tibial tüberkülün proksimalinden 0.8 mm çapında kirschner teli kullanılarak delik açıldı. Daha sonra 0.6 mm çapında fleksibil kirschner teli bu delikten tibiya, intramedüller olarak mümkün olduğu kadar distale doğru itildi. Açılan insizyon suture edildikten sonra, daha önce intramedüller olarak tesbit edilmiş herbir sıçanın sağ tibiası mümkün olduğu kadar standart bir şekilde el manüplasyonu ile kırıldı. Tüm kırıklar, herbir sıçanın deney bitiminden öldürülmesini takiben ön-arka ve yan röntgen grafileri ile kontrol edildi.

Toplam 72 sıçanın 36'sı deney, 36'sı da kontrol grubu olarak ayrıldı. Deney grubu sıçanlara hergün tek doz olarak kilogram başına 0.01 mg intraperitoneal olarak clonidine (Catapressan, Boehringer) serum fizyolojik ile sulandırılarak verildi. Kontrol grubu sıçanlara ise aynı miktar serum fizyolojik intraperitoneal yolla plasebo olarak uygulandı. Gerek deney grubu, gerekse kontrol grubu sıçanlar kendi aralarında dört alt gruba ayrıldılar. Böylece herbirinde dokuz sıçan bulunan dört deney, dört de kontrol alt grubu teşekkül ettirildi.

Herbir alt sıçan grubu ameliyattan 7, 15,28 ve 56 gün sonra, son clonidine ve plasebo dozunu takiben 12. saatte öldürüldüler. Ölmeden önce herbir sıçana yüzeysel eter anestezisi uygulanarak, intrakardiyak yoldan 5'er cc kan alındı ve büyüme hormonu çalışması için -20°C 'da muhafaza edildi. Sıçanların çoğu bu kan alınışı esnasında hipovolemik şoktan öldüler. Kan büyüme hormonu düzeyi, ng/ml olarak radioimmunoassay metodu kullanılarak belirlendi. Kırık iyileşmesinin

takip ve kantitatif tayininde ise radyolojik, histolojik ve biyomekanik ölçümler kullanıldı.

Radyolojik İnceleme: Herbir ratın, ölümden sonra sağ alt ekstremitesi yumuşak dokulardan temizlenerek önce iki yönlü röntgen grafileri alındı. Yeterli kalitede olmak üzere herbir alt grup sıçandan altışar adet sağ tibia grafisi ayrılarak iki katı büyütülüp fotoğraf haline getirildi. Daha sonra Molster ve ark (16)'nın metodu kullanılarak kal dokusunun en geniş kırık bölgesindeki kesit alanı "mm² olarak" hesaplandı. Ön-arka ve yan olarak çekilen herbir röntgen fotoğrafı üzerindeki en geniş kallus çapı ayrı ayrı ölçüldü. Böylece ortaya çıkan elips kesitinin alanı bulunarak, herbir hayvanın kırık hattından geçen en geniş transvers kesitteki kallus dokusu yüzey alanı hesaplandı.

Histolojik İnceleme: Herbir alt gruptan beşer adet sıçan histolojik inceleme için, dörder adet sıçanda biyomekanik çekme testi için kullanıldı. Histolojik inceleme için kullanılan herbir sıçanın sağ tibiası tamamen yumuşak dokulardan arındırıldıktan sonra 0.6 N hidroklorik asitle muamele edilerek dekalsifiye edildi. Altı mikron kalınlığında sagittal kesitler alınarak haematoxylin-eosin ile boyandı. Kallus dokusunun ışık mikroskopunda histolojik incelemesi yanında, Rokkanen ve Slatis (21)'in "lane sampling" metodu kullanılarak kallus dokusunun komponentlerinin kantitatif tayini yapıldı. Kantitatif inceleme, preparat kod numaraları hakkında bilgi sahibi olmayan patoloğ tarafından (TÖ) Carl-Zeiss Zena marka mikroskopta "eyepiece screw micrometer" ekipmanı kullanılarak yapıldı. Sagittal kesit preparatları üzerinde, birer mikroskop alanı genişliğinde transvers istikamette ve eşit aralıklı dört ile sekiz adet arasında saha belirlendi. Herbir sahadaki lineer transvers çizgiye tekabül eden kallus komponentleri; yeni kemik dokusu, hiyalin kırık dokusu, kalsifiye kırık dokusu, fibröz doku ve kemik ara boşlukları olmak üzere yüzde oranları şeklinde belirlendi. Bu lineer yüzde ölçüm ortalamaları herbir sıçan için hesaplanarak deney ve kontrol grubu hayvanların histo-kantitatif karşılaştırılmalarında kullanıldı.

Biyomekanik İnceleme: Biyomekanik test için ayrılan sıçan tibialarına, Kayseri Hava İkmal ve Bakım Merkezi'nde bulunan "Monsanto 500" isimli digital kumandalı elektronik aletle çekme testi uygulandı. Herbir tibiada, kırık hattına kopma öncesi uygulanan maksimum kuvvet newton (N) olarak, kaydedici tarafından kağıt şerit üzerine yazdırıldı. Deney ve kontrol grubu sonuçlarının karşılaştırılmasından ve istatistiki hesaplamalarda "Student's t-testi" ve "Mann-Whitney U testi" kullanıldı (23).

Bulgular

Tüm hayvanlarda gerek clonidine uygulamasına bağlı, gerekse ameliyata bağlı bir komplikasyon görülmedi. Hiçbir kırıkta enfeksiyon ve psödoartroz gelişmedi. İntrakardiyak yeterli kan alamadığımız dokuz sıçanda büyüme hormonu çalışılmadı.

Serum Büyüme Hormonu (BH) Ölçüm Sonuçları: Yedi günlük deney ve kontrol grubu hayvanlarda ölçülen ortalama serum büyüme hormon düzeyleri karşılaştırıldığında, arada önemli bir fark olmadığı gözlemlendi (Tablo I). Fakat 15,28 ve 56 günlük deney ve kontrol gruplarının ortalama BH serum düzeyleri karşılaştırıldığında, aradaki farkların önemli olduğu ($P<0.01$); dolayısıyla clonidine tedavisi alan sıçanların serum BH konsantrasyonlarının anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir.

Tablo I. Kan Büyüme Hormonu Tayin Sonuçları (ng/ml)

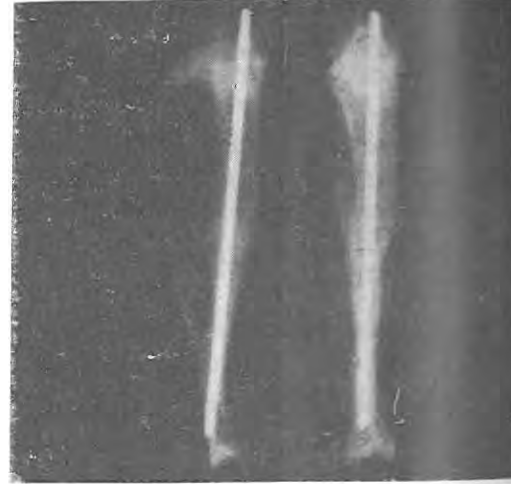
Alt Gruplar	TEDAVİ GRUBU		KONTORL GRUBU		t	P
	n	Ort ± SD	n	Ort ± SD		
7 günlük	8	2.06 ± 0.63	7	1.69 ± 0.51	1.28	> 0.05
15 günlük	8	4.48 ± 0.58	8	2.95 ± 0.39	6.19	< 0.01
28 günlük	8	6.93 ± 3.13	8	3.34 ± 0.42	3.21	< 0.01
56 günlük	8	7.0 ± 1.49	8	4.0 ± 0.63	5.26	< 0.01

n: denek sayısı, Ort: ortalama , SD: standart sapma

Radyolojik Sonuçlar: İki yedi günlük gruplarda, röntgende görülebilen yeterli kallus dokusu oluşmadığından radyolojik ölçüm yapılamadı. Fakat 15,28 ve 56 günlük ratlarda ölçülen kallus dokusu kesit alanları karşılaştırıldığında deney grubu ratlarda, anlamlı derecede fazla kesit alanları tesbit edildi (Tablo II, Resim 1).



(a)



(b)

Resim 1. Clonidine verilen gruptaki 15 günlük (a) ve 56 günlük (b) ratların iki yönlü radyolojik görünüşleri. Elli altı günlük kırıkta kallusun rezorbe olduğu ve remodelin hadisesinin tamamlandığı görülmektedir.

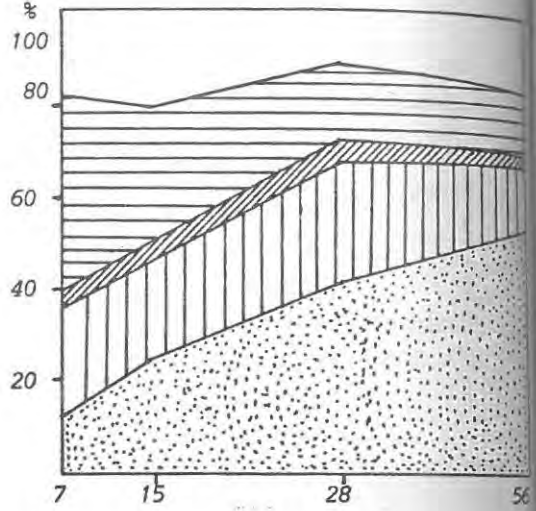
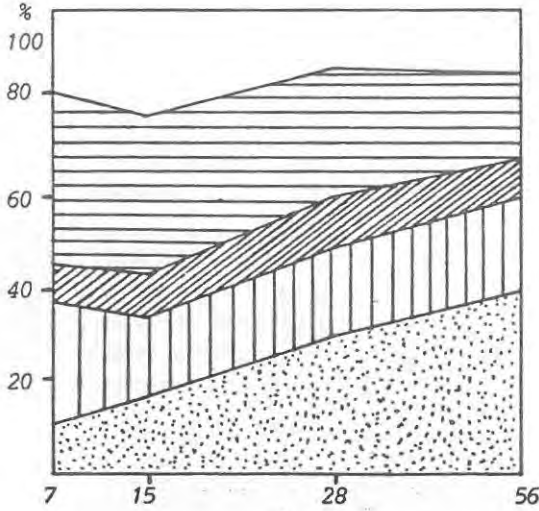
Tablo II. Radyolojik Sonuçlar (kesit alan ortalamaları mm² olarak)

Sayı	15 GÜNLÜK		28 GÜNLÜK		56 GÜNLÜK	
	D	K	D	K	D	K
1	6.48	3.53	8.30	4.91	4.41	3.53
2	7.16	5.40	6.48	5.94	4.18	3.92
3	7.65	4.64	7.34	5.40	4.19	3.10
4	7.49	3.93	7.36	5.15	3.96	3.53
5	7.02	4.17	7.65	5.66	4.17	3.24
6	7.07	4.86	7.05	5.64	3.90	3.15
\bar{X}	7.15	4.21	7.36	5.45	4.14	3.41
U	30		29		30	
P	<0.05		<0.05		<0.05	

\bar{X} : ortalama, D: deney, K: kontrol

Histolojik Sonuçlar: Bir haftalık gruptaki ratların histolojik kesitleri incelendiğinde, kırık uçları arasında hematom bulunduğu ve bunun etrafının da fibröz doku ile çevrildiği görüldü. Tamir dokusu daha çok fibröz kallus şeklinde idi ve yer yer hyalin kıkırdak adacıkları mevcuttu. Yeni kemik dokusu oluşumu oldukça azdı. Bu sebeple clonidine uygulanan ve uygulanmayan grup arasında yeni kemik sentezi bakımından önemli bir fark yoktu.

Onbeş Günlük Bulgular: Fibroblastik proliferasyonun yanısıra bol hyalin kıkırdak teşekkülü ve yer yer osteoblastik yönde değişim mevcuttu. Yeni kemik teşekkülü deney grubu sıçanlarda daha fazla dikkat çekmekte idi. Kantitatif ölçümde ise, kontrol grubunda yeni kemik teşekkülü oranı % 16.09 iken deney grubunda bu oran % 23.95 olarak bulunmuştur (Şekil 1). Aradaki fark istatistikî bakımından önemli idi (U= P<0.05).

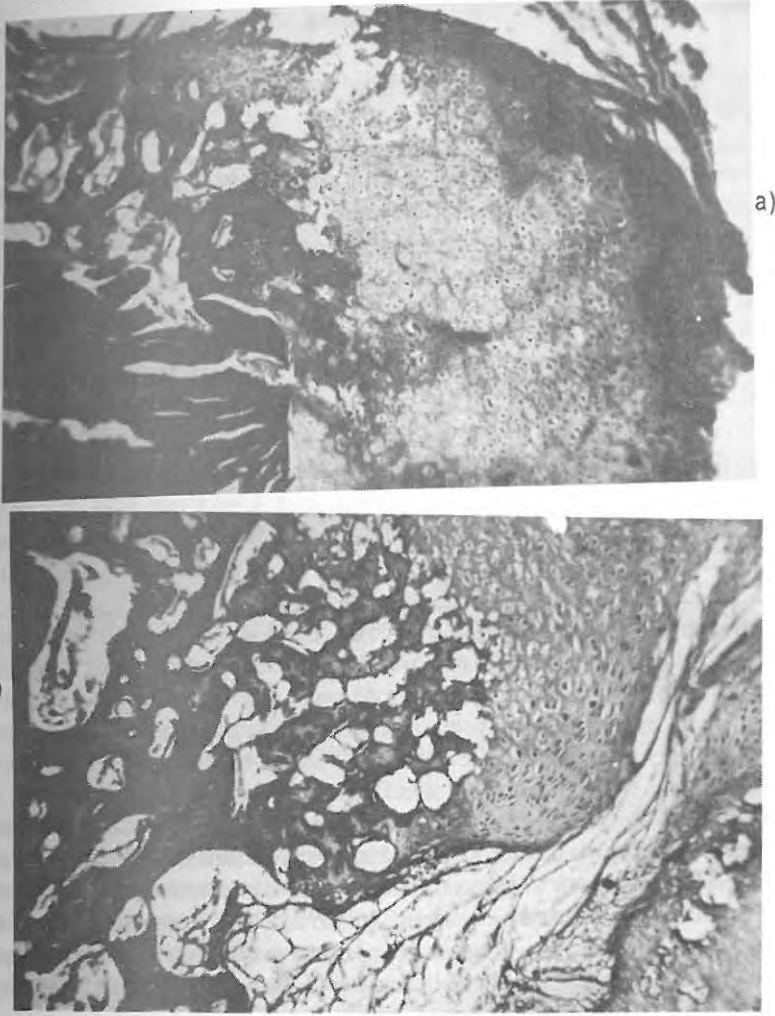


Şekil 1. Kontrol grubu ve clonidine uygulanan gruptaki sıçanların kallus dokularını oluşturan komponentlerin yüzde oranları görülmektedir.

Yirmisekiz Günlük Bulgular: Deney ve kontrol sıçanlar arasındaki fark iyice belirginleşmiştir. Deney grubu hayvanlarda hakim olan histolojik doku, teşekkül eden yeni kemik dokusu % 42.62 iken, kontrol grubunda fibröz doku hakimiyeti halen

devam etmekte idi. Yeni kemik yapım oranı ise % 28.87 olup, clonidine alan gruba göre anlamlı derecede düşüktü (U= 23, P < 0.05, Resim 2a).

Elli altı Günlük Bulgular: Bu devrede histolojik alanlarda en fazla yer kaplayan doku, hem kontrol hem de deney grubu hayvanlarda yeni sentez edilen kemik dokusu idi. Fakat kırıkta ve fibröz doku oranı halen kontrol grubu ratlarda önemli yer işgal etmekte idi. Deney grubu sıçanlardaki yeni kemik dokusu oranı % 55.87 iken, kontrol grubunda % 39.57 idi. Aradaki fark yine anlamlı idi (U= 22, P < 0.05, Resim 2b).



Resim 2. Clonidine tedavisi alan ratlardan 28 günlük (a) ve 56 günlük (b) kırık iyileşme durumunu gösteren histolojik kesitler (HEx 125).

Çekme Testi Sonuçları: Diğer ölçümlerde de olduğu gibi, ilk yedi günde kırık hattında kopma sağlıyan maksimum kuvvetler arasında önemli bir fark yokken; 15, 28 ve 56 günlük deney grubu sıçanlarda kallus dokusunun dayanıklılığınının kontrol grubu sıçanlara göre önemli derecede arttığı gözlenmektedir (Tablo III).

Tablo III. Çekme Testi Sonuçları (Newton=N)

Sayı	7 GÜNLÜK		15 GÜNLÜK		28 GÜNLÜK		56 GÜNLÜK	
	D	K	D	K	D	K	D	K
1	40.87	56.68	41.79	28.00	72.54	44.19	99.60	88.35
2	15.44	14.68	58.16	31.40	64.22	33.59	101.70	86.87
3	27.64	18.30	64.90	24.63	68.40	43.72	105.71	90.21
4	29.32	21.14	37.70	32.81	56.64	57.28	104.40	89.90
\bar{X}	28.31	27.70	50.75	29.21	65.45	44.70	102.86	88.63
U	10		16		15		16	
P	> 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05	

\bar{x} :ortalama, D:deney, K:kontrol

Tartışma

Ön hipofizi stimule ederek büyüme hormonu salınımını artıran L-Dopa'nın kırık iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmişse de (10,17,25), yine hipotalamusa etki ederek büyüme hormonu salgılanmasını artıran clonidine'nin (5-7,12,14) kırık iyileşmesi ve yeni kemik sentezi üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Kafa travması geçiren hastalarda kırık iyileşmesinin hızlandığı ve hiperkallus teşekkülü olduğu bildirilmektedir (18). Waisman ve Schweppy (25), beyin travması sonucu normal hipotalamik fonksiyonun bozulduğunu ve aşırı dopamin sekresyonu oluştuğunu, bunun da somatostatın salınımını inhibe ederek büyüme hormonu salgılanmasını artırdığını, dolayısıyla bu yolla kırık iyileşmesini hızlandırdığını öne sürmektedirler.

Kaynama gecikmesi olan veya psödoartroz gelişen uzun kemik kırıklarında büyüme hormonu verilerek yeterli kaynama temin edilmiştir (11). Fakat büyüme hormonu; temini güç, pahalı, oral yoldan kullanılamayan bir materyaldir. Bu sebeple, BH salınımını endojen stimülasyonla artıran ve oral yoldan verilebilen clonidine gibi bir ilaç, kırık kaynamasında karşılaşılan problemlerin çözümünde yeni başarıların sağlanmasında yardımcı olabilir.

Vliet ve ark (24) büyüme hormonu vererek hipofizer cüceliği olan çocukların boylarında belirgin bir uzama sağlamışlardır. Yine birçok araştırmacı oral clonidine vererek konstitüsyonel boy kısalığı olan çocukların önemli ölçüde uzunluk

kazanmalarını temin etmişlerdir. Bu çocukların hepsinin de kan BH düzeylerinde anlamlı derecede yükselme olduğu da tesbit edilmiştir (5,8,13,19,20).

Daha önceki klasik görüş; normal kırık tamirinin hızlandırılmıyacağı, ancak normal iyileşmenin gözlenmediği durumlarda (kaynama gecikmesi veya psödoartroz) kırık iyileşmesini hızlandırıcı tedavilerin uygulanabileceği şeklinde idi. Basset ve ark (4) darbeli elektromagnetik alan kullanarak taze kırıkların iyileşme süresinin kısaltılabileceğini ve osteoblastik aktivitenin artırılabilceğini deneysel çalışmalarında göstermişlerdir. Kallus dokusu "düzensiz ve iyi organize olmamış bir epifiz plağı" olarak kabul edilebilir (3).

Genellikle kırık iyileşmesinin radyolojik takibinde, eksternal kallus dokusu ancak 15. günde görünür hale gelmektedir (2). Oluşturduğumuz kırık modelinde intramedüller sıkı tesbit teli kullandığımız için, eksternal kallus dokusunun fazla olmayacağı bilinen bir husustur (16). Bundan dolayı alan olarak teşekkül eden eksternal kal dokusu miktarları fazla değilse de, clonidine tedavisi alan 15, 28 ve 56 günlük hayvanlarda kallus dokusunun kesit alanları kontrol hayvanlara göre önemli derecede fazla idi. Elialtı günlük gerek deney gerekse kontrol grubu sıçanlardaki kallus dokusunun miktarlarına görülen azalma beklenen bir sonuç olup, ilk bir aydan sonraki remodelizasyon hadisesisine ve fazla kal dokusunun rezorbsiyonuna bağlıdır.

Rokkanen ve Slati (21) tarafından kullanılan kantitatif histolojik çalışma, kırık iyileşmesinin takibinde önemli bir objektif metoddur. Değişik sürelerdeki kallus dokusunun kompozisyonu bu metodla kolayca belirlenmekte, ele alınan bir değişkenin durumu rahatça incelenebilmektedir (22). Daha önceki kırık iyileşmesinin takip edildiği çalışmalarda da, ilk dört haftalık devrede kesit sahasına daha çok fibröz doku ve hiyalin kırıkta hakimken, daha sonraki devrede yeni teşekkül eden kemik dokusu hakimiyeti yavaş yavaş artmaktadır (21,22). Bizim çalışmamızda da kırık tamiri bu seyri takip etmişse de , clonidine alan sıçanlarda 15. günden itibaren yeni kemik teşekkülü oranındaki artış önemli derecede fazlaydı. Karakaş (10)'ın yaptığı bir çalışmada L-Dopa verilen sıçanlarda 3. haftadan sonra yeni kemik teşekkülünün hızlandığı görülmüş ve buna sebep olarak da BH salınımının artmış olabileceği öne sürülmüştür. Waisman ve Schweppey (25) de köpeklerde yaptığı çalışmada 20 mm'lik osteotomi mesafesinin L-Dopa verilen hayvanlarda 6 haftada tamamen kallus dokusuyla dolduğunu, kontrol hayvanlarda ise bunun daha da geciktiğini bildirmişlerdir. Özçakı ve Memikoğlu (17) ise, L-Dopa'nın kırık iyileşmesini daha çok ilk üç haftada etkilediğini söylüyorlarsa da, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz parametreler bu etkinin daha uzun sürdüğünü göstermektedir.

Aro ve ark (2) çekme testinin ilk 15 günlük kırık iyileşme devresinde daha anlamlı sonuç verdiğini söylüyorlarsa da, biz gayet hassas ölçüm yapabilen "Monsanto 500" cihazıyla sekizinci haftaya kadar tüm kırık iyileşme devrelerinde, histo-kantitatif çalışmamızla tam bir paralelizim gösteren anlamlı sonuçlar aldık. Bu nedenle biz, bilhassa sıçan çalışmalarında sekizinci haftaya kadar çekme testinin, kırık iyileşme mekanizmasının takibinde önemli ve güvenilir olduğu kanaatindeyiz.

Deneysel kırık iyileşmesinde Clonidin: BAKTİR, Ali ve ark.

Sonuç olarak; kırık iyileşmesinde clonidine kullanılması gerek hastanede kalma süresinin asgariye indirilmesinde, gerekse kırıklardaki kaynama güçlüğü problemlerinin çözümünde etkili bir tedavi metodu olabilir. Bu konuda daha kesin bir yargıya varabilmek için, daha etraflı klinik ve deneysel çalışmaların gerekli olduğu kanatındeyiz.

Kaynaklar

1. Aro H: *Effect of nerve injury on fracture healing callus formation studied in the rat. Acta Orthop Scand* 56: 233-237, 1985.
2. Aro H, Eerola E, Aho AJ, Penttinen R: *Healing of experimental fractures in the denervated limbs of the rat. Clin Orthop* 155:211-217, 1981.
3. Basset CAL: *Pulsing electromagnetic fields: A new method to modify cell behavior in calcified and noncalcified tissues. Calcif Tissue Int* 34: 1-8, 1982.
4. Basset CAL, Pawluk RJ, Pilla AA: *Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. Science* 184: 575-577, 1974.
5. Castro-Magana M, Angula M, Fuentes B, et al: *Effect of prolonged clonidine administration on growth hormone concentrations and rate of linear growth in children with constitutional growth delay. J Pediatr* 109: 784-787, 1986.
6. Chambers JB, Brown GM: *Neurotransmitter regulation of growth hormone and ACTH in Rhesus monkey. Effects of biogenic amines. Endocrinology* 98: 420, 1976.
7. Eden S, Eriksson E, Martin SB, et al: *Evidence for a growth hormone releasing factor mediating alpha-adrenergic influence on growth hormone secretion in the rat. 33: 24-27, 1981.*
8. Gil-Ad, Topper E, Laron Z: *Oral clonidine as a growth hormone stimulation test. The Lancet* 2: 278-279, 1979.
9. Harris WH, Heaney RP: *Effect of growth hormone on skeletal mass in adult dogs. Nature* 223: 403-404, 1969.
10. Karakaş ES: *Yeni kemik yapımı üzerine L-Dopa ve kalsitoninin etkisi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 7: 367-381, 1985.
11. Koskinen EVS, Nieminen RA, Lindholm RV, et al: *Human growth hormone in bone regeneration of non-healing fractures. Int Orthop (SICOT)* 1: 317-322, 1978.
12. Lal S, Tollis G, Martin JB, et al: *Effect of clonidine in growth hormone, follicle stimulating hormone, prolactin, luteinizing hormone and thyroid stimulating hormone in serum of normal man. J Clin Endocrinol Metab* 41: 827-832, 1975.

Deneysel Kırık İyileşmesinde Clonidin: BAKTİR, Ali ve ark.

13. Lanes R, Hurtado E: Oral clonidine-an effective growth hormone releasing agent in prepubertal subjects. *J Pediatr* 100: 710-714, 1982.
14. Miki N, Onu M, Shizume K: Evidence that opiategic and α -adrenergic mechanisms stimulate rat growth hormone release via growth hormone relasing factor. *Endocrinology* 114: 1950-1952, 1984.
15. Misol S, Samaan N, Ponsel IV: Growth hormone in delayed fracture union. *Clin Orthop* 71: 206-208, 1971.
16. Molster A, Gjerdet NR, Raugstod TS: Effect of instability on experimental fracture healing. *Acta Orthop Scand* 53: 521-526, 1982.
17. Özçakı HY, Memikoğlu Ş: Benzerazid ile L-Dopa kombinasyonu ve haloperidolun kırık üzerine etkileri. VIII. Millî Türk ortopedi ve Travmatoloji Kongresi Kitabı. Emel Matbaacılık, Ankara 1984, ss 211-214.
18. Perkins R, Skirving AP: Callus formation and the rate of healing of femoral fractures in patients with head injuries. *J Bone Joint Surg* 69-B:521-524, 1987.
19. Píntor C, Cella SG, Corda R, et al: Clonidine accelerates growth in children with impaired growth hormone secretion. *Lancet* 1: 1482-1484, 1985.
20. Píntor C, Cella SG, Loche S, et al: Clonidine treatment for short stature. *Lancet* 1: 1226-1230, 1987.
21. Rokkanen P, Slatıs P: The repair of experimental fractures during long-term anticoagulant treatment. *Acta Orthop Scand* 35: 21-38, 1964.
22. Slatıs P, Rokkanen P: The normal repair of experimental fractures. *Acta Orthop Scand* 36:221-229, 1965.
23. Sümbülođlu K: Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. Çağ Matbaası, Ankara 1978.
24. Vliet GV, Styne DM, Kaplan SL, Grumbach MM: Growth hormone treatment for short stature. *N Eng J Med* 309: 1016-1022, 1983.
25. Waisman M, Schweppy I: Experimental study on healing of bone froactures using L-Dopa. *Clin Orthop* 142:244-248, 1979.