



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA KIRIK İYİLEŞMESİNDE
SİLİMARİN'İN ETKİSİ**

SEHER KARA ÖNGEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2017

T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

RATLARDA KIRIK İYİLEŞMESİNDE SİLİMARİN'İN ETKİSİ

SEHER KARA ÖNGEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Muhammed SEYİTHANOĞLU

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ali Erdinç YALIN

KAHRAMANMARAŞ - 2017

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Seher KARA ÖNGEL tarafından hazırlanan “Ratlarda Kırık İyileşmesinde Silimarin’in Etkisi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 07/03/2017 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ
Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, KSÜ

Doç. Dr. Ali Erdiñ YALIN
Eczacılık Biyokimya, Eczacılık Fakültesi, MÜ

Yrd. Doç. Dr. Muhammed SEYİTHANOĞLU
Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, KSÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Seher KARA ÖNGEL



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2015/7-9 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimim süresi boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini aldığım ve fikirlerinden faydalandığım saygı değer hocam Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a,

Tezimin histopatolojik sonuçlarının değerlendirilmesinde önemli katkıları olan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam Prof. Dr. Sevgi BAKARIŞ ve Radyolojik bulguların değerlendirilmesinde büyük katkıları olan Radyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam Prof. Dr. Mürüvet YÜKSEL'e, eğitimim sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Metin KILINÇ'a, diğer Tıbbi Biyokimya Öğretim Üyeleri Hocalarım Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN, Yrd. Doç. Dr. Muhammed SEYİTHANOĞLU ve Dr. Hasan DAĞLI'ya,

Beni bu günlere getiren ve hayatımın her alanında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme, özellikle maneviyatıyla eğitim hayatıma ilham veren biricik kardeşim Ali KARA'ya ,

Eğitim süresince her zaman yanımda olan sevgisini ve akademik desteğini esirgemeyen biricik eşim Hacı Mehmet ÖNGEL'e teşekkürü bir borç bilirim.

AĞUSTOS-2016

Seher KARA ÖNGEL

RATLARDA KIRIK İYİLEŞMESİNDE SİLİMARİN'İN ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Seher KARA ÖNGEL

ÖZET

Kemiğin anatomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulmasına kırık denir. Günümüzde artan trafik ve iş kazalarının yanı sıra, yaşlı nüfusun artması nedeniyle kırıkların sık görülmesi, kırık iyileşmesini önemli bir sağlık problemi haline getirmiştir. Bu konudaki çalışmalar kırık iyileşmesini hızlandırmak üzerine yoğunlaşmaktadır. Hastaların konservatif ve cerrahi tedavi sonrasında, normal fonksiyonlarını daha hızlı şekilde kazanmaları amacıyla, günümüzde kemik iyileşmesini hızlandırmak ve komplikasyonları önlemek için birçok uygulama mevcuttur. Bunların arasında; lokal ve sistemik ilaç uygulamaları (kalsiyum, fosfat, kemik morfojenik proteinler, vitamin D, büyüme faktörleri, hormonlar), elektromanyetik alan ile uyarı, hiperbarik oksijen tedavisi ve fiziksel stimülasyon sayılabilir.

Silimarin özellikle son yıllarda üzerinde pek çok çalışma yapılan ‘Silybum marinum’ dan elde edilen antifibrotik, antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif bir maddedir. Safra kesesi rahatsızlıkları, hepatitler, kolestaz, kimyasal toksinler ve mantar zehirlenmeleri tedavisinde, radyoprotektif olarak, cilt ve prostat kanserlerinde adjuvan tedavi amacıyla, kardiyopulmoner rahatsızlıklarda ve nefropatiyi önlemek amacıyla kullanımı bildirilmiş olan bitkisel bir ilaçtır. Literatür taramalarında kırık iyileşmesinde Silimarinin etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda Silimarin'in kırık iyileşmesi kırık iyileşmesi üzerine olan biyokimyasal, histopatolojik ve radyolojik etkileri 48 rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar randomize olarak üç eşit gruba ayrıldı. Deneklerin sağ tibiaları lokal anestezi altında kırıldı. Deney gruplarındaki (sham ve Silimarin) hayvanlara deneyden 1 gün önce başlanarak 21 gün süreyle serum fizyolojik 50 mg NaCl/kg/gün ve 50 mg /kg/gün Silimarin gastrik lavaj yoluyla verilirken kontrol grubundakilere hiç bir şey uygulanmadı. Her bir gruptan sekizer hayvan kırık olduğu gün (sıfırıncı gün) ve diğer 24 rat kırıktan 21 gün sonra (yirmibirinci gün) intraperitoneal ketamin (50 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edildi ve radyolojik incelemenin ardından otopsi yapılarak kırık bölgesinden biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için kemik doku örnekleri alındı. Bu doku

örneklerinde biyokimyasal olarak oksidatif stres biyomarkırları olarak katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kemik dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde, parafin doku örnekleri hemotoksilen-eosin (HE) boyası ile boyanarak ışık mikroskopisinde yapıldı.

Biyokimyasal incelemede, sıfıncı günde tedavi grubunda sham ve kontrole kıyasla antioksidan enzim aktivitelerinin (CAT, SOD) arttığı ($p<0,05$), buna karşın oksidatif stresin indikatörü olan MDA düzeylerinin düştüğü saptandı ($p<0,05$). Bunun yanısıra, kontrol ve sham grubu arasında CAT, SOD ve MDA düzeyleri yönünden farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Yirmibirinci günde silimarin ve sham grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CAT ve SOD aktivitelerinin arttığı ($p<0,05$), ancak MDA düzeyinin düşük olduğu saptandı ($p<0,05$). Yirmibirinci günde Silimarin ve sham grupları arasında CAT, SOD ve MDA düzeyleri yönünden farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Histopatolojik incelemede, Yirmibirinci günde sıfıncı güne kıyasla Silimarin grubunda osteoblastik aktivitenin daha yüksek olduğu ve daha çabuk osseöz forma dönüştüğü gözlemlendi. Radyolojik bulgular biyokimyasal ve histopatolojik sonuçları destekler nitelikteydi.

Sonuç olarak, Silimarin'in kemik formasyonunu stimüle ettiği ve osteoprotektif etki yaptığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, Oksidatif stres, Silimarin

Sayfa Adedi: 78

Danışman: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ

THE EFFECT OF SİLİMARİN ON FRACTURA HEALİNG İN RATS

Master Thesis

Seher KARA ÖNGEL

ABSTRACT

The anatomic integrity and continuity of bone deterioration is called broken. Today, the fact that fracture rates increased due to the aging population as well as increased traffic and work related accidents has made healing of fractures an important health problem. Studies in this field focus on accelerating the fracture healing. After conservative and surgical treatment of the patients, in order to gain their normal function faster there are many applications to prevent complications and accelerate bone healing. Among them; local and systemic medication practices (calcium, phosphate, bone morphogenic proteins, vitamin D, hormones), electromagnetic field stimulation, hyperbaric oxygen therapy and physical stimulation.

Silymarin is an ant fibrotic, antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective substance, obtained from "Silybum marinum" on which lots of studies have been carried out in recent years. It can be used as radioprotective in gall bladder disorders, hepatitis, cholestasis, chemical toxins and mushroom poisoning, and for adjuvant therapeutic purposes of skin and prostate cancers and to prevent nefropatiyi in cardiopulmonary ailments. There has been no indication in literature searches about Silymarin's healing effect on fracture.

In our study, biochemical and histopatologic effects of Silymarin on fracture healing were implemented on 48 rats. Rats were randomized into three groups. The subjects right tibias were broken under local anesthesia. The experimental group (sham and Silymarin) animal experiments, starting from 1 day a go 21 days saline 50 mg Neil/kg/day and 50 mg/kg/day given through gavage Silymarin, interested in the control group nothing is not implemented. Each group of eight animals fracture occurred days (zero-day) and the other 24 rat, 21 days (21st day) intraperitoneal ketamine (50 mg/kg) were sacrifice and radiological examination under anesthesia and then performing an autopsy from the biochemical and histopathological examination for broken bone tissue samples. As oxidative stres samples in biochemical biomarker as the catalase (CAT), Superoxide

dismutase (SOD) and the determinations of malondialdehyde (MDA) levels were performed spectrophotometrically.

Histopathological evaluation of bone tissue, parafin tissue sample hemotoksilen-eosin (HE) was made in the painted with light microscopy.

Biochemical examination, zero-day treatment group compared to sham and control of antioxidant enzyme activities (CAT, SOD) increased ($p < 0,05$), indicators of oxidative stress, by decrease levels of MDA ($p < 0,05$). In addition, control and sham group include CAT, SOD and MDA levels no differences ($p > 0,05$) in terms of. 21 st Silymarin and a day compared with the sham and control groups of CAT and SOD activities increased ($p < 0,05$), but low levels of MDA is ($p < 0,05$). 21 st Silymarin and a day compared with the sham and control groups of CAT and SOD activities increased ($p < 0,05$), but low levels of MDA is ($p < 0,05$). 21 st day Silymarin and sham groups include CAT, SOD and MDA levels no differences ($p > 0,05$) in terms of. Histopathologic examination, compared to 21 st day zero-day greater than osteoblastic activity of Silymarin group and intended to turn into a form more quickly. Radiological findings biochemical and histopathological results supports.

As a result, Silymarin, stimulates bone formation and of osteopro been shown his impact.

Keywords: Fracture healing, Oxidative stress, Silymarin

Page Number: 78

Supervisor: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	I
ÖZET	II
İNGİLİZCE ÖZET	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kemik Doku ve Histolojisi	3
2.2. Periosteum ve Endosteum.....	4
2.3. Kemik Matrisi	5
2.4. Kemik Hücreleri	5
2.5. Kemik Tipleri.....	6
2.6. Kemiğim Oluşumu.....	7
2.7. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenme.....	10
2.8. Kemik Fizyolojisi	11
2.9. Kırık İyileşmesinin Tarihçesi.....	14
2.10. Kırık Tanımı ve Tipleri.....	14
2.11. Kırıkları Oluşturan Sebepler ve Kırık Oluş Mekanizması.....	17
2.12. Kırık Belirti Ve Bulguları	17
2.13. Kırık İyileşmesi (Kaynaması).....	18
2.14. Kırık İyileşmesinin Kontrolü	19
2.15. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	20
2.16. Silimarin.....	23
2.17. Serbest Radikaller	28
2.18. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu).....	29
2.19. Serbest Oksijen Radikallerinin Kırık İyileşmesindeki Rollerini	30
2.20. Biyokimyasal Çalışmada Kullanılan Oksidatif Stres Biyomarkerlar	30
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Deney Hayvanları	33
3.2. Kırık İyileşmesi Modeli	33

3.3. Yöntem.....	34
3.4. Biyokimyasal Analizler	37
3.5. Histopatolojik Olarak İncelenmesi	48
3.6. Radyolojik Olarak İncelenmesi	48
3.7. İstatistiksel Analiz.....	48
4. BULGULAR	49
4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	49
4.2. Kemik Dokusunda sıfır ve yirmibirinci günlerdeki SOD, CAT ve MDA Düzeylerinin İstatistiksel Sonuçları	52
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	58
4.4. RADYOLOJİK BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ.....	64
6.1. Biyokimyasal Sonuçlar	64
6.2. Histopatolojik Sonuçlar	64
6.3. Radyolojik Sonuçlar	64
7. ÖNERİLER	65
8. KAYNAKLAR.....	66
9. ŞEKİLLER DİZİNİ	73
10. TABLOLAR DİZİNİ.....	74
11. RESİMLER DİZİNİ	75
12. ÖZGEÇMİŞ.....	76
13. EKLER DİZİNİ	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

ERK	: Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz
MAPK	: Mitogen activated protein kinase
PI3K	: Phosphotidyl inositol 3 kinase
JAK	: Janus kinaz
STAT	: Signal Transducers and Activators of Transcription
K β	: Kilobaz
Ca ⁺²	: Kalsiyum
PO ₄	: Fosfat
SOD	: Superoksit dismutaz
PTH	: Paratiroid hormon
ALP	: Alkalen fosfataz
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
PDGF	: Trombositten üretilmiş büyüme faktörü
TGF- β	: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta
BDGF	: Kemikten türetilmiş büyüme faktörü
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
BMP	: Kemik morfojenik proteini
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifostat
TGF- α	: Dönüştürücü büyüme faktörü alfa
BMP-7	: Osteojenik protein
BMP-8	: Osteojenik protein
L-Dopa	: Levodopa
MDA	: Molondialdehit
CAT	: Katalaz
CO ₂	: Karbondioksit
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İçten veya dıştan etki eden kuvvetlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulmasına ‘kırık’ denilmektedir. Bu kuvvetlerin şiddetine ve kemiğin bu şoku absorbe edebilme yeteneğine göre kırıklar ufak bir fissürden, bir veya birçok kemiğin kırılmasına ve hatta kırıklı çıkık oluşturabilmesine kadar değişiklikler gösterebilir. Kırığı oluşturan kuvvet sadece kemik dokuda ayrılma değil, beraberinde deri, kaslar, tendonlar, ligamentler, damarlar, sinirler ve hatta komşuluğundaki organlarda da hasar oluşturabilmektedir (97).

Silimarin koruyucu özelliklerini antioksidatif, anti-lipid peroxidative, antifibrotik, anti-inflammatuar, hücre koruyucu, immunomodulator gibi etkileriyle gösterebilir. Biryandan da Silimarin protein sentezini artırarak karaciğer hücrelerini yenilenmesine yardım eder, iltihabı kontrol eder ve karaciğerin detoksifikasyon işlevinin etkisini artırır. Bu özellikleriyle Silimarin alkolik karaciğer hastalığı, siroz, mantar zehirlenmesi, viral hepatit, toksik ve ilaca bağlı karaciğer hastalığı ve diabetik hastalarda klinik kullanım alanı bulmuştur. Silimarin oral olarak emildikten sonra safra yoluyla atılır. Sliimarin’in hepatobilyer hastalıklara ve toksik maddelere karşı koruyucu etkileri vardır (1).

Serbest radikaller şu durumlardan kaynaklanabilir; aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, radyasyon, çevresel ajanlar ve stres, küçük moleküllerin otooksidasyonu, proteinler veenzimler, mitokondrial elektron transport sistemleri, peroksizomlar, plazma membranı ve oksidatif strese sebep olan yapılar (96).

Enflamatuar hastalıklarda, lokal inflamasyonda, normal yara iyileşmesinde, iskemi ve reperfüzyonda, iyonizan radyasyon ve herbisit etkileriyle toksik miktarda serbest radikaller meydana gelmektedir (96).

Biyolojik sistemlerde önemli olan serbest radikallerin birçoğu oksijene dayanmaktadır. Hücreler hasta veya yaşlı olduğu zaman fazla miktarda serbest radikal üretmektedir (96).

Vücudumuzda çeşitli nedenlerle oluşan serbest radikallere karşı hücreleri korumak için bazı maddeler üretilir ki Silimarin vücudun serbest radikallere karşı savunma olarak ürettiği antioksidanlar olan Superoksit dismutaz (SOD), glutatyon ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin üretilmesini ve etkinliklerini arttırmaktadır. Silimarin ayrıca *Amanita phalloides* mantarı zehirlenmesinde rastlanıldığı gibi dışarıdan direk alınan toksinlere karşı da antidot olarak kullanılmaktadır (2).

Yapılan çalışmalarda % 70-80 oranında Silimarin içeren standardize Silibum marianum özünün 41 ay boyunca güvenle kullanıldığı ve önemli ilaç reaksiyonları rapor edilmediği görülmüştür (3).



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Doku Ve Histolojisi

İnsan vücudunun en sert dokularından biri de kemiktir. En önemli iki özelliği dengeyi sağlayan destek dokusu olması ve metabolik olarak vücuttaki kalsiyum (Ca^{+2}) dengesi için bir banka görevi görmesidir. Kırık dokudan sonra darbelere en çok dayanıklı olan dokudur. Hayati organların barındığı vücudun önemli boşluklarını dışarıdan kuşatarak korur. Kan hücrelerinin sentezi kalsiyum, fosfat (PO_4) gibi minerallerin depolanması ve salınması kemik doku sayesinde olur. Kas kasılması ile oluşan kuvvetler kemiklerin oluşturduğu kaldıraç sistemleri sayesinde artarak vücutsal harekete dönüşür (4).

Bir organ olarak kemikler kardiyak çıkışın (out put) %5-10'unu alırlar. Uzun kemikler 3 kaynaktan beslenirler:

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

Besleyici arterler ana sistemik arterlerden köken alırlar. Diafizial kortekste bulunan foramen nutrisiadan girerek medüller kanalda inen ve çıkan küçük arterlere dallanmaktadır. Damarlar aracılığıyla havers sistemi içindeki olgun diafiz korteksinin en az üçte ikisini beslemektedirler. Besleyici arter sistemi yüksek basınçlıdır. Metafizyal-epifizyal sistem eklem çevresi vasküler pleksuslardan doğmaktadır. Periosteal sistem ise primer olarak olgun diafizyal korteksin en çok dış üçte birini besleyen kapillerlerden oluşmaktadır. Bu sistem düşük basınçlıdır (5). Olgun kemikteki arteryel akım yüksek basınçlı besleyici arteryel sistemin ve düşük basınçlı periosteal sistemin net etkisinin sonucu olarak sentrifugaldır. Endosteal sistemin bozulduğu tamamen yer değiştirmiş bir kırıkta basınç gradienti tersine döner. Periosteal sistem basıncı baskın hale gelir ve kan akımı sentripedal hal almaktadır. Olgunlaşmamış gelişmekte olan kemikte arteryel akım sentripedaldir. Olgun kemikte venöz akım sentripedaldir. Kortikal kapillerler boşaltıcı venöz sisteme drene olan venöz sinüzoidlere açılırlar.

Kemik, özel bir bağ dokusudur. Kemik matriksi adı verilen hücreler arası madde kalsifiye olmuştur. Matriksi, kuru ağırlığının kabaca %40'ı oranında organik, %60 oranında da inorganik bileşenler oluşturmaktadır (5). Organik bileşenler arasında kollajen, proteoglikanlar, kollojen dışı matriks proteinleri, büyüme faktörleri ve sitokinler sayılabilir. Kollojen kısım primer olarak Tip 1 kollojenden oluşmaktadır ve bu molekülün sonlanma bölgelerinde bulunan boşluklara mineral birikimi olmasıyla kalsifikasyon

sağlanmaktadır. Osteokalsin, matriks dışı organik proteinler arasında yer almaktadır ve düzeyi kemik yapım ve yıkım olaylarının bir göstergesidir. Osteokalsin, Paratiroid hormon (PTH) tarafından inhibe ve 1–25 dihidroksivitamin D tarafından aktive edilmektedir. İnorganik bileşenler arasında kalsiyum hidroksiapatit ve osteokalsiyum fosfat sayılabilir (5).

Kemik dokuda; osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlar olmak üzere üç ayrı hücre izlenmektedir. Osteositler matriksin lakuna adı verilen boşluklarında yer almaktadır. Kabaca kemik dokuyu devam ettirirler. Matür iskeletteki hücrelerin %90'ını osteositler oluşturmaktadır. Osteoblastlar, matriksin organik kısımlarının sentezini yapmaktadırlar. Osteoklastlar ise çok çekirdekli dev hücreler olmakla birlikte, kemik dokusunun rezorpsiyonu ve yeniden şekillenmesini sağlamaktadırlar (6).

Metabolitler difüzyonla kalsifiye kemik dokusundan geçememektedirler; bu sebepten osteositler ile kan damarları arasındaki madde alış veriş, kanaliküli adı verilen kanalcıklar içindeki hücresel ilişkiler sayesinde sağlanmaktadır. Bu kanalcıklar, osteositlerin ince uzun sitoplazmik uzantıları aracılığı ile komşu osteositlerle, kemiğin iç ve dış yüzeyleri ile ve de matriks içinde seyreden kan damarları ile olan iletişimi sağlamaktadır (6).

Bütün kemiklerin iç yüzleri endostium ve dış yüzleri periosteum adı verilen zarlarla kaplıdır. Bu zarlar osteojenik hücreler ihtiva etmektedir (6).

2.2.Periosteum veEndosteum

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan zarlarla örtülüdür. Bu zarlardan dıştakine periosteum, içtekine de endosteum denir. Periosteumun dış tabakası kollajen lifer ve fibroblastlardan oluşmaktadır. Hücreden daha zengin olan periosteumun iç tabakası, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip olan yassı hücrelerden zengindir. Bu osteoprogenitör hücreler, konumları, yassı şekilleri, çok az miktarda granüler endoplazmik retikulumları ve az gelişmiş Golgi kompleksleri ile tanınmaktadırlar (4). Bu hücreler kemiğin büyümesinde ve onarımında başlıca rolü oynamaktadırlar. Endosteum, kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşmaktadır. Endosteum periosteumdan oldukça ince bir yapıdadır. Periosteum ve endosteumun temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları kesintisiz olarak sağlamaktır (4). Bu nedenlerle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilmektedir.

2.3. Kemik Matriksi

Kemiğin kuru ağırlığının yaklaşık %50-60'ını, inorganik maddeler oluşturmaktadır. Özellikle Ca^{+2} ve PO_4 başta olmak üzere bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum inorganik maddeler arasında bulunur (6).

Organik madde Tip 1 kollajenden ve proteinler ile ilgili glikozaminoglikanları içeren amorf temel maddeden oluşmaktadır. Hidroksiapatit ile kollajen lifler arasındaki bağlar, kemiğin karakteristik sertliğinden ve dayanıklılığından sorumludur. Kemik dekalsifiye edildikten sonra da şeklini korur, fakat bir tendon kadar esnek hale gelir. Çoğunluğu kollajenden oluşan matriksin organik kısımlarının ortadan kaldırılmasıyla kemiğin orjinal şekli bozulmaz, ancak kolayca kırılabilir hale gelir (6).

2.4. Kemik Hücreleri

2.4.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar, Tip 1 kollojen, proteoglikan ve glikoprotein sentezi yaparak kemik matriksinin organik kısımlarının üretimini sağlamaktadırlar. İnorganik kısımlar da osteoblastların varlığı sayesinde yapılabilmektedir. Osteoblastlar kemik yüzeylerinde epitelyum hücreleri gibi yan yana dizilmektedir. Matriks sentezlemeye başladıklarında şekilleri altı kübikten prizmatığe kadar değişiklik gösterebilir. Alkalin fosfataz (ALP) aktivitesi artarak sitoplazmaları bazofilik hale gelmektedir. Sentez işlemleri azaldıkça ALP aktivitesi azalmakta ve sitoplazmalarının bazofilik özelliği kaybolmaktadır. Bu esnada hücreler yassılaşır (6).

Osteoblastların komşu osteoblastlarla temasını sağlayan sitoplazmik uzantıları bulunmaktadır. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman daha belirgin hale gelmektedir. Osteoblastlar yeni sentezi yapılmış matriks ile sarıldıklarında osteosit adını alırlar. Hücre ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması ile lakuna ve kanalcıklar belirgin hale gelir. Matriks sentezi esnasında osteoblastlar yapısal olarak aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzemektedirler. Osteoblastlar kutuplaşmış hücreler olarak bilinirler. Matriksin salgılanması, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden sağlanır. Böylece yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında yer alır. Bu olaya 'kemik appozisyonu' denir ve zamanla Ca^{+2} tuzlarının çökmesi ile kalsifikasyon tamamlanır (6).

2.4.2. Osteositler

Osteositler, osteoblastlardan kaynaklanırlar ve matriks lamelleri arasında bulunan lakunalar içine yerleşmişlerdir. Her lakunada sadece bir osteosit yer almaktadır. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik kanalcıklarla sarılmıştır. Komşu osteositler sitoplazmik uzantılarının birbirleri arasında yaptıkları hücre bağlantıları ile iletişimi oluşturup, besin maddelerinin hücreden hücreye geçişini sağlamaktadırlar. Osteositler ile kan damarları arasında süren moleküler alış veriş, osteositler ile kemik matriksi arasında bulunan çok az miktardaki ekstrasellüler madde vasıtasıyla da olmaktadır. Endoplazmik retikulumları ve golgi kompleksleri küçülmüştür. Nükleer kromatinleri daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı ile aktif olarak ilgilidirler. Osteositlerin ölümünü takiben matriks rezorpsiyonu izlenmektedir (6).

2.4.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar çok büyük, ileri derecede dallanmış ve hareketli hücrelerden meydana gelir. Hücrenin dalları oldukça düzensiz, farklı biçim ve kalınlıkta bulunabilmektedir. Bu hücreler kemik rezorpsiyonun başladığı bölgelerde, enzimatik olarak açılmış ve Howship lakunası adı verilen yedi çukurcularda bulunmaktadır. Osteoklastlar kan kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana geldikleri için mononükleer fagositoz sisteme dâhildirler (6).

Ca^{+2} içeren kristaller kıvrımlar arasında görüldüğü gibi, sitoplazmik vakuollerde de görülebilir. Tüm bu olaylar hiçbir zaman hücrenin sitoplazmasında meydana gelmez. Osteoklastlar kemik matriksine hücum eden, asid, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgılamaktadırlar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale getirirler ve kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen artıkların da ortadan kaldırılmasında aktif rol alırlar (6).

2.5. Kemik Tipleri

Kemiğin mikroskopik olarak araştırılması, iki farklı kemik tipi olduğunu göstermiştir: *Primer*, olgunlaşmamış kemik ve *sekonder*, olgun kemik. Primer kemik embriyolojik gelişim sürecinde, kırık ve diğer onarım olaylarında ilk ortaya çıkan kemik türü olarak bilinir. Sekonder kemiğin lameller halinde organize olmuş kollajen lif dağılımının aksine, primer kemik, rasgele ve değişik yönlere dağılmış ince kollajen lifleri

olması ile tanınır. Primer kemik geçicidir ve yetişkinlerde yerini sekonder kemiğe bırakır (6).

Enine kesilmiş kemik kesitleri kabaca incelenirse; kavitesiz yoğun sahalar kompakt kemiği, çok sayıda birbiri ile ilişkili kavitelerden oluşan alanlar ise süngerimsi kemiği göstermektedir. Oysa mikroskopik olarak gerek kompakt kemiğin, gerekse süngerimsi kemiğin kavitelerini birbirinden ayıran trabekülaların histolojik yapısı aynıdır (4).

Uzun kemiklerin şişkince olan uç kısımları epifiz olarak tanımlanır. Epifizler ince bir kompakt kemik tabakasıyla kaplanmış süngerimsi kemikten oluşmaktadır. Diafiz adı verilen silindirik kısmın hemen hemen tümü kompakt kemikten oluşmuştur ve kemik iliği boşluğuna bakan yüzeylerinde çok az süngerimsi kemik bulunur. Çoğu kez kısa kemiklerin merkezlerindeki süngerimsi kemik, kompakt kemikle çevrelenmiştir. Kafatası kemiklerini oluşturan yassı kemikler, diploe adı verilen süngerimsi kemik tabakasıyla ayrılan, plates denilen iki kompakt kemik tabakası bulundurur. Süngerimsi kemikle uzun kemiklerin diafizlerindeki kemik boşlukları iki tür kemik iliği ile doldurulmuştur. Bunlardan biri, kan hücrelerinin oluşturduğu kırmızı kemik iliği, diğeri ise çoğunluğu yağ hücrelerinden oluşan sarı kemik iliğidir (6).

2.6. Kemiğin Oluşumu

Kemik iki yolla şekillenir; osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile (İntramembranöz kemikleşme) veya daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çöküşü ile (Enkondral kemikleşme).

Bu her iki çeşit kemikleşme şeklinde de, ilk olarak ortaya çıkan kemik dokusu, *primer* veya olgunlaşmamış kemik dokusudur. *Primer* kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra *sekonder* kemik dokusu ile yer değiştirir. Büyüme sürecinde, *primer* kemik alanları, rezorbe olan alanlar ve lamelli kemik yan yana bulunur. Kemik sentezi ve yıkımı sadece büyüyen kemiklerde görülmez, yetişkinlerde de hızını azaltarak hayat boyu devam eder (6).

2.6.1. İntramembranöz kemikleşme

Yassı kemiklerin oluş mekanizması olan intramembranöz kemikleşme'ye, mezankimal doku yoğunlaşmaları içinde olduğu için bu ad verilmiştir. İntramembranöz kemikleşme kısa kemiklerin büyümesinde ve uzun kemiklerin kalınlaşmasında rol oynar.

Mezankimal doku yoğunlaşmaları içinde ossifikasyonun başladığı ilk noktaya *primer* kemikleşme merkezi denir. Olay bir grup mezankimal hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile başlar. Yeni kemik matriksinin oluşmasını, kalsifikasyon süreci takip eder. Bazı osteoblastların etrafları sarılarak osteosit haline gelmeleri sağlanır. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına spikül adı verilir. Spikül olarak adlandırılmaları, histolojik kesitlerdeki görüntülerinden kaynaklanmıştır. Spiküller, aralarında kapillerler, kemik iliği hücreleri ve farklılaşmamış hücreler bulunduran kaviteletin uzamış duvarlarının kesitleridir. Böyle birkaç mezankimal oluşum, kemikleşme merkezinde hemen hemen aynı zamanlarda ortaya çıkarak, birleşip zamanla süngerimsi yapıyı meydana getirirler. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve daha fazla farklılaşmamış mezankimal hücrelerin girmesi ile kemik iliği hücreleri de meydana gelir (6).

Mezankimal doku yoğunlaşma alanlarında hücreler bölünerek, kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan hücreleri, yani osteoblastları meydana getirirler. Çeşitli ossifikasyon merkezleri radial olarak büyüyüp birleşerek, başlangıçtaki orjinal bağ dokusunun yerini alırlar. Bebeklerdeki bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgeleri olan bingıldaklar bunlara tipik bir örnektir (6).

Özellikle doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin iç ve dış yüzeylerindeki intramembranöz kemik yapımı, kemik yıkımına göre belirgin olarak artmıştır. Böylece iki tabaka kompakt kemik oluşur. Bu iki tabaka arasındaki kısım süngerimsi yapısını korur. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise, intramembranöz kemiğin periosteum ve endosteumunu oluşturur (6).

2.6.2. Enkondral kemikleşme

Enkondral kemikleşme, meydana getirilecek kemiğin şeklinin hiyalin kıkırdaktan oluşmuş küçük bir modeli ile oluşması olarak tarif edilebilir. Bu kemikleşme türü kısa ve uzun kemiklerin şekillenmesinden sorumludur.

Temel olarak ‘enkondral kemikleşme’ iki aşamadan oluşur. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Geriye kalan, kalsifiye kıkırdak matriksi septalarının birbirinden ayırdığı genişlemiş alanlar olan lakunlardır. İkinci aşamada, osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuk, dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan bu alanlara girer. Osteoprogenitör hücreler, kıkırdağımsı septumun üstünü kemik matriksi ile kaplayan osteoblastlara

dönüşür. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları, başlayan ossifikasyona destek dokusu olarak bulunmaktadır (6).

Uzun kemikler, her iki ucu genişlemiş ve silindirik bir şafttan oluşan hiyalin kıkırdak modellerden meydana gelirler. Ortaya çıkan ilk kemik dokusu diafizleri saran perikondriumun içindeki intramembranöz kemikleşme yoluyla olur. Böylece kıkırdağı saran perikondriumun iç kısmında kemik halkası adı verilen silindirik bir kemik tabakası meydana gelir. Yeni oluşan kemiği sardığı için perikondriuma da artık periosteum adı verilir. Yeni meydana gelen kemiksi halka besin maddelerinin difüzyonuna engel olacağı için kemik halkasının içinde kalan kondrositler dejenere oldukça, kıkırdak matriksi kaybolduğu için, Ca^{+2} çökmeye başlar ve kıkırdak matriksi kalsifiye hale gelir (6).

Periosteumdan kaynaklanan osteojenik tomurcuğun kan damarları, osteoklastlar tarafından kemik halkada açılan deliklerden geçerek, kalsifiye olmuş kıkırdak matriksi içine girer. Kan damarlarının yanı sıra osteoprogenitör hücreler de bu alana girerler. Bu hücreler proliferasyon olarak osteoblastları oluştururlar. Osteoblastlar kalsifiye kıkırdak matriksi üzerinde, aralıksız bir tabaka oluşturarak kemik matriksinin sentezine başlarlar. Böylece primer kemiğin sentezi, kalsifiye olmuş kıkırdak artıkları üzerinde başlar. Ayrıca, osteojenik tomurcuk aracılığı ile kan dolaşımındaki kemik iliğinin ana hücreleri de yeni oluşan kemiğin içine getirilir (6).

Histolojik kesitlerde, kalsifiye kıkırdak bazofilik, üzerine çökmüş kemik dokusu da asidofilik olarak birbirinden ayırt edilebilir. Kemik matriksi oluştuğunda, kalsifiye kıkırdak artıkları osteoklastlara benzeyen multinükleer dev hücreler tarafından ortadan kaldırılır.

Açıklaması yapılan diafizlerdeki kemikleşme merkezine primer kemikleşme merkezi adı verilir. Primer kemikleşme merkezinin genişlemesi, periosteal kemik halkasının epifizlere doğru olan genişlemesiyle birlikte olur. Osteoklastlar kemikleşme merkezi oluşumunun başlangıcından beri aktif haldedirler ve rezorpsiyonla kemiğin merkezindeki kemik iliği kavitesini oluştururlar. Bu kavite, modelin kemikleşmesi tamamlanmaya kadar epifizlere doğru büyür (6).

Embriyonal gelişimin sonraki safhalarında, epifizlerin ortasında *sekonder* kemikleşme merkezleri meydana gelir. Ancak bu merkezlerin gelişimi aynı kemikte bile aynı anda olmaz. Bu merkezlerin fonksiyonları da primer merkezlerinkine benzer, fakat büyüme yönleri uzunlamasına değil, ışınsaldır. Ayrıca eklem kıkırdaklarında perikondrium olmadığı için burada kemikhalkaya benzer bir yapı da oluşamaz. *Sekonder* kemikleşme merkezlerinin oluşturduğu kemik dokusu epifizleri işgal ettiği zaman, kıkırdak iki yerde sıkışıp kalır. Bunlardan biri hayat boyu kalıcı olan ve kemik yapımına iştirak etmeyen

eklem kırırdağı, diğeri ise epifizleri diafizlere bağlayan, epifizyal plak veya epifizyal kırırdağıdır. Epifizyal plağın kırırdağı büyüdükçe büyük çoğunluğu diafiz merkezinde oluşan yeni kemik tarafından işgal edilir. Epifizyal plağın büyümesi sona erdiğinde kemik uzaması da durur (6).

Epifizyal plak aynı zamanda büyüme plağı olarak da adlandırılır. Büyüme plağı ve metafiz, enfeksiyon, neoplazi, kırık, metabolik ve endokrin hastalıkların sık görüldüğü bir bölgedir. Çocukluk çağı kas iskelet sistemi hastalıklarının çoğunda büyüme plağında ortaya çıkan sorunlar gözlenir (7).

2.6.3. Kalsifikasyon mekanizması

Henüz kalsiyum fosfatın kemik matriksi üzerine çöküşünü açıklayabilen, genel olarak kabul edilmiş bir hipotez yoktur. Kalsifikasyonun, Ca^{+2} tuzlarının kollajen fibriller üzerine çökmesi ile başladığı bilinmektedir (4). Bunu proteoglikanlar ve Ca^{+2} bağlamada yüksek afinitesi olan glikoproteinler başlatır. İntrasitoplazmik veziküller içinde Ca^{+2} tuzlarının çökmesi belki de osteoblastların yardımı ile hızlandırılıp yoğunlaştırılır ve gerektiğinde ekstraselüler aralığa salgılanması sağlanır. Ayrıca kemikleşme yüzeylerinde bulunan ve osteoblastlar tarafından üretilen ALP, henüz bilinmeyen bir yolla kalsifikasyona yardım eder (4).

2.7. Kemiiğin Büyümesi Ve Yeniden Şekillenme

Kemiiğin büyümesi, daha önce oluşmuş dokunun bir bölümü yıkılırken aynı anda diğeri bir bölümün yapımı ile oluşur. Kemik yapım miktarı kemik kaybından daha fazladır. Böylece kemik büyürken aynı zamanda şekli de muhafaza edilir. Çocuklarda kemik daha hızlı şekillenir.

Uzun kemiklerin büyümesi oldukça karmaşık bir olaydır. Epifizler, kırırdağın radial büyümesini izleyip, endokral kemikleşme yolunu takip ederek boyutlarını arttırırlar. Bu yolla, epifizdeki süngerimsi kısımlar artar (6).

Diafiz esasen bir silindir kemikten ibarettir. Epifizlerin hızla büyümeleri sebebiyle, ekstremitelelerin diafizleri çabucak büyür ve diafiz şaftı tarafından ayrılan iki diafiz hunisi şekillenir (6).

Diafizyal şaftının boyu, genel olarak epifizyal plağın osteojenik aktivitesi ile, eni ise kemik kısmın dış yüzeyindeki periosteumun kemiiği şekillendirmesi ile artar. Bu sırada kemik iliği kavitesinin çapındaki artma ile kemik iç yüzden uzaklaştırılır. Endosteumun

osteojenik aktivitesi sebebiyle her iki diafiz hunisinin iç yüzeylerinde kemik depozisyonu oluşur. Aynı zamanda, kemik dış yüzeyi üzerindeki karşıt alanlardan rezorbe olur. Böylece diafiz hunilerinin dar kısımları zamanla silindirik hale gelir. Bu genelde epifiz plağının osteojenik aktivitesine bağlıdır. Bu işin sonunda, silindirik diafizyal şaftın uzunluğu artar ve iki diafiz hunisi kemik büyüdükçe birbirinden uzaklaşır. Daha sonra diafiz hunilerinin silindirik kısımlarındaki endosteumun, osteojenik faaliyeti sona ererek kemik iliği boşluğunun çapı korunur veya çok az rezorbe olarak bir miktar daha genişler. Merkezdeki kemik spikülleri, kemik iliğine yer açmak için erozyona uğrattılırken, epifizyal kıkırdak da çevresindeki kemik spikülleri ile epifizyal huniye tutunur (6).

Sonuçta, uzun kemikler, epifizyal plaklardaki faaliyet sonucu uzarlar ve periosteal apozisyonla da genişlerler. Epifizyal kıkırdak büyümesi sona erdiğinde, yerini kemiğe bırakır. Epifizlerin bu şekilde kapanmaları yaklaşık 20 yaş civarında olur. Bundan sonra artık kemik boyuna uzayamaz, ama enine olarak büyüyebilir (6).

2.8. Kemik Fizyolojisi

2.8.1. Destek ve koruma

Sertliğine rağmen kemik karşılaştığı değişik kuvvetlerin etkisi ile iç yapısını yeniden şekillendirebilir. Trabeküller, kemiğin üzerine etki eden bası ve çekme gerilimlerine göre dizilim gösterirler. Kemik üzerine gelen zorlanmaların değişmesine bağlı olarak trabeküllerin de dizilim ve sayısı değişir. Böylece kemik zorlayıcı etkiler altında yeniden şekillenme gösterir. Buna Wolf'un transformasyon yasası denir. Kuvvetin çektiği yerlerde kemik yapımı ve ittiği yerlerde de (zıt yönde) rezorbsiyon başlar. Bu yeniden modellenme yeteneği tüm kemikler için geçerlidir (6).

2.8.2. Kalsiyum deposu

İskelet, vücudun Ca^{+2} miktarının %99'unu içerdiği için, Ca^{+2} deposu olarak da görev yapar. Kan ve dokulardaki Ca^{+2} miktarları çok iyi dengelenmiştir. Ca^{+2} kas ve sinir işlevlerinde, pıhtılaşma mekanizmasında ve pek çok başka alanda rol oynar. Kan ve kemik arasında, devamlı bir Ca^{+2} alışverişi vardır. Serum kalsiyumunun primer hemostatik düzenleyicileri PTH ve 1-25 dihidroksi vitamin D3'tür. Gıdalardan emilen Ca^{+2} , süratle kemiklerde depo edilir. Kalsiyumun fazlası dışkı ve idrarla atılarak, kan Ca^{+2} düzeyinin yükselmesine engel olunur. Kan Ca^{+2} miktarı azaldığında ise kemikteki Ca^{+2} serbest hale getirilir. Kemiğin kalsiyumu, biri süratli, diğeri yavaş olmak üzere iki mekanizma ile

serbest hale getirilir. Bunlardan birincisi, iyonların basit olarak hidroksiapatit kristallerinden interstisiyel sıvıya, buradan da zamanla kana geçmesidir. Genellikle süngerimsi kemikte oluşan bu durum, hidroksiapatit kristallerinin geniş yüzey alanları sayesinde olur. Erişkin kemikte bile, çok az kalsifiye olmuş yeni lameller kalsiyumu kolayca alır ve verir. Kan Ca^{+2} seviyesinin korunmasında bu lamellerin rolü, asıl fonksiyonları koruma ve destek olan lamellerinkinden daha önemlidir (4). Kalsiyumun serbest hale gelmesindeki ikinci yol ise, kemiği etkileyen hormonlara bağlıdır. PTH kemik matriksinin rezorbsiyonunu başlatan hücreleri aktive edip sayılarını artırır ve sonuçta Ca^{+2} serbest hale gelir. Tiroid bezinin parafoliküler hücrelerinde sentezi yapılan kalsitonin, matriks rezorbsiyonunu inhibe eder. Kemik üzerindeki etkisi PTH etkisinin tersidir (4).

2.8.3. Fosfat

Fosfor, kemik mineralinin anahtar bir bileşeni olmasına ek olarak, enzim sistemlerinde ve moleküler etkileşimlerde de önemlidir. Vücut fosfatının %85 kadarı kemikte depolanır. Plazma fosfatının çoğu bağlanmamıştır ve böbreklerin proksimal tübüllerinden geri emilir. PO_4 idrarla atılır (6).

2.8.4. Beslenme

Kemik özellikle büyüme çağında beslenme faktörlerine hassastır. Yetersiz proteinle beslenme, amino asitlerin etkinliğini azaltır ve osteoblastlardaki kollajen sentezinin azalmasına yol açar. Ca^{+2} yetersizliği organik kemik matriksinin eksik kalsifikasyonuna sebep olur, bu da alınan gıdalarda yeterli miktarda Ca^{+2} olmamasına veya kalsiyumun ince barsaktan emilimi için gerekli olan D vitamininin eksikliğine bağlıdır. Çocuklardaki Ca^{+2} noksanlığı raşitizme sebep olur. Bu hastalık kemik matriksinin normal olarak kalsifiye olamadığı ve epifiz plakları tarafından meydana getirilen kemik spiküllerinin normal vücut ağırlığı ve kas faaliyetleri karşısında bükülmeleri ile tanınır. Sonuçta bu seviyedeki kemikleşme süreci engellenir ve kemikler sadece yavaş büyümekle kalmaz, aynı zamanda şekilleri de deforme olur (6).

Yetişkinlerdeki Ca^{+2} yetersizliği ise, henüz meydana gelmiş kemiğin yetersiz kalsifikasyonu ve kalsifiye olmuş kemiğin de kısmen dekalsifikasyonu ile tanınan osteomalaziye oluşturur. Fakat yetişkinde epifizyal kıkırdak olmadığı için çocuklarda görülen raşitizmde tipik olarak görülen uzun kemiklerin deformasyonu ve büyümedeki

gecikme görülmez. Gebelik sırasında, gelişmekte olan fetüsün çok miktarda kalsiyuma ihtiyaç duyması nedeniyle osteomalazi alevlenebilir (6).

Beslenme ile ilgisi olmayan osteoporoz, osteomalazi ile karıştırılmamalıdır. Osteomalazide kemik matriksi birimine düşen Ca^{+2} miktarı azalır. Osteoporoz, daha çok hareket edemeyen hastalarda ve menopoz sonrasındaki kadınlarda görülür. Burada rezorbsiyon artar veya kemik yapımının azalmasına bağlı kemik kitlesi eksilir. Bazen de bu her iki olay aynı anda olabilir. Osteoporozda mineral ve matriks oranı normaldir. D vitamininin daha önce sözü edilen kalsiyumun barsak emilimindeki rolüne ek olarak, in vitro deneylerden anlaşıldığı kadarıyla doğrudan kemikleşme üzerine de etkisi vardır (4). D vitamini içermeyen kalsiyumdan zengin kültür ortamına ekilen kemik dokusu gerektiği gibi kalsifiye olamaz (4). Çok fazla D vitamini ise toksiktir ve pek çok yumuşak dokunun kalsifikasyonuna sebep olur. C vitamini de kemiği doğrudan etkileyen vitaminler arasında olup, osteoblast ve osteositlerin sentezledikleri kollajen için şarttır. C vitamini yetersizliği kollajen liflerin meydana gelişini değişikliğe uğratarak kemik büyümesini ve kırık onarımını olumsuz yönde etkiler (6).

2.8.5. Hormonal faktörler

PTH ve kalsitoninin yanı sıra kemiği etkileyen birkaç hormon daha vardır. Hipofizin ön lobunda sentezi yapılan büyüme hormonu özellikle epifizyal kıkırdakları uyararak kemiğin uzamasını sağlar. Büyüme çağındaki bu hormon eksikliği hipofiz cüceliğini oluşturur. Fazlası ise uzun kemiklerin aşırı büyümesi sonucu gigantizm adı verilen aşırı büyümeye sebep olur. Yetişkinlerin epifizyal kıkırdakları olmadığı için çok fazla büyüme hormonu ile uyarıldıklarında, boyları uzayamaz. Buna karşın periosteal apozisyon uyarılacağı için kemikler enine olarak büyür (6).

Gerek erkek ve gerekse dişi seks hormonlarının kemikler üzerinde karmaşık etkileri vardır. Genel olarak kemik yapımını uyarırlar. Bunlar, kemikleşme merkezlerinin ortaya çıkışı ve gelişim zamanlarını etkilerler (6).

Östrojen, kemik rezorbsiyonunu önleyerek kemik kaybını engeller. Ancak kemik yapımı ve yıkımı birbirlerine bağlı olaylar olduğu için östrojen tedavisi kemik oluşumunu da engeller (5).

Kortikosteroidler, kollojen sentezini önleyerek ve osteoblast verimliliğini azaltarak kemik kaybını artırır. Tiroid hormonları, kemik rezorbsiyonunu, kemik oluşumundan daha fazla etkileyerek osteoporozu neden olurlar. Büyüme hormonu kalsiyumun barsaktaki

emilimini, idrardaki atılımından daha çok artırarak pozitif bir Ca^{+2} dengesi oluşturur. İnsülin ve somatomedin bu etkiye katkıda bulunur (5).

2.8.6. Kemik hücreleri arasındaki ilişkiler

Kemik hücreleri hızla çoğalan yavru hayvanlara 3H-Thymidine verildikten sonra yapılan otoradyografik çalışmalar, osteoprogenitör hücrelerin farklılaşması ile oluşan osteoblastların ve osteositlerin tekrar bölünmediklerini göstermiştir (4). Bu çalışmalar aynı zamanda osteoblastların genellikle osteositlere değiştiğini, bunların sekonder kemikte uzun zaman varlığını koruyabildiğini veya primer kemikte kısa sürelerle yaşadığını göstermiştir. Hem osteoblastlar hem de osteositler osteoprogenitör hücreler haline dönebilirler. Kemik yapımı ile ilgili hücrelerin hızla osteoprogenitör hücre halinedönebilmeleri, değişen şartlara çabuk uyum sağlayabilen hücreler olduklarını gösterir (4,5).

2.9. Kırık İyileşmesinin Tarihçesi

Ortopedinin tıbbi ve bilimsel bir disiplin haline gelmesi 18. yy ortalarına rast gelmektedir. Bir Fransız hekim olan Nicolas Andry (1658–1742) 1741 yılında doktordan çok hasta yakınlarına yazdığı kitabında çocuklardaki deformiteleri ve tedavi yöntemlerini çizimlerle tanımlarken ilk kez Orthopédie tanımını kullanmıştır. Bu yüzden bu bilim dalının isim babası olarak kabul edilir. Aslında aynı dönemlerde iki alternatif isim daha ortaya çıkmıştır. Paedotrophia, çocuk büyütme-yetiştirme anlamında, Callipoedia güzel-çocuk anlamında benzer dönemde benzer durumlar için farklı yazarlar tarafından kullanılmışlardır (8).

2.10. Kırık Tanımı ve Tipleri

2.10.1. Kırık tanımı

Dıştan veya içten etki eden kuvvetlerle kemiğin anatomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulmasına 'kırık' denir. Bu kuvvetlerin şiddetine ve kemiğin bu şoku absorbe edebilme yeteneğine göre kırıklar ufak bir çatlaktan, bir veya birçok kemiğin kırılmasına ve hatta komşu eklemlerde çıkık oluşturabilmesine kadar değişiklikler gösterebilir. Kırığı oluşturan kuvvet sadece kemik dokuda ayrılma değil, beraberinde kemiğin etrafındaki yumuşak dokuları ve hatta komşuluğundaki organlarda da hasar oluşturabilirler (97).

Kırığı oluşturan sebepler ile kırık lokalizasyonları yaşlara göre farklılıklar gösterir. Yeni doğan döneminde doğum travmaları, çocuklarda düşme, dövülme ve trafik kazaları, gençlerde spor ve trafik kazaları, orta yaşlarda trafik ve iş kazaları ve ileri yaşlarda düşmeler ve tümör gelişimi kırık yapan başlıca nedenlerdir. Yeni doğanlarda doğum travmasına bağlı olarak en çok klavikula, femur cismi ve humerus kırılır. Çocuklarda humerus suprakondiler kırıkları başta olmak üzere dirsek çevresi ve önkol kemikleri ile femur cisim kırıkları sık görülür. Genç ve orta yaşlarda tibia, femur ve radius distali en çok kırılan bölgelerdendir. İleri yaşlarda femur boynu, trokanterik bölge, humerus proksimali ve radius distali en çok kırık görülen bölgelerdendir (7,9).



Tablo 1: Kırık Tipleri ve Sınıflandırması

Kırık Tipleri ve Sınıflandırılması
Kemik dokunun sağlamlığına göre <ul style="list-style-type: none">• Normal kemikte (travmatik) kırık• Hastalıklı kemikte (patolojik) kırık• Stress (yorgunluk) kırığı
Kırık hattının, kemiği çevreleyen deri ya da mukoza yoluyla, dış ortamla ilişkide olup olmamasına göre <ul style="list-style-type: none">• Kapalı kırıklar• Açık kırıklar
Kırığı oluşturan kuvvete göre <ul style="list-style-type: none">• Direkt mekanizma ile olan kırıklar• İndirekt mekanizma ile olan kırıklar• Direkt ve indirekt mekanizma kombinasyonu ile olan kırıklar
Kırık sayısına göre <ul style="list-style-type: none">• Tek kırık hattı• Multiple kırık hattı
Kırığın derecesine ve kırık hattına göre <p><i>Ayrılmış (deplase) kırıklar</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Transvers kırık• Oblik kırık• Spiral kırık• Kopma kırığı• Parçalı kırık <p><i>Ayrılmamış (non-deplase) kırıklar</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Çatlak (fissür, linear kırık)• Yeşil ağaç (green stick) kırığı• Torus (Buckle) kırığı• Çökme kırıkları• Kompresyon (sıkışma) kırıkları• Dişlenmiş (impakte) kırıklar• Epifizin ayrılmamış kırıkları
Kırığın kemikteki anatomik lokalizasyonuna göre <ul style="list-style-type: none">• Proksimal bölge kırıkları (Proksimal epifizer ve metafizer bölge; trokanterik bölge, femur boynu, tibia kondili, kollum şirurjikum, vb)• Cisim (shaft) kırıkları (Diafiz bölgesi; 1/3 üst, 1/3 orta, 1/3 alt bölge olarak ifade edilir)• Distal bölge kırıkları (Distal epifizer ve metafizer bölge; suprakondiler, malleoler, pilon, Colles vb)• Epifiz bölgesi kırıkları (Çocuklarda fizisler kapanmadan önceki dönemde fizis hattını etkileyen epifiz ve metafiz kırıkları)• Kırıklı - çıkıklar (Kırıkla birlikte kırığın olduğu kemiğin katıldığı eklemden de çıkık olması)

2.11. Kırıkları Oluşturan Sebepler Ve Kırık Oluş Mekanizması

Travmatik yolla oluşan kırıklarda görülen başlıca sebepler: Trafik kazaları, düşme, çarpma, yüksekten düşme, ev içi kazalar ve düşmeler, iş kazaları, spor kazaları ve yaralanmaları, göçük altında kalma, üzerine bir şey düşmesi, ateşli silah yaralanması, kesici delici alet yaralanması, darba maruz kalma ve dövülme ile yeni doğanlarda görülen doğum travmalarıdır (10).

Patolojik kırıklarda kemikte bir hastalık mevcuttur ve kırık çoğu zaman basit travmalarla veya bazen travma olmaksızın kendiliğinden meydana gelir. Altta yatan hastalık benign tümör, *primer* veya *sekonder* malign tümör, osteoporoz, osteomalazi ve enfeksiyon sayılabilir.

Stress kırıklarında ise sürekli tekrarlayan zorlamalar ve yorgunluk sonucunda bariz bir travma olmadan fissür ya da tam kırık gelişebilir. Örneğin eğitimi yeterli olmayan askerlerde uzun yürüyüşler sonucunda metatars yorgunluk kırıkları görülebilir.

Normal anatomi ve fizyolojiye sahip bir kemikte dıştan etki eden kuvvetler ve vücut ağırlığının taşınması ile kas ve ligamentlerin çekmesi gibi vücudun içinden etki eden kuvvetlerin şiddeti, doğrultusu, hızı ve etkileme süresine göre kırıklar meydana gelir (10).

2.12. Kırık Belirti Ve Bulguları

Kırıkları doğru teşhis edebilmek için, yaralının hızlı, dikkatli ve sistematik olarak anamnezini almak, sistemik ve lokal fizik muayenesini yapmak ve radyolojik bulgu ve belirtileri değerlendirmek gerekir (6).

Anamnez, bilinci yerinde olanların kendisinden veya bilinci yerinde olmayanların çevresindekilerden detaylı olarak alınabilir. Kırıkla beraber etrafındaki kas ve tendonlarla, onu örten fasya ve cilt de yaralandığı için belirtilerin bir bölümü kırığa özgü olmayıp, bu belirtiler aynı tür travmaların kırık oluşturmaksızın meydana getirdikleri yumuşak doku lezyonlarında da görülürler (6).

Kırık olduğu zaman ise bazı belirti ve bulgular sadece kırığa özgüdür. Bu sebeplerle kırıklarda görülebilecek tüm belirtiler: Travmaya ait genel belirtiler ve kırığa özgü belirti ve bulgular diye iki aşamada değerlendirilir (6).

2.13. Kırık İyileşmesi (Kaynaması)

Tablo 2: Kırık belirti ve bulguları

Travmaya ait genel belirti ve bulgular
Ağrı ve duyarlılık Bütün travmalarda ağrı olmakla beraber kırıklarda daha şiddetlidir. Spontan ağrı (hastanın travma bölgesinde var olduğunu ifade ettiği ağrı), direkt ağrı (travma bölgesine basınç uygulandığında ortaya çıkan veya artan ağrı) veya indirekt ağrı (uzaktan zorlama uygulandığında travma bölgesinde ortaya çıkan veya artan ağrı) müsbet olabilir. Spontan, direkt ve indirekt ağrının aynı lokalizasyonda saptanması kırık lehine bir bulgudur.
Hematom Kırığı oluşturan darbenin damarları yaralaması, kırık uçların damarları yaralaması ve kırıktan kaynaklanan kanama nedeniyle görülür. Hematom hızla artarsa ve büyürse büyük damar yaralanmaları akla gelmelidir.
Ekimoz Doku arasına ve cilt altına yayılan kanın verdiği morumsu görünümüdür. Erkenden travma bölgesinde görülmesi, büyük kanama ve kırık habercisi olabilir. Rengi zaman geçtikçe fıstıki yeşil ve sarıya dönüşür. Tam kaybolması üçhaftayı bulur. Ekimoz yer çekiminin etkisiyle yer değiştirir. Örneğin humerus ve dirsek iç kısmında görülmesi humerus üst uç, uyluk arkasında görülmesi femur üst uç kırıklarını akla getirir.
Fonksiyon bozukluğu Hareket sistemi elemanları yaralandığı zaman ağrıya engel olmak için hareketlerin sınırlandırıldığı saptanır. Kırıkta ise aynı zamanda kaldıraç kolu bozulduğu için hareketler yapılamaz.
Kırığa özgü belirti ve bulgular
Hastanın duruşu Hastanın duruşu bazı kırıklar için tipiktir. Örneğin yaşlı bir hastada düşme sonucu alt ekstremitelerde bir tarafta eğer addüksiyon, dış rotasyon ve kısalık görülüyorsa, kollum femoris kırığı veya trokanterik bölge kırıkları akla gelmelidir.
Deformite Kırık uçlarının yer değiştirmesi ile olur. Kırık uçlarının birbirinden ayrılmasına deplasman, uçların birbirlerinin üzerine binmesine overriding, fragmanların birbirinden uzaklaşmasına distraksiyon, öne, arkaya veya yana açılmasına angulasyon, kırık uçlarının kendi eksenini etrafında dönmesine ise rotasyon denir.
Krepitasyon Kırık uçlarının birbirine sürtünmesi sonucu palpasyonda hissedilen bir kırırtı hissidir. Tesadüfen tespit edildiğinde kesin kırık olduğunu gösterir. Ancak krepitasyon varlığını araştırmak nörovasküler yaralanmalara yol açabileceğinden yapılmamalıdır.
Anormal hareket Bir kemikte anatomi ve fizyolojiye aykırı olarak gözlenen harekettir. Çok değerli ve kırık olduğunu gösteren kesin bir bulgudur. Ancak krepitasyonda olduğu gibi aynı gerekçelerle olup olmadığını aramak tıbbi bir hatadır.
Palpasyon belirtileri ve kısalık Kırık şüphesi bulunan bir kemik, palpasyonla çok dikkatli incelenmelidir. Kemikler cilde en yakın kısımlarından palpe edilirler. Patella ve olekranon kırıklarında kırık uçlar arasında aralık hissedilebilir. Komşu eklemler de dikkatlice muayene edilmelidir. Kemikte kısalık olup olmadığına bakılır ve sağlam tarafla ölçüm sonuçları karşılaştırılır. Kırıktan şüphelenilen ekstremitedeki tüm periferik sinirler ve arterlerin de yaralanıp yaralanmadığına bakılmalıdır.
Radyolojik inceleme Konvansiyonel radyolojinin önemi ve tanı koymada değeri çok fazladır. Kırık derecesi, sayısı, kırık uçlarının durumu, kırığın yeri ve yabancı cisim bulunuşu, kırığa uygulanan redüksiyon ve takipte kaynayıp, kaynamadığı ancak iyi bir radyolojik inceleme ile anlaşılabilir. Kural olarak; kırığı düşünülen kemiğin proksimal ve distal eklemlerinin de aynı film dâhilinde görülmesi gerekir.. Her kemiğin standart olarak en az iki yönlü, gerekirse oblik ve özel pozisyonda çekilmiş radyografileri istenmelidir. Göze çarpan bir kırık yoksa fizik muayenede direkt ve indirekt ağrının olduğu bölge çok kapsamlı olarak tetkik edilmelidir. Her şeye rağmen kırık saptanamayan ancak klinik olarak kırık olabileceği düşünülen vakalarda atelle tespit ve on gün sonra tekrar radyolojik inceleme önerilir. Eklem içi kırıklarda, pelvis kırıklarında, vertebra kırıklarında, patolojik kırıklarda ve şüpheli durumlarda istenilecek bilgisayarlı tomografi tetkiki daha ayrıntılı ve kesin bir inceleme olanağı sunar. Manyetik rezonans görüntüleme tekniği de çok değerlidir. Eklem içi kırıklar ve eklem içi patolojilerde, nörolojik defisit bulunan vertebra kırıklarında ve patolojik kırıklarda çok yararlı bilgiler verir.

2.13.1. Kırık iyileşmesinin evreleri

Kırık sonrası ortaya çıkan fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve sadece yeniden kemik yapılmasıyla iyileşir. Kırık iyileşmesi, kırık olduğu anda başlar ve kırık uçlarının düzenli kemik dokusu ile birleşmesine kadar devam eder (11). Bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamış iki şekilde incelenir:

1-Primer Kırık İyileşmesi

2-Sekonder Kırık İyileşmesi

2.13.1.1. Primer kırık iyileşmesi

Genellikle ayrılmamış ve rijit osteosentez uygulanan kırıklarda görülür. Belirli bir dış kallus oluşmadan, sadece iç kallusla devam eden temas iyileşmesi şeklinde tarif edilebilir. Radyolojik olarak kallus görülmez. Kırık uçlarında bulunan nekrozu, osteoklastlar rezorbe eder. Peşinden osteoblastlar yeni kemik yapısını oluşturur. Kırıkta süreç yoktur. Bu nedenle intramembranöz kemikleşmeye benzetilir (6).

2.13.1.2. Sekonder kırık iyileşmesi

Tabii iyileşme şekli budur. Radyolojik olarak kallus görülür. Sekonder kırık iyileşmesi, daha sık rastlanan, kırığın rijit internal fiksasyon olmaksızın tedavi edilmesiyle meydana gelir. Radyolojik ve histolojik olarak üç dönemde incelenir. Bu dönemler inflamatuvar dönem, tamir dönemi ve remodelizasyon dönemi olarak isimlendirilirler. Histolojik olarak iyileşme süresindeki evreler birbirinden zaman olarak kesin sınırlarla ayrılamaz. Her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur. Histolojik görünüme göre yapılan sınıflamalarda ufak farklılıklar hariç, genel olarak aynı bulgular kabul edilip benzer sıralamalar yapılmıştır (12). En uzun süren dönem, remodelizasyon dönemidir (6).

2.14. Kırık İyileşmesinin Kontrolü

Kırık olduğu anda ortamdaki osteoblast ve osteoklast yoğunluğu iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. İyileşmenin olması için gerekli kırık iyileşmesi öncü ve destek

hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici 'coupling' faktörlere ihtiyaç vardır (13,14,18,19). Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler, sayılabilir.

2.14.1. Prostoglandinler (PG)

Hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. Araşidonik asitten siklooksijenaz enzimi yardımıyla her biri doymamış bağlantıya sahip iki yan zincirle birlikte bir veya iki halka yapıdan meydana gelen değişik PG'ler oluşur. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenir. İltihap hücrelerine kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Güçlü vazodilatatördürler. Hücre çoğalmasını hızlandırırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler. Hücre içine ve dışına Ca^{+2} hareketini kolaylaştırırlar. PGE-2 ve PGI-2'nin kemik geri emilim gücü fazladır. PGE-1 ve PGE-2 yeni kemik yapımını artırır. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; dönüştürücü büyüme faktörü alfa (TGF- α), PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE2 aracılığıyla göstermektedir. PGF'nin de kemik gelişimini hızlandığı hakkında görüşler vardır (13).

2.14.2. Kemik uyarıcı faktörler

Farklılaşmamış mezanşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar. Bu faktörlerin başlıcaları şunlardır (6).

2.15. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yerel ve genel faktörler olarak iki grup halinde veya kırık iyileşmesini olumlu veya olumsuz etkileyen faktörler şeklinde incelenebilirler (6).

2.15.1. Yerel faktörler

1. Travmanın derece ve etkisi
2. Kırık uçlarının birbirine göre konumu
3. Kırık yerinin dolaşımı
4. Eklem içi kırıklar
5. Kırılan kemiğin türü

6. Kırık çizgisinin özelliği
7. Cilt ve yumuşak doku yaralanması
8. Yerel bir enfeksiyon varlığı
9. Yerel patolojik koşullar
10. Kırığın açık kırık olup kırık hematomunun dışarı akması
11. Elektrik akımı
12. Kırık bölgesinde denervasyon olması
13. Yeterli tespit yapılmaması veya tespit süresinin kısa tutulması (5, 7, 9,10,12).

2.15.2. Genel faktörler

2.15.2.1. Yaş

Azalan yaşla orantılı olarak mezenşimal hücre farklılaşması, yeni kemik dokusu gelişmesi ve kırığın yeniden şekillenmesi hızlanır (5,7,9).

2.15.2.2. Genel durum

Diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kırık iyileşmesini geciktirir. İltihabi olaylar (tüberküloz, kronik hastalıklar), hiperemi nedeniyle Ca^{+2} tuzlarının çözünmesini etkiler. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller (10).

2.15.2.3. Hormonlar

PTH, osteoklast sayısını artırıcı, kemiğin yeniden şekillenmesini uyarıcı ve osteositleri uyarak osteolizi hızlandırıcı etkileri vardır. Osteoblastların üzerine dolaylı etkisi olsa da, net sonuç kemik kaybı ve kırık iyileşmesinin yavaşlamasıdır (4,5,12,15). Kalsitonin PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hem de trabeküler kemik yapımını artırır. Kalsitonin dozu ve yeni kemik oluşumu arasında doğru orantı vardır, fakat iyileşmeyi olumlu yönde etkileme mekanizması henüz açıklanamamıştır. İnsülin ve büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Büyüme hormonu ve diğer anabolizan hormonlar, proteine bağlı Ca^{+2} artışını etkileyerek kırık iyileşmesine yardımcı olur. Büyüme hormonu, kallus hacminde artışa sebep olur. Tiroid hormonu da PTH gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder. Kırık iyileşmesine yardım ettiği ileri sürülmüştür (5,11). Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Mezanşimal

hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlattığından, kırık iyileşmesini geciktirir. Kortizon, aynı zamanda kallus oluşumunu azaltır. FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (11).

2.15.2.4. Vitaminler

A vitamini normal dozda mezanşimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine yardım eder. Eksikliğinde osteoblast düzenlenmesinde ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu engellenir (13,14,17). A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olmamasıyla birlikte kırık kolonlarında erozyon meydana gelir. Osteoklastlara dönüşüm fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi gecikir (11). C Vitamini, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkiler (19). D Vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D Vitamini eksikliğinde Ca^{+2} düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. Kalsiyumun kemikten kana geçişi yanında, kemik hücrelerinde sitrat üretimini artırır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Sonuç olarak; D Vitamini normal dozda kırık iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki eder (11). B6 Vitamini eksikliği ve K Vitamini antagonistleri kırık iyileşmesine olumsuz etki ederler (11,15,17).

Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. Deneysel çalışmalarda L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu artırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir (5,11). İndometazin yüksek dozlarda kırık iyileşmesini durdurduğu bilinmektedir. Lazer tedavisinin deneysel kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir (10,11).

2.15.2.5. Hiperbarik oksijen

Günde iki saat kadar 2-3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulamasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (11).

2.15.2.6. Kırık bölgesi egzersiz ve stresleri

İyi redükte ve tespit edilmiş kırık kemiklere erkenden fonksiyon ve kontrollü yük verilir veya yürütülürse kemik gelişimi uyarılarak iyi sonuç alınmaktadır (4,5,9,11,12).

Bunun nedeni PGE-2 miktarının artması ve bu bölge dolaşımına olumlu bir etkisi olmasıdır (6).

2.15.2.7. Elektriksel uyarım ve ultrason

Gecikmiş kaynama ve kaynamama tedavisinde elektromanyetik uyarı 1970’li yılların başından beri kullanılmakta ve %64 ile %85 arasında değişen başarı oranları bildirilmektedir, ancak hala taze kırıkların tedavisinde etkili olduğu ispatlanamamıştır (20).

2.16. Silimarin

2.16.1. Silimarinin tarihçesi ve günlük hayatta kullanım yerleri

Silybum marianum Akdeniz ülkelerinde ve Avrupa’da antik zamanlardan beri var olduğu bilinmektedir. 1. yy’da kullanımı kayıtlarda mevcuttur, ‘*Silybum*’ adı da 1. yy’da oluşmuştur. Hristiyanlığın ilk dönemlerinde Meryem Ana’ya adanmış ve ‘Marian Thistle’ adıyla anılmıştır. Efsaneye göre Meryem Ana bu bitkinin dalları altında dinlenip ve bir yandan da bebeği İsa’yı emzirirken, sütünün bir damlası bitkinin yaprakları üzerine düşmüş ve orada kalmıştır. Bitkinin yapraklarındaki beyaz izlerin bundan kaynaklandığına inanılır (21,22,23,24).

Hatta bu yüzden John Eveleyn emziren kadınlarda bitkiyi laktasyon artırıcı olarak da önermiştir. Theophrastus 4. yy’da *Silybum marianum*’dan *Pternix* adıyla bahsetmiştir. Dioscorides yılan ısırığında tedavideki değerinden bahsetmiştir, Plinius the Elder balla karıştırıldığında safra akışı üzerine artırıcı etkisinden söz etmiştir ki bu bitkinin karaciğer ile ilgili bir durumda kullanımına ilk referanstır ve bitkiyi *Silybum* adıyla ifade etmiştir. Roma ve Yunanistan’da yaşlanmaya karşı kullanılmıştır fakat esas etkileri karaciğer koruyucu ve yenileyici olmasıdır. Almanya’da Hildegard el yazması eserinde bitkinin kullanımını açıklamış ve onu Venus-vehedistel olarak adlandırmıştır. John Gerard 16. yy İngiliz herbalistlerindendir ve bu bitkiyi melankoliye tedavi ve karaciğer şikayetleri için önermiştir. İngiliz herbalist Nicholas Culpeper 1650’de karaciğerde ve dalakta farklı olgularda kullanımından bahsetmiştir, sıtma ateşine etkili olduğunu önermiştir. Albrecht Von Haller 1744’de *Medizinischen Lexicon* adlı çalışmasında karaciğer için kullanımından bahsetmiştir. 19. yy’da halk arasında bu bitkiden varislerde, menstruasyon şikayetlerinde, karaciğer tıkanıklıklarında, dalak ve böbrek problemlerinde faydalanılmıştır. Ayrıca yine 19. yy’da Almanya’da doktorlar bu bitkinin tohumlarından elde ettikleri ekstreyi sarılık ve diğer karaciğer şikayetlerinde kullanmışlardır. 20. yy başlarında bu bitki menstruasyon

problemlerinde, kolon düzensizliklerinde, karaciğer komplikasyonlarında ve safra taşlarında kullanılmaya başlanmıştır. 20. yy sonlarına doğru karaciğer toniği ve hazmı kolaylaştırıcı olarak kullanılmıştır. Bitki hakkındaki kapsamlı araştırmalar bundan 30 yıl öncesine dayanmaktadır (25,26,27,28,29,30).

Tohumdaki etken maddenin izole edilme çalışmaları 1958’ de başlamıştır. 1968’de H. Wagner tarafından silimarin elde edilmiştir. 1988 baskısı Herbal Medicine’ de Rudolf Fritz Weiss kullanım alanlarından ayrıntılı olarak söz etmiştir. Washington’ daki ulusal eczacılık kütüphanesinde bununla ilgili 300’den fazla çalışma kayıtlıdır. 2000 yıldır kullanılan *Silybum marianum* için ‘geçmişten geleceğe kutsanmış bitki’ diye söz edilmiştir (31,32,33).

1954’den beri bilim adamları bu bitkinin flavonoid içerdiğinin farkındaydı, ancak 1960’larda Alman bilim adamları bir grup etken madde keşfetmiş ve bunların hepsine birden ‘Silimarin’ ismini vermişlerdir. Alman Sağlık Komisyonu E’ye göre meyve ve tohumun standardize ekstresi dispeptik şikayetler, iştah kaybı, toksik karaciğer problemleri ve hepatik sirozda endikedir, karaciğer sağlığı için etkili ve güvenlidir. Tentürü ve nonstandardize ekstreleri safra kesesi problemleri, safra kesesi enflamasyonu ve hazımsızlıkta önerilmiştir (34,35,36).

Halk arasında astım, kanser, nezle, göğüs ağrısı, ödem, ateş, hepatit, sarılık, vajinal problemler, malarya, sıkıntı, nezle, spazm, dalak problemlerinde tedavi olarak kullanılır (37,38,39,40).

Dünya genelinde kullanılan adları : Marian thistle, St Mary’s thistle, Milk thistle, Our Lady’s thistle, Holy thistle, Venus Thistle, Heal Thistle, Chouk Jmal Guandoule, Wond of God’s Grace, Christ’s Crown olarak yazılabilir. Almanya’da Mariendistel, Fransa’da Chardon Marie, Çin’de Shui Fei Ji adıyla bilinir (41,42,43,44,45).

Türkiye’de ise mübarek diken, akkız, deve diken, Meryem ana diken, yabani enginar, deve kengeli, sütlü kengel, kengel, kıbbun, şevküleryem gibi adlarla anılmaktadır; toprak üstü kısımları, meyveleri ve tohumları drog olarak kullanılmaktadır (46,47,48).

2.16.2. Silimarinin genel özellikleri

Tablo 3: Silimarinin sistematikteki yeri

Bitkinin Sistematikteki Yeri
Bölüm: Spermatophyta
Altbölüm: Angiospermae
Sınıf: Dicotyledones
Takım: Campanulales
Familya: Asteraceae (Compositae)
Cins: Silybum L.
Tür: Silybum marianum L. (49,50)



Resim 1: Silimarin bitkisi ve tohumu

2.16.2.1. Cins ve Tür Özellikleri

- Asteraceae (compositae) : Çoğu Asteraceae bitkisi otsu formdadır, nadiren de olsa çalı yada ağaç şeklinde de görülebilir. Yaprakları oppozit, alternan veya tamamen tabanda toplanmıştır. Çiçek durumu büyükçe bir kapitulumdur, tabanında involukrum bulundurur. Çiçekler erdişi, tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Korolla beş petalli, bileşik petalli, tüpsü veya dilsidir; stamenler beş tanedir. Ovaryum alt durumlu ve iki karpelli, tek

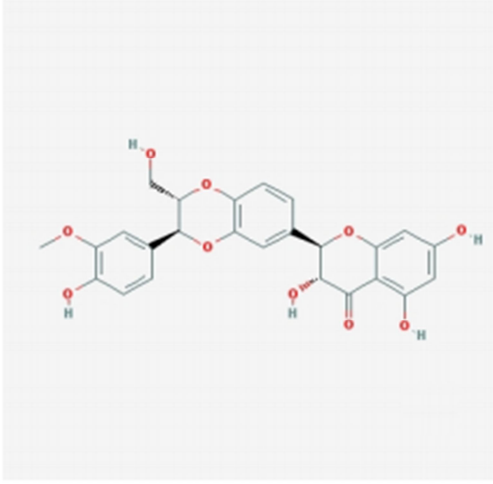
ovüllüdür. Meyve şekli akendir, çoğu zaman tepesinde papüs veya kaliks artığı taşır (49,50).

- Silybum L. Cinsi : İki yıllık bitki çeşitidir, basit ama genelde dallanmış, bazal yapraklar rozet şeklinde yükselmiştir. Yaprakları dikenli, kapitulum tek, homogam ve disk şeklindedir. İnvolutrum diken bulundurur. Çiçekleri pembeden mora kadar değişir. Korolla derin ve eğik 5 lobludur. Filamentleri tüylü, monodelf akenleri sıkı, obovat, düz, tepeleri koniktir. Hilum bazal, papüsün dış tüyleri skabroz, içtekiler kısa ve kapiler şeklinde beyaz veya bej renktedir (51,52).

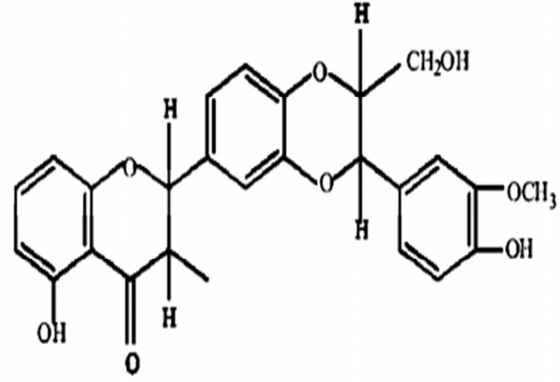
- Silybum marianum (L.) Gaertner (Carduus marianus L.) : Gövdesi köşeli, seyrek tüylü, 1-2 yıllık 40-150 cm'e kadar uzanan otsu bir bitki türüdür. Bu bitkiler erken filizlenip yeterince büyürse hayat döngülerini bir yılda tamamlar. Kış ve bahar fideleri iki yıllıktır. Filizlenme sonbahar ve ilkbaharda oluşur. Yağış sonrası fide verimlidir. Kuraklığa dayanıklıdır, güneşli yerleri ve taşlı toprağı sever. Yaprakları büyük lanseolat, kesik, yuvarlaktır, 20 cm uzunluğa 10 cm genişliğe ulaşabilir. Tepede çentikli pennatisekt, parlak yeşil renkli, beyaz damarlı, tüysüz, lobları kaba ve dikenlidir. Genç yapraklar oldukça yumuşaktır, alt yaprakları ise daha küçük ve az lobludur. Sapı sert ve siyahtır, enginara benzer ama yapraklarındaki beyaz lekeler karakteristiktir. Sap ve yaprak kırılınca süte benzeyen salgı görülmektedir. Çiçek durumu büyük bir kapitulumdur, 2-6 cm'e kadar büyüyebilmektedir. Çiçekler hermafrodit, parlak kırmızı-pembe veya eflatun-kahverengidir, borumsu ve yoğun dikenlidir. Çiçek açma zamanı Mayıs-Hazirandır, Ağustos'a kadar sürebilir, kışınsa rozet taşır. Her bir çiçek yaklaşık 190 tohum taşır, bu da her bitkide 6350 tohuma denk gelir. Meyveleri 7 mm uzunlukta, esmer-siyah renkli, obovoid, parlak, lekelidir. Sert, kısa, beyaz bir papüsü vardır, papüs tohumlar olgunlaştıktan sonra halka halinde düşer. Tohumlar 9 yıl süreyle kullanılabilir. Çoğalma da tohumlar yoluyla olmaktadır (48,49,50,51).

2.16.3. Silimarin'in kimyasal içeriği

Flavonoidler bitkiler tarafından sentez edilen antioksidan, anti inflamatuvar, antikanserojen etkilere sahip polifenolik bileşiklerdir (73). Yüzlerce yıldır hepatit ve siroz tedavisi için kullanılan ve deve dikenli bitkisinin özütünden elde edilen silimarin polifenolik bir flavonoiddir (Şekil 2 ve Şekil 3).



Şekil 1: Silimarinin 2 boyutlu şekli



Şekil 2: Silimarinin Kimyasal Formülü

- Flavonolignanlar : *Silybum marianum* tohumlarında bulunup, terapötik etkiden sorumlu gruptur. Flavonolignanlar % 1,5-3 oranında bulunurlar. Flavonolignanlar taksifolol adı verilen flavanole koniferil alkol katılımıyla oluşmaktadır. Silimarin bazı flavonolignanların bir karışımıdır. Silibin (silibinin), izosilibin (izosilibinin), silikristin, silidianin'den oluşmaktadır. Bu yapı 1968'de Wagner tarafından aydınlatılmıştır (52,53,54).

Standardize preparatlarda bu üç flavonolignan türevi maddenin oranı % 70-80 oranında mevcuttur. % 50'lik oranla en fazla bulunan madde ise Silibindir. Türkiye'de yetişenlerde silimarin oranı %1'in üzerindedir. Denizli civarından toplananlarda ise bu oran %2'yi geçmiştir (55,56).

- Flavonoitler : *Silybum marianum* meyvelerinde flavonoit yapısındaki apigenin, krisoeriol, eriodiktol, naringenin bulunur (57,58). Tohumunda flavonoit yapıdaki taksifoline de rastlanmıştır (59,60,61).

- Triterpenoitler : *Silybum marianum*'un tümünden marianin ve marianosit A-B adlı triterpenoitler elde edilmiş, yapıları dimensional NMR ile aydınlatılmıştır (62,63).

- Sabit Yağlar : *Silybum marianum* tohumları %20-30 oranında sabit yağ içermekte ; bu yağın %60' ı linoleik, % 30'u oleik ve % 9'u palmitik asittir (64,65,66).

- Diğer Bileşikler : Bunların dışında bitkinin toprak üstü kısımlarında; alüminyum, β-karoten, araşidik asit, manganez, fosfor, kalsiyum, krom, kobalt, demir, magnezyum, sodyum, çinko, potasyum, selenyum, fumarik asit ve protein bulunmuştur (67,68,69).

Bitkinin tohumu, ayrıca % 25-30 oranında protein, % 0,038 tokoferol, % 0,63 steroller, müsilaj, dehidrokoniferilalkol, histamin, kemferol, kesretin, taksifolin, tiramin içermektedir (70,71).

2.17. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlardan dolayı reaktiftirler (75).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir (75).

Süperoksit radikali; hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksit, hidrojen peroksitin kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. Süperoksit fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleştiğinde reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece NO etkisi inhibe edilir. Peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır (98).

Hidrojen peroksitin oluşması için, moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alarak veya süperoksitin bir elektron alarak peroksitin meydana gelmesi gerekir. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirir.

Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (99).

Hidroksil radikali; hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici reaksiyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Son derece reaktif bir oksidan türüdür. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (75).

Singlet oksijen; ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal iyonlarının başlamasına da sebep olur (100).

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller, peroksil radikalleri, alkoksil radikalleri, thiyl radikalleri, gibi önemli serbest radikaller de meydana gelirler (75).

Tablo 4: Serbest radikallerin kaynakları

Serbest Radikallerin Kaynakları	
Biyolojik kaynakları	İntraselüler kaynakları
<ul style="list-style-type: none">➤ Aktive olmuş fagositler➤ Antineoplastik ajanlar➤ Radyasyon➤ Alışkanlık yapan maddeler (alkol, uyuşturucular)➤ Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisidler,➤ Sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar) Stres .	<ul style="list-style-type: none">➤ Küçük moleküllerin otooksidasyonu➤ Enzimler ve proteinler➤ Mitokondrial elektron transportu➤ Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri➤ Peroksizomlar➤ Plazma membranı (Lipit peroksidasyonu)➤ Oksidatif stres yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon

2.18. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler (75).

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Lipit reaksiyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur.

Direk olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı

moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskositesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehit, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, malondialdehitin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (75).

2.19. Serbest Oksijen Radikallerinin Kırık İyileşmesindeki Roller

Bir kemik kırıldığı zaman kırık bölgesinde arteriyel vazokonstrüksiyon gelişim göstermektedir (81,82,83). Bunu takiben geçici bir iskemik periyot, arteriyel vazodilatasyon ve kırık bölgesinde reperfüzyonda bir artış gözlenmektedir, serbest radikallerin osteoblastlar üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini belirtmektedir (84,85,86). Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve etki mekanizmaları kırık iyileşmesi üzerine de olumsuz etkilerinin bulunabileceğini düşündürmektedir (87,88). Ayrıca ekstremitelerin ortopedik operasyonlarında kanamanın azaltılması, anatomik yapıların detaylı şekilde görünmesi amacıyla sıklıkla turnike uygulamaları yapılmaktadır. Turnike uygulamaları sırası ve sonrasında dokularda iskemi-reperfüzyon ve serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır (89,90,91).

Kırık iyileşmesi için çok önemli olan başlangıç fazında (ilk beş gün) lökosit, makrofaj ve mast hücreleri gibi inflamatuvar hücreler kırık bölgesine ulaşmaktadır (92,93). Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ile üretilen serbest oksijen radikallerinin granülasyon dokusunu bozduğu, yara iyileşmesini geciktirdiği bildirilmektedir. Lipid peroksidasyonunun osteoklastları direkt olarak aktive ederek kemik rezorpsiyonunu artırdığı bildirilmektedir (94,95).

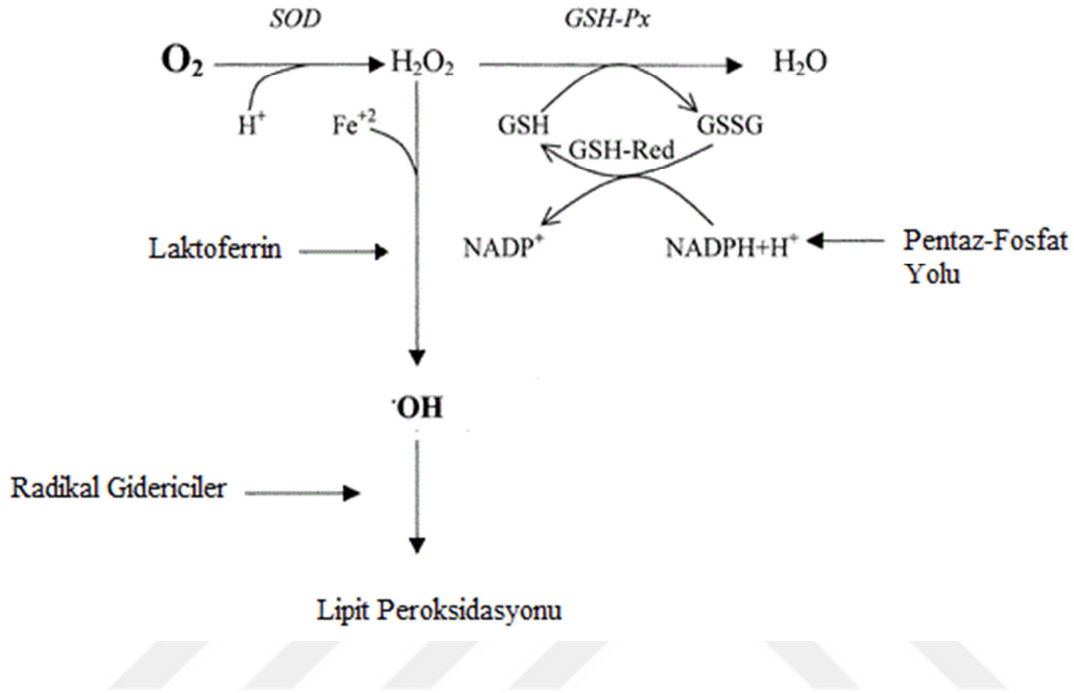
2.20. Biyokimyasal Çalışmada Kullanılan Oksidatif Stres Biyomarkerlar

2.20.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, metaloprotein yapısında bir enzim olup oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. McCord ve Fridovich tarafından bulunan bu enzim süperoksidin hidrojen perokside dönüşümü reaksiyonunu katalize eder.



Süperoksit dismutaz, bu reaksiyonda hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı SOD, CAT ve GSH-Px enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır (Şekil 3). Böylece oluşan H_2O_2 , CAT veya GSH-Px enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalının dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit doku için biyolojik avantaj sağlar (76).



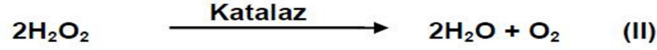
Şekil 3: Antioksidan savunma mekanizmaları

Süperoksit dismutazın bu reaksiyonu, oksidatif strese karşı ilk savunma olarak da adlandırılır. Çünkü O^{2-} , zincirleme reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Oksidan stresin arttığı durumlarda SOD aktivitesi artarak koruyucu etkinliği sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalma söz konusu olduğunda SOD aktivitesinde artma gözlenir. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki O^{2-} düzeyleri kontrol altında tutulur.

İnsanlarda SOD enzimi; sitozolik Cu/Zn-SOD; mitokondrial Mn-SOD; plazma, lenf ve sinovyal sıvılarda bulunan ekstrasellüler SOD olmak üzere 3 formda bulunur. SOD enziminin canlılardaki dağılımı katalaz ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir (76).

2.20.2. Katalaz (CAT)

Katalaz 60 kDa ağırlığında, tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren hem enzimdir. 240 kDa molekül ağırlığında her molekülde 4 adet ferriprotoporfirin içerir. CAT, hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler (77,78).



Katalaz, peroksisomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Düşük hızlarda, hidrojen peroksidin oluştuğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarlarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif reaksiyon ile;



Hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (77,78).

2.20.3. Malondialdehit (MDA)

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olup aldehit yapılı bileşiktir. Membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi intrinsek membran özelliklerini değiştirme yeteneğine sahip olması yanında DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir, amino grupları arasında çapraz bağlanmalara yol açabilir. Bu özellikleri ile MOD mutojenik, kültür hücreleri için genotoksik ve kansorejeniktir. Oksidan streste SOD ve CAT enzimleri yetersiz kaldığında serbest oksijen radikallerinin etkilerini hücre ve organel membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatarak göstermektedir. MDA, oksidan stresin spesifik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (79,80).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada 48 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı, Kahramanmaraş) kullanıldı. Çalışma öncesi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu ve Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan çalışma için gerekli olan izinler alındı. Çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı.

Çalışmaya dahil edilen sıçanların ortalama yaşı 6 ay ve ortalama ağırlıkları 300 gram idi. Hayvanlar rastgele olarak 3 gruba ayrılarak her bir kafeste 16 hayvan olacak şekilde laboratuvar ortamında preoperatif 24 saat süre ile izlendiler. Çalışma süresince sıçanlara limitsiz olacak şekilde musluk suyu (*ad libitum*) ve standart kemirgen yemi verildi. Hayvanlar 22 santigrad derece (°C) sıcaklıkta, 12 aydınlıkta ve 12 saat karanlıkta kalacak şekilde takip edildiler. Hayvanların fiziksel özellikleri ve hareketleri not edildi. Operasyon esnasında veya sonrasında antibiyotik profilaksisi yapılmadı. Operasyon sonrası hiçbir kafesten ölen sıçan olmadı. Çalışmanın geri kalan bölümünde de hiç hayvan kaybedilmedi. Takiplerde hiçbir sıçanda kırık yeri enfeksiyonu izlenmedi.

3.2. Kırık İyileşmesi Modeli

Gerekli takip ve hazırlıkları yapılan hayvanlar ameliyathaneye alındı. Her bir sıçanın ağırlığı elektronik tartı ile tartılarak anestezi ilaç dozu hesaplandı. Deney yapılacak laboratuvara getirilen hayvanlara intraperitoneal yoldan verilen 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile genel anestezisi sağlandı. Anestezi kombinasyonu intraperitoneal olarak sol kasık bölgesinden uygulandı. Anestezi yapılan hayvanlar yüzüstü pozisyonunda yatırıldı ve özel metal üç nokta prensibine uygun olarak literatürden yardım alınarak üretilen cihaz yardımı ile sağ arka ayaklarında (ratlarında) kırık oluşturuldu. Çalışmamızda kullanılacak denek hayvanları her grupta 16 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna ilk gün limitsiz olacak şekilde musluk suyu ve standart kemirgen yemi verildi. Sham grubuna ilk gün limitsiz olacak şekilde musluk suyu, standart kemirgen yemi ve serum fizyolojik verildi. Silimarin grubuna ilk gün limitsiz olacak şekilde musluk suyu, standart kemirgen yemi ve silimarin verildi. 3 grupta da ilk gün kırık oluşturulmadı, ikinci gün kırık oluşturuldu ve her gruptan sekizer hayvan alınarak toplamda yirmidört adet hayvan kurban edildi; biyokimyasal, histopatolojik ve

radyolojik olarak incelenmeye alındılar. Geride kontrol grubunda sekiz, sham grubunda sekiz ve Silimarin grubunda sekiz adet toplamda yirmidört adet hayvan kaldı.

Çalışma grupları:

Grup 1 (Kontrol) : Kırık rastgele alınan 16 adet ratın sağ tibiasından oluşturuldu. Kırık oluşturulan hayvanlara limitsiz olacak şekilde musluk suyu ve standart kemirgen yemi verildi.

Grup 2. (Sham) : Kırık rastgele alınan 16 adet ratın sağ tibiasından oluşturuldu. Kırık oluşturulan hayvanlara gavaj yoluyla serum fizyolojik verildi.

Grup 3 (Silimarin) : Kırık rastgele alınan 16 adet ratın sağ tibiasından oluşturuldu. Kırık oluşturulan hayvanlara gavaj yoluyla Silimarin verildi.

3.3. Yöntem

Tedavi boyunca kullanılacak olan Silimarin (deve diken i bitkisi özütü) ratların ortalama yaş ve ağırlıkları hesaplanarak toplam hayvan oranına bölünüp kırık oluşturulmadan bir gün önce başlanarak 21 gün boyunca gavaj yoluyla 50mg/kg/gün dozunda verildi. 3. bending metodu ile kapalı kırık oluşturduğumuz Silimarin grubu (8) ratlarımız kırığın hemen ardından sakrifiye edildi ve sağ tibiaları alındı (sıfırncı gün), kalan Silimarin grubu (8) ratlarımıza 21gün boyunca (yirmibirinci gün) Silimarin, yem ve su dışında hiçbir işlem yapılmadan iyileşmeye bırakıldı.

Tedavi boyunca kullanılacak olan serum fizyolojik 50 mg/kg/gün dozunda kırık oluşturulmadan bir gün önce başlanarak ve kırık oluşturulduktan sonraki 21 gün boyunca gavaj yoluyla verildi. Deneyin sağlıklı sonuç verebilmesi için Silimarin grubuyla aynı anda serum fizyolojik verilmeye devam edildi. Sıfırncı gün 3. bending methodu ile kapalı kırık oluşturduğumuz sham grubu (8) ratlarımız kırığın hemen ardından sakrifiye edildi ve sağ tibiaları alındı (sıfırncı gün), kalan sham grubu (8) ratlarımıza 21 gün boyunca serum fizyolojik 50 mg/kg/g dozunda, yem ve su dışında hiçbir işlem yapılmadan iyileşmeye bırakıldı.

Kontrol grubumuza ise ilk gün limitsiz olacak şekilde musluk suyu ve standart kemirgen yemi verildi. Sıfırncı gün, 3. bending metodu ile kapalı kırık oluşturduğumuz kontrol grubu (8) ratlarımız kırığın hemen ardından sakrifiye edildi ve tibiaları alındı, kalan kontrol grubu (8) ratlarımıza 21 gün boyunca limitsiz olacak şekilde musluk suyu ve standart kemirgen yemi dışında hiçbir işlem yapılmadan iyileşmeye bırakıldı.

Sıfır ve 21. gün ratlarımız ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi vesağ tibia örnekleri biyokimyasal, histopatolojikve radyolojik olarak incelenmeye tabi tutuldu.

Biyokimyasal, histopatolojikve radyolojik değerlendirmeler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya, Patoloji ve Radyoloji Anabilim Dalında yapıldı.





A



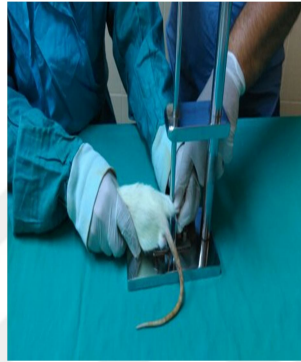
B



C



D



D



E



F



F



F



F

Resim 2: A. İntraperitoneal yoldan ketaminin verilmesi B. Gastrik lavaj yoluyla Silimarin ve serum fizyolojik verilmesi C. Özel metal üç nokta prensibine uygun olarak literatürden yardım alınarak üretilen cihaz D. Kırık oluşturulurken E. Ratlara limitsiz olacak şekilde musluk suyu (*ad libitum*) ve standart kemirgen yemi verilirken F. Tibialar çıkartılırken

3.4. Biyokimyasal Analizler

3.4.1. Homojenat hazırlama

Deneklerden MDA, SOD ve CAT analizi için alınan doku örnekler serum fizyolojik içerisine konarak analiz gününe kadar -20°C 'de donduruldu. İnceleme başlamadan hemen önce $+4^{\circ}\text{C}$ 'de erimeye bırakıldı. Eriyen doku örnekleri teker teker soğuklukları muhafaza edilerek tartıldı ve cam tüplere konuldu. Sıfır ve 21. günde alınan tibia kemik biyopsi örneklerine ağırlıklarına göre ortalama 3 ml %1,15 M KCl eklendi. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika süreyle homojenize edildi. Enzim aktivite kaybı olmaması için örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Daha sonra homojenatlar $14.000 \times \text{rpm}$ 'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika soğuk santrifüj edilerek süpernatantları ependorf tüplere ayrıldı. Bu ayrılan süpernatantlardan MDA, SOD, CAT ve protein düzeyleri ölçümleri yapıldı.

3.4.2. Protein düzeyinin tayini

Ayrıçalar

1. A çözeltisi:

%2 Na_2CO_3 2 g Na_2CO_3
0,1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. B Çözeltisi: B1 ve B2 çözeltilerinden oluşur.

a) B1 Çözeltisi:

%1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Saf ile 100 ml'ye tamamlanır.

b) B2 Çözeltisi:

%2 Na-K tartarat 2g Na-K
Saf ile 100 ml'ye tamamlanır.

3. C Çözeltisi : (Günlük hazırlanır)

50 ml A + 1 ml B (0,5 ml B1 + 0,5 ml B2) karıştırılır.

4. D Çözeltisi : (Günlük hazırlanır)

Folin Cioacaltea 1: 1,5 (v/v) oranında saf su ile sulandırılır.

Standart Eğrinin Çizimi

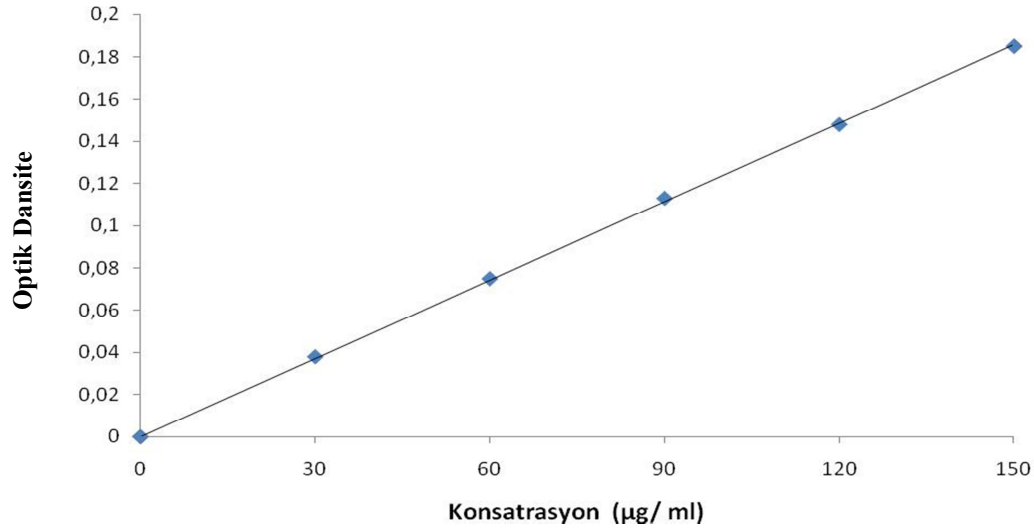
Stok standart için 0,3 g/dl bovin albumin hazırlanır. Hazırlanan stok standarttan 5 ml alınıp 100 ml'ye serum fizyolojik ile tamamlandığında $150 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyon elde

edilir. Bundan seri sulandırma ile 150, 120, 90, 60, 30 $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonlar elde edilerek (Tablo 5) 750 nm'de verdikleri absorpsanlar kaydedilir. Bu verilere göre konsantrasyon-absorpsan eğrisi çizilir ve her numune ölçümünde standart eğri tekrarlanır (Şekil 4).

Tablo 5: Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Tüp no Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Kör 0	1 30	2 60	3 90	4 120	5 150
Standart bovin albumin (ml)	-	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Serum fizyolojik (ml)	0.3	-	-	-	-	-
C Çözeltisi (ml)	3	3	3	3	3	3
15 dakika oda ısısında bekletilir						
D Çözeltisi (ml)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm'de köre karşı okunur.



Şekil 4: Protein standart eğrisi

Yöntem

Dokularından hazırlanan süpernatantta protein tayinini yapmak için üç tüp alınır ve çözeltiler aşağıdaki şekilde tüplere (Tablo 6) konulur.

Tablo 6: Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Serum fizyolojik	0.3	-	-
Standart	-	0.3	-
Süpernatant	-	-	0.3
C Çözeltisi	3	3	3
15 dakika oda ısısında bekletilir			
D Çözeltisi	0.3	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm’de köre karşı okunur.

Hesaplama

Doku örneğinin absorbansı standartın absorbansı ile karşılaştırılarak veya doğrudan standart eğrisinden değerlendirilir ve dilüsyon katsayısı ile çarpılarak sonuç verilir.

3.4.3. Malondialdehit (MDA) düzeyinin tayini

Aerobik şartlarda pH 3.40’de tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90-95 C°’de inkübasyonu sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA’nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan bu renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 532 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

Ayırıcılar

1. %8.1’lik SDS

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) 8.1 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. %20'lik Asetik Asit (HAc)

Asetik asit 20 ml

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır. (NaOH ile pH: 3.5 ayarlanır)

3. %0.6'lık TBA

Tiyobarbitürik asit (TBA) 0.6 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

4. n-Butanol/Piridin (nBu/Pri) Çözeltisi (14/1)

n-Butanol 14 ml

Piridin 1 ml

5. Stok Standart

1.1.3.3 tetramethoksiopropan (yoğunluk= 0.99 g/ml)

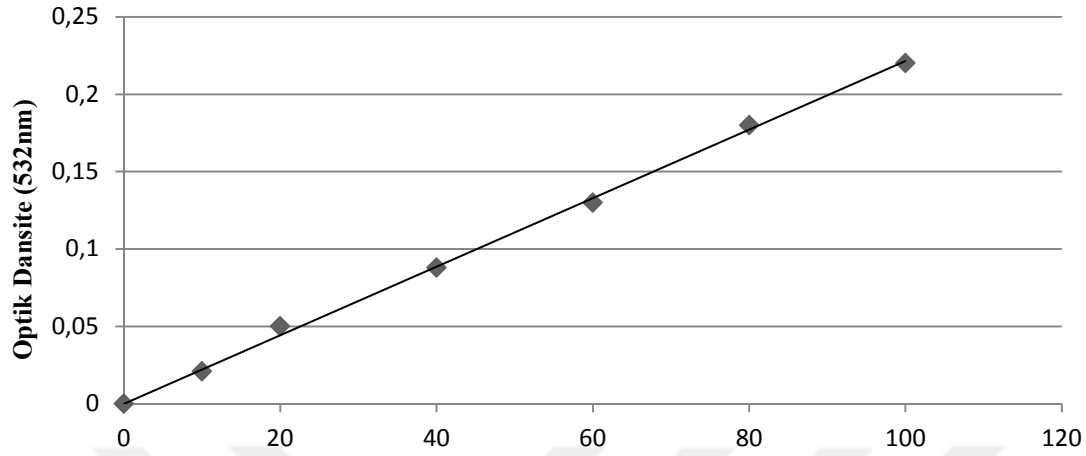
Standart Eğri Çizimi

Standart eğri çizimi yapılırken stok standarttan 6,6 µl alınıp 100 ml'ye saf su ile tamamlanarak günlük standart hazırlanır. Daha sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/ml konsantrasyonunda çalışma standartları hazırlanır. Ayraçlar tüplere aşağıda belirtildiği şekilde ilave edilirler (Tablo 7).

Tablo 7: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Tüp No.	0	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon(nmol/ml)	0	100	80	60	40	20	10
Standart (ml)	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
%8.1 SDS (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
%20 HAc (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
%0.8 TBA (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Saf su (ml)	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Vortekslenir, 95 C⁰ 30 dakika inkübe edilir, soğutulur							
Saf su (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
n-Bu/Pri (ml)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

Tüpler nBu/Pri ilavesinden sonra vortekslenir. Daha sonra 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım (üst faz) alınarak 532 nm’de absorbans fotometrik olarak okunur ve standart eğri grafiği çizilir (şekil 5).



Konsantrasyon(nmol/mL)

Şekil 5: MDA standart eğrisi grafiği

Yöntem

Örnek çalışması için yukarıdaki tabloda verildiği gibi tüpler belirli hacimde hazırlanır, süpernatant alınır ve MDA tayini yapılır. Ayrıntılı bilgi tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8: Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı

	Kör (ml)	Std (ml)	Örnek (ml)
Standart (60 nmol/ml)	-	0.1 ml	-
Süpernatant	-	-	0.1 ml
SDS	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Asetik Asit	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
TBA	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Saf su	0.8 ml	0.7 ml	0.7 ml
Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C°’de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur			
Saf su	1 ml	1 ml	1 ml
n-Bu/Pi	5 ml	5 ml	5 ml

Çözeltiler vortekslenir. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım alınarak 532 nm'de absorpsiyon okunur. Sonuç standart eğrisinden veya günlük standarttan değerlendirilir.

Hesaplama

nmol/ml olarak ölçülen MDA düzeyi hem nmol/mg protein hem de nmol/g doku birimlerinden verilmiştir.

$$\text{MDA Düzeyi (nmol/mg protein)} = \frac{\text{MDA değeri (nmol/ml)}}{\text{protein (mg/ml)}}$$

$$\text{MDA Düzeyi (nmol/gr doku)} = \frac{\text{MDA değeri (nmol/ml)} \times \text{süpernatant (hacim/ağırlık)}}{\text{doku ağırlığı (gr)}}$$

3.4.4. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini

SOD, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorid (piyodonitrotetra zolium viyole: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır, buaradaki farkın belirlenmesiyle de SOD aktivitesi ölçülür.

Ayırıcılar

1. CAPS Tamponu(3-sikloheksilamino)-1-propan sülfonik asit) (pH:10.2)

50.00 mM CAPS 1.1065 gr

0.94 mM EDTA 0,035 gr

Doymuş NaOH 11.1 µl

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. Substrat Karışımı

0.05 mM Ksantin 0,00076 gr

INT 0,001264 gr

CAPS tamponuyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. 80 Ü/L Ksantin oksidaz

50 Ü Ksantin oksidaz 3.04 µl

Saf su ile 1 ml'ye tamamlanır.

4. 0.01 M Fosfat tamponu pH 7.0

Na₂PO₄ 0,0553 g

NaH₂PO₄ 0,073 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

5. Standart (S6): 5.6 Ü/ml SOD içeren Ransod kitinin standardıdır.

Standart Eğri Çizimi

Liyofilize (hızlı dondurulmuş, mikroorganizma içermeyen, steril) olarak hazırlanmış SOD standardı 10 ml bidistile su ile sulandırılır. Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla Tablo 9'deki gibi hazırlanır. 2-8 °C'de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır.

Tablo 9: SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Kullanılacak Standartlar	Standart Solüsyonun Hacmi	M Fosfat Tamponunun Hacmi	SOD deriřimi (Ü/ml)
S5	6 ml S6	5 ml	2.8
S4	5 ml S5	5 ml	1.4
S3	5 ml S4	5 ml	0.7
S2	3 ml S3	5 ml	0.23

S1: Kör (fosfat tamponu)

Yöntem

SOD aktivite tayini için, örnek dokularından hazırlanan süpernatanttan aktivite tayini yapılır.

Tablo 10: SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı

	Kör (µl)	Standart(µl)
Standart	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
	Küvetler iyice karıştırılır.	
Ksantin oksidaz	125	125

Tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra çalışma körünün ve standartın 37°C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbanları (A1) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbanları (A2) tekrar okunur.

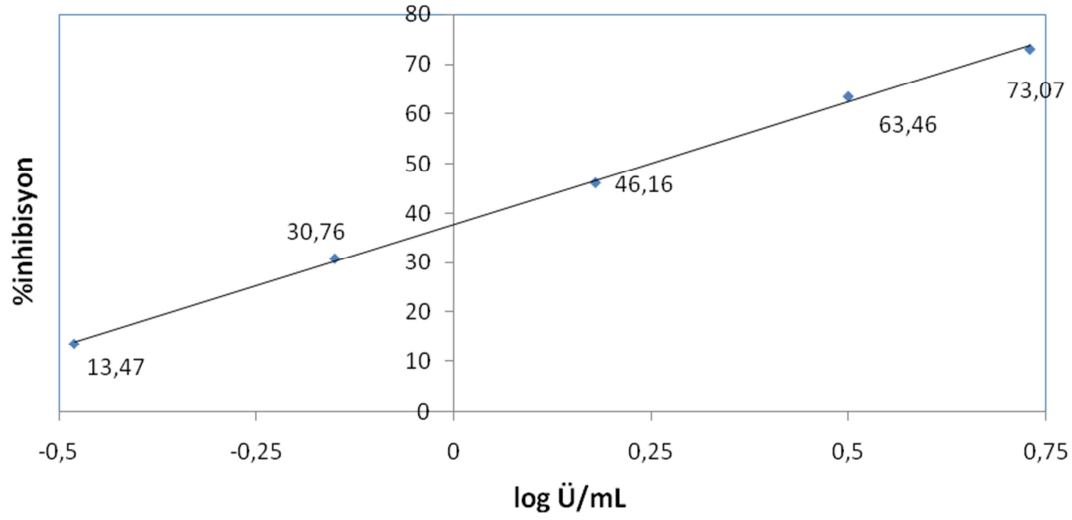
Hesaplama

Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak hesaplama yapılır.

$$\Delta A/\text{dak. standart} = A2-A1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = \frac{100 - \Delta A/\text{dak. standart} \times 100}{\Delta A \text{ çalışma körü}}$$

Hesaplama yapıldıktan sonra X yatay eksenine SOD derişimlerinin (Ü/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon değeri yazılarak standart eğri elde edilir (Şekil 6).



Şekil 6: SOD standart eğrisi

Örnek Çalışması

Tablo 11: Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars küvetlerin hazırlanışı

	Kör (µl)	Standart(µl)
Standart	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
Küvetler iyice karıştırılır.		
Ksantin oksidaz	125	125

Tüpler tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37° C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbans (A1) okunur. 3 dakika sonra absorbans (A2) tekrar okunur.

Hesaplama

$$\Delta A/\text{dak. standart} = A2-A1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = \frac{100 - \Delta A/\text{dak standart} \times 100}{\Delta A \text{ çalışma körü}}$$

Örneğe ait hesaplanan yüzde inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri standart eğri kullanarak bulunur. Ü/ml biriminden ölçülen SOD spesifik aktivitesi Ü/mg protein, ayrıca Ü/g doku birimlerinden verilmiştir.

$$\text{SOD Spesifik Aktivitesi (Ü/mg protein)} = \frac{\text{SOD değeri (Ü/ml)}}{\text{Protein (mg/ml)}}$$

$$\text{SOD Spesifik Aktivitesi (Ü/g doku)} = \frac{\text{SOD değeri (Ü/ml)} \times \text{homojenat hacmi (hacim /ağırlık)}}{\text{doku ağırlığı (g)}}$$

3.4.5. Katalaz (CAT) aktivite tayini

Katalaz, H₂O₂' nin yıkımını katalize eder. H₂O₂' nin CAT tarafından yıkım hızı, H₂O₂'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Ayırıcılar

1. 1M Tris-HCl, 5mM Na₂ EDTA tamponu, pH 8.0

Tris-Baz	5.358 gr
Tris-HCl	8,787 gr
Na ₂ EDTA	0.1461 gr

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. 1 M Fosfat tamponu, pH 7.0

K ₂ HPO ₄	6.723 gr
KH ₂ PO ₄	8.344 gr

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3. 10 mM H₂O₂

%30'luk peroksitten 10 µl alınır ve 9.990 µl saf suyla tamamlanır.

4. Stabilize edici çözelti

merkaptoetanol 0.05 ml

%10'luk Na₂EDTA ile 10 ml'ye tamamlanır.

5. Etanol (%95'lik)

Yöntem

Dokularından hazırlanan süpernatantın her 1 ml'sine 20 µl gelecek şekilde %95'lik etanol koyulur ve enzim aktivite tayini yapılır. Deneye başlamadan önce, günlük olarak hazırlanan 10 mM H₂O₂ konsantrasyonunun doğru ayarlanıp ayarlanmadığı fosfat tamponu ile kontrol edilir. Bunun için fosfat tamponu 1:10 oranında saf su ile sulandırılır, 1ml'lik

küvete 900 µl konur ve havaya karşı 230 nm dalga boyunda okunarak absorbansı kaydedilir (OD1 Ölçülen fosfat tamponun içine hazırlanan 10 mM'lık peroksitten 100 µl konur ve havaya karşı aynı dalga boyunda okunarak absorbansı kaydedilir (OD2). OD2-OD1=0.071 olduğunda, hazırlanan peroksitin konsantrasyonu tam 10 mM'dır denilir ve deneye aşağıda gösterilen prosedürde başlanır (Tablo 12).

Tablo 12: Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı

	Kör (µl)	Numune (µl)
1M Tris-HCl, 5mM Na ₂ EDTA tamponu,pH 8.0	50	50
10 mM H ₂ O ₂	-	900
Saf su	930	30
37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.		
Örnek (sulandırılmış)	20	20

Oluşan tepkime 1 cm ışık yolu kuvars küvetlerde, 37° C'de 230 nm'de 0., 2.5., 5. dakikalardaki absorbans değerleri ölçülerek izlenir. Doğrusal artış gösteren zaman aralığındaki optik dansite (OD) değerleri kullanılarak CAT enzim aktivitesi ölçülür.

Hesaplama

$$\text{CAT Aktivitesi (Ü/ml)} = \frac{\Delta\text{OD} \times \text{VT (1 ml)}}{0.071 \times \text{VH (0.02 ml)}}$$

ΔOD : Optik dansite değişimi

VH: Süpernatant hacmi

VT: Toplam hacim

0.071 : 10 mM H₂O₂ yıkım hızının verdiği OD değeridir.

Ü/ml biriminden ölçülen CAT spesifik aktivitesi Ü/mg protein, ayrıca Ü/g doku birimlerinden verilmiştir.

$$\text{CAT Spesifik Aktivitesi (Ü/mg protein)} = \frac{\text{CAT değeri (Ü/ml)}}{\text{protein (mg/ml)}}$$

$$\text{CAT Spesifik Aktivitesi (Ü/g doku)} = \frac{\text{CAT değeri (Ü/ml)} \times \text{homojenat hacmi (hacim/ağırlık)}}{\text{doku ağırlığı (g)}}$$

3.5. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme için doku örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 5 µm kalınlığında seri kesitler hazırlanarak hemotoksilen-eosin (HE) boyası ile boyandı. Işık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu.

3.6. Radyolojik İnceleme

Ratların sıfır ve yirmibirinci günlerde sakrifiye edildikten hemen sonra direk radyografiler alındı. Radyoloji uzmanı tarafından değerlendirildi.

3.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde ise gruplar arasındaki farkların incelenmesi için Non Parametrik Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde de Mann-Whitney U testi kullanıldı. Her iki test içinde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

4.1.1. Kemik dokusunda sıfır ve yirmibirinci günlerdeki SOD aktiviteleri

Tablo 13: Sıfırinci gündeki kontrol, sham ve Silimarin gruplarında her bir bireyin SOD aktivitesi

SOD Aktivitesi (Ü/mg protein)			
Rat No	Kontrol	Sham	Silimarin
1	0,209	0,415	0,656
2	0,300	0,209	0,741
3	0,220	0,187	0,683
4	0,175	0,294	0,715
5	0,188	0,308	0,553
6	0,221	0,426	1,397
7	0,161	0,170	0,267
8	0,165	0,166	1,261

Tablo 14: Yirmibirinci gündeki kontrol, sham ve Silimarin gruplarında her bir bireyin SOD aktivitesi

SOD Aktivitesi (Ü/mg protein)			
Rat No	Kontrol	Sham	Silimarin
1	0,192	0,416	0,382
2	0,218	0,387	0,303
3	0,185	0,399	0,390
4	0,203	0,402	0,394
5	0,179	0,387	0,417
6	0,198	0,396	0,379
7	0,211	0,412	0,385
8	0,201	0,389	0,406

4.1.2. Kemik dokusunda sıfır ve yirmibirinci günlerdeki CAT aktiviteleri

Tablo 15: Sıfır gündeki kontrol, sham ve Silimarin gruplarında her bir bireyin CAT aktivitesi

CAT Aktivitesi (Ü/mg protein)			
Rat No	Kontrol	Sham	Silimarin
1	0,126	0,437	0,195
2	0,484	0,692	0,313
3	0,343	0,754	0,421
4	0,432	0,355	0,632
5	0,381	0,392	0,565
6	0,755	0,110	0,285
7	0,102	0,451	0,148
8	0,206	0,692	0,666

Tablo 16: Yirmibirinci gündeki kontrol, sham ve Silimarin gruplarında her bir bireyin CAT aktivitesi

CAT Aktivitesi (Ü/mg protein)			
Rat No	Kontrol	Sham	Silimarin
1	0,680	1,491	1,372
2	0,480	1,427	1,223
3	0,574	1,012	1,102
4	0,592	1,231	1,354
5	0,497	1,145	1,241
6	0,543	1,468	1,258
7	0,655	1,396	1,420
8	0,488	1,265	1,485

4.1.3. Kemik dokusunda sıfır ve yirmibirinci günlerdeki MDA düzeyleri

Tablo 17: Sıfırıncı gündeki kontrol, sham ve Silimarin gruplarında her bir bireyin MDA düzeyleri

Sıfırıncı Günde MDA Düzeyleri (nmol/mg protein)			
Rat No	Kontrol	Sham	Silimarin
1	4,91	0,62	0,82
2	4,60	2,08	1,20
3	5,01	2,81	0,22
4	4,20	2,36	1,87
5	3,60	3,75	0,24
6	7,65	0,56	0,50
7	16,34	2,72	0,67
8	4,62	2,43	1,36

Tablo 18: Yirmibirinci gündeki kontrol, sham ve Silimarin gruplarında her bir bireyin MDA düzeyleri

MDA Düzeyleri (nmol/mg protein)			
Rat No	Kontrol	Sham	Silimarin
1	3,580	1,630	0,981
2	3,258	1,527	1,016
3	4,012	2,211	1,023
4	3,520	1,984	2,054
5	3,957	2,403	1,241
6	3,235	1,712	1,325
7	3,302	1,693	1,209
8	3,425	1,855	1,321

4.2. Kemik Dokusunda sıfır ve yirmibirinci günlerdeki SOD, CAT ve MDA Düzeylerinin İstatiksel Sonuçları

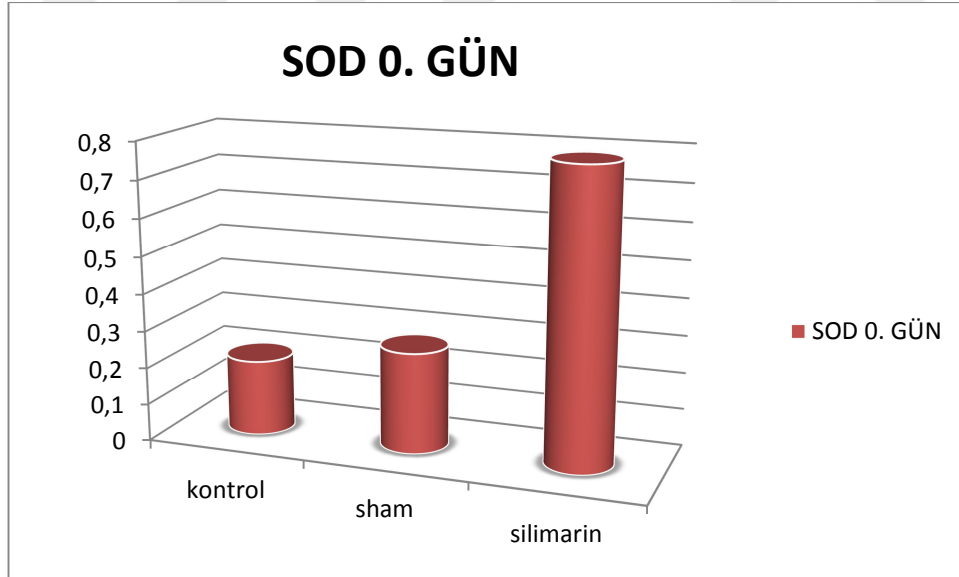
4.2.1. Kemik dokusunda sıfırncı günlerdeki SOD düzeylerinin istatistiksel sonuçları

Tablo 19: Sıfırncı gündeki tüm gruplardaki SOD bulguları

GRUP ADI	SOD (Ü/mg protein)		
	n	Ort ± SD	Min-Max
GRUP 1 (Kontrol)	8	0,204±0,045**	0,161-0,300
GRUP 2 (Sham)	8	0,271±0,106**	0,166-0,426
GRUP 3 (Silimarin)	8	0,784±0,369*	0,267-1,397

*p<0,05, **p>0,05

Gruplar arasındaki sıfırncı gündeki SOD aktiviteleri kıyaslandığında, Silimarin grubunda SOD aktivitesinin kontrol ve sham gruplarına kıyasla anlamlı şekilde arttığı (p<0,05) ve kontrol ve sham gruplarının SOD aktivitesi yönünden anlamlı farklılık göstermediği saptandı (p>0,05) (Şekil 7).



Şekil 7: Gruplar arası SOD 0. gün düzeyleri

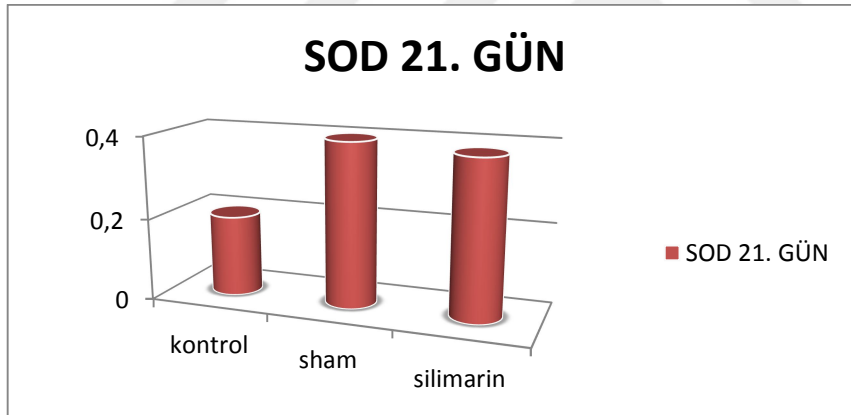
4.2.2. Kemik dokusunda yirmibirinci günlerdeki SOD düzeylerinin istatistiksel sonuçları

Tablo 20: Gruplar arası yirmibirinci gündeki SOD bulguları

GRUP ADI	SOD (Ü/mg protein)		
	n	Ort±SD	Min-Max
GRUP 1 (Kontrol)	8	0,198±0,012*	0,179-0,218
GRUP 2 (Sham)	8	0,398±0,011**	0,387-0,416
GRUP 3 (Silimarin)	8	0,382±0,034**	0,303-0,417

*p<0,05, **p>0,05

Gruplar arasındaki yirmibirinci gündeki SOD aktiviteleri kıyaslandığında, Silimarin ve sham gruplarındaki SOD aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı (p<0,05) ve sham ve Silimarin gruplarının SOD aktivitesi yönünden anlamlı farklılık göstermediği bulundu (p>0,05) (Şekil 8).



Şekil 8: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki SOD düzeyleri

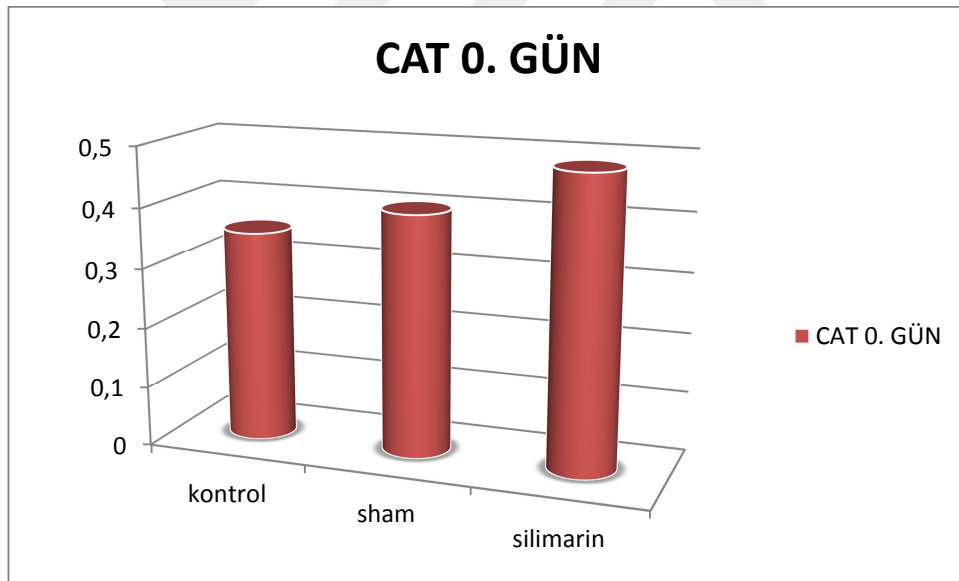
4.2.3. Kemik dokusunda sıfırıncı günlerdeki CAT düzeylerinin istatistiksel sonuçları

Tablo 21: Gruplar arası sıfırıncı günlerdeki CAT bulguları

GRUP ADI	CAT (Ü/mg protein)		
	N	Ort±SD	Min-Max
GRUP 1 (Kontrol)	8	0,353±0,214*	0,102-0,755
GRUP 2 (Sham)	8	0,403±0,199*	0,148-0,666
GRUP 3 (Silimarin)	8	0,485±0,216**	0,110-0,754

*p<0,05, **p>0,05

Gruplar arasındaki sıfırıncı gündeki CAT aktiviteleri kıyaslandığında, Silimarin grubundaki CAT aktivitelerinin kontrol ve sham grubuna göre anlamlı şekilde arttığı tesbit edildi (p<0,05) (Şekil 9).



Şekil 9: Gruplar arası sıfırıncı günlerdeki CAT düzeyleri

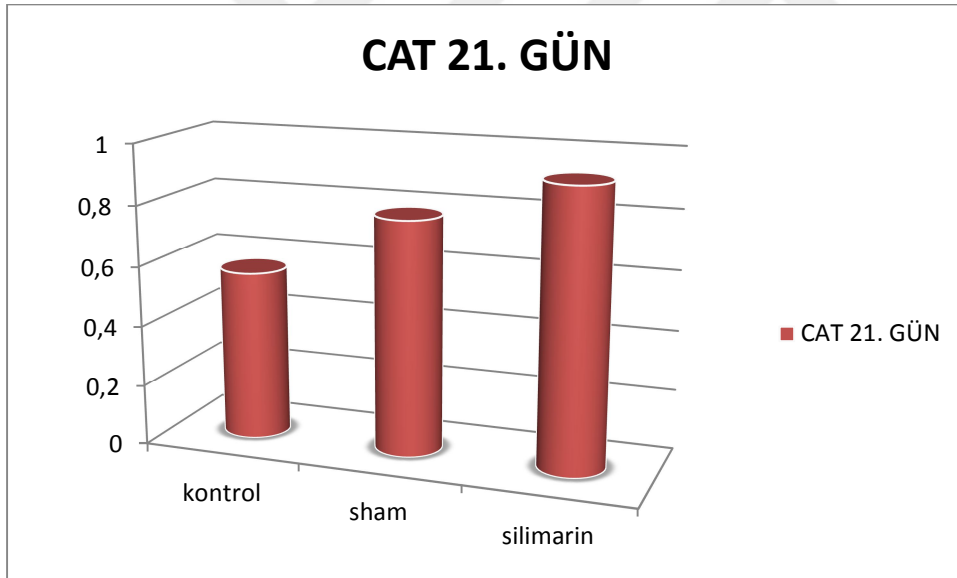
4.2.4. Kemik dokusunda yirmibirinci günlerdeki CAT düzeylerinin istatistiksel sonuçları

Tablo 22: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki CAT bulguları

GRUP ADI	CAT (Ü/mg protein)		
	n	Ort±SD	Min-Max
GRUP 1 (Kontrol)	8	0,563±0,075*	0,480-0,680
GRUP 2 (Sham)	8	0,778±0,227**	0,541-1,145
GRUP 3 (Silimarin)	8	0,923±0,276**	0,400-1,241

*p<0,05, **p>0,05

Gruplar arasındaki yirmibirinci gündeki CAT aktiviteleri kıyaslandığında, Silimarin ve sham gruplarındaki CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı tesbit edildi (p<0,05) (Şekil 10).



Şekil 10: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki CAT düzeyleri

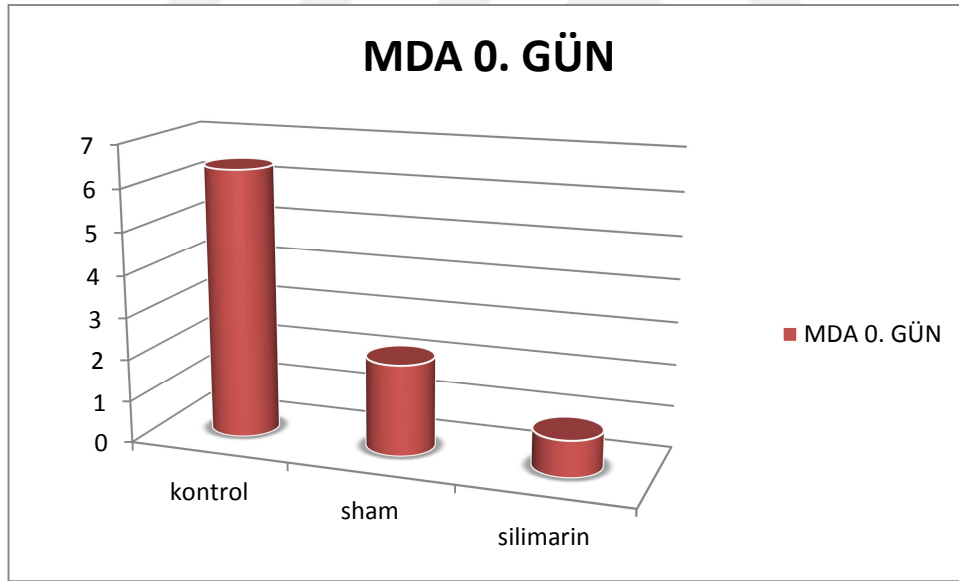
4.2.5. Kemik dokusunda sıfıncı günlerdeki MDA düzeylerinin istatistiksel sonuçları

Tablo 23: Gruplar arası sıfıncı günlerdeki MDA bulguları

MDA (nmol/mg protein)			
GRUP ADI	n	Ort±SD	Min-Max
GRUP 1 (Kontrol)	8	6,366±4,201*	3,600-16,340
GRUP 2 (Sham)	8	2,166±1,089*	0,560-3,750
GRUP 3 (Silimarin)	8	0,860±0,579*	0,220-1,870

*p<0,05

Gruplar arasındaki sıfıncı gündeki MDA düzeyleri kıyaslandığında, Silimarin grubundaki MDA düzeyinin kontrol ve sham gruplarına kıyasla anlamlı şekilde düşük olduğu (p<0,05), yanısıra Kontrol grubunun MDA düzeyinin silimarin ve sham gruplarına kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı (p<0,05) (Şekil 11).



Şekil 11: Gruplar arası sıfıncı günlerdeki MDA düzeyleri

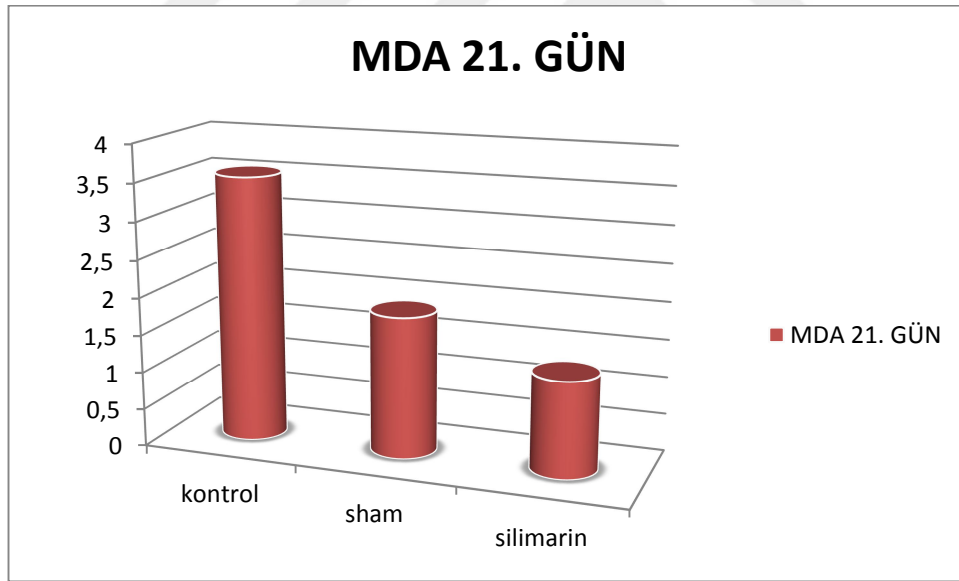
4.2.6. Kemik dokusunda yirmibirinci günlerdeki MDA düzeylerinin istatistiksel sonuçları

Tablo 24: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki MDA bulguları

MDA (nmol/mg protein)			
GRUP ADI	n	Ort±SD	Min-Max
GRUP 1 (kontrol)	8	3,536±0,302*	3,235-4,012
GRUP 2 (Sham)	8	1,876±0,303*	1,527-2,403
GRUP 3 (Silimarin)	8	0,2713±0,345*	0,981-2,054

*p<0,05

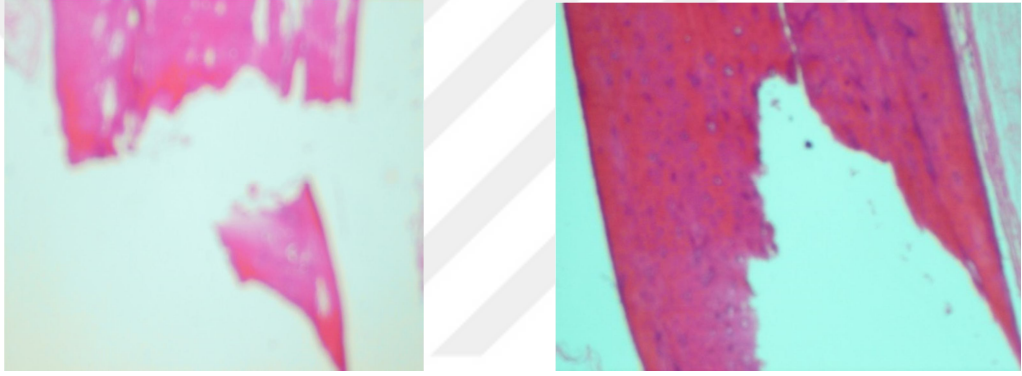
Gruplar arasındaki sıfırıncı gündeki MDA düzeyleri kıyaslandığında, Silimarin grubundaki MDA düzeyinin kontrol ve sham gruplarına kıyasla anlamlı şekilde düşük olduğu (p<0,05), bununla birlikte Kontrol grubunun MDA düzeyinin Silimarin ve sham gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı (p<0,05) (Şekil 12).



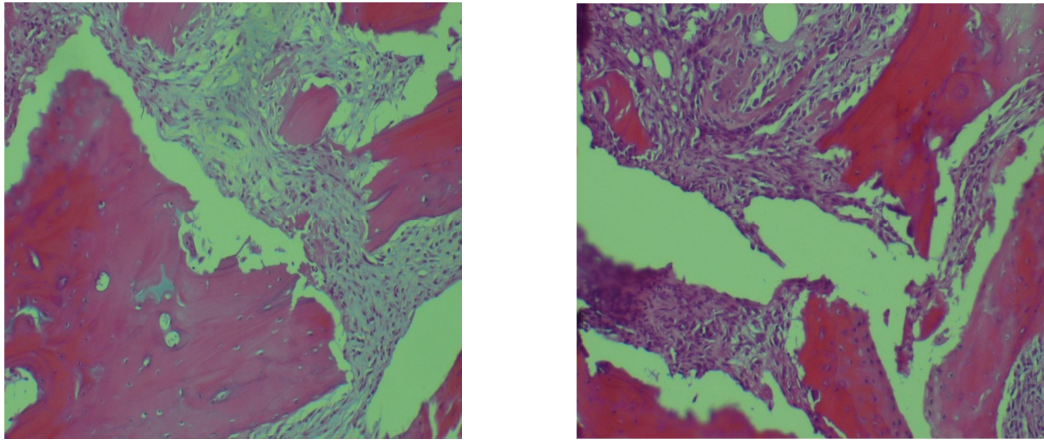
Şekil 12: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki MDA düzeyleri

4.3. Histopatolojik Bulgular

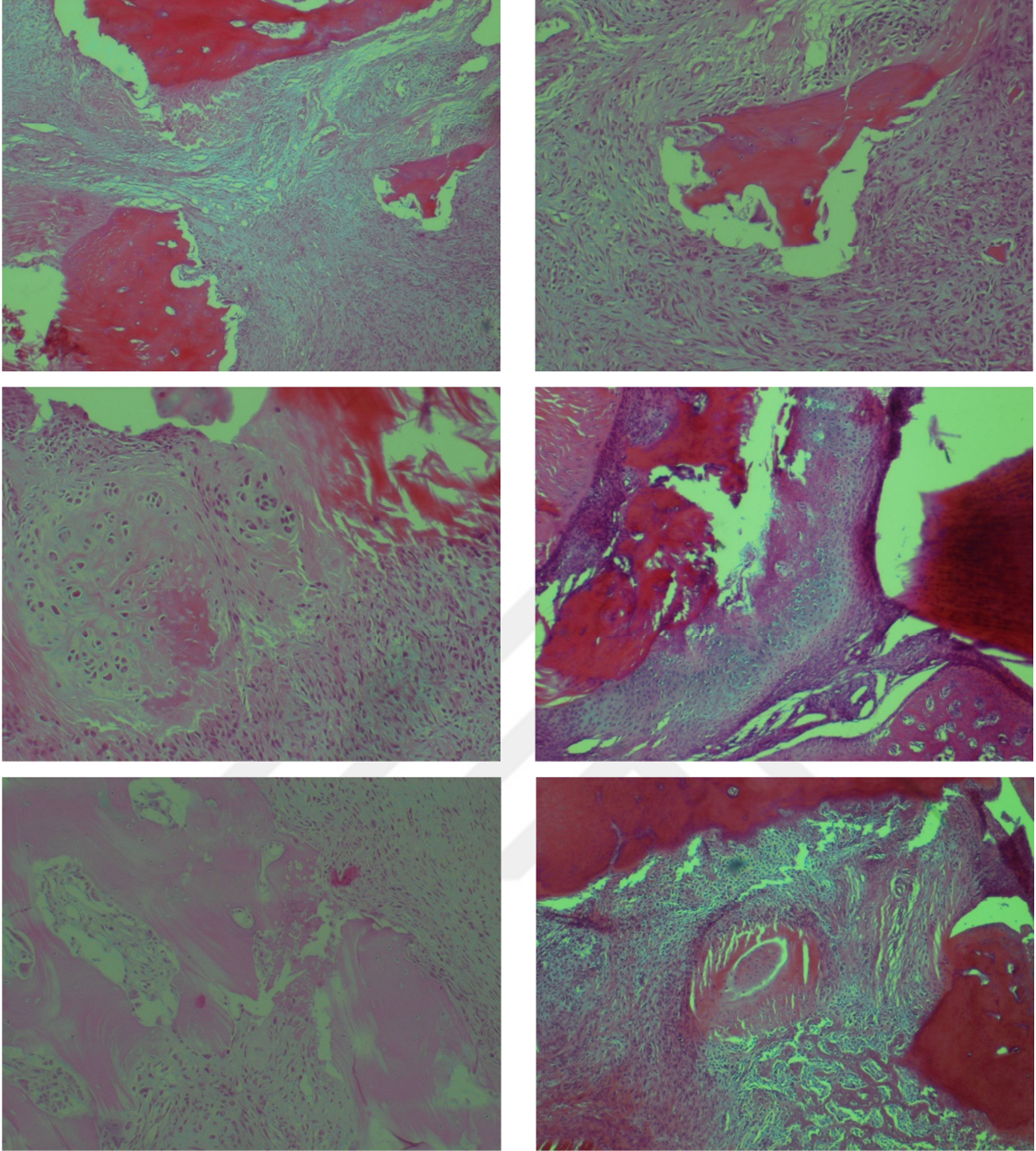
Kemik dokusunun histopatolojik incelenmesinde gruplar; vaskülarizasyon, fibrokartijelanoz, osseöz kallus ve osteoblastik aktiviteye göre değerlendirildi. Buna göre; yirmibirinci günün sonunda kırık hattının iyileşmesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Silimarin grubunda kallusun hem daha erken geliştiği ve kallus alanının daha büyük ve kallus yoğunluğunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yanısıra, Silimarin grubunda osteoblastik aktivitenin daha yüksek olduğu ve daha çabuk osseöz forma dönüştüğü gözlenmiştir. Sham grubuna göre, Silimarin grubunda fibroblastik aktivitenin fazla olduğu, bunun takibinde belirgin kartilaj dokusu ve belirgin kemik dokusunun geliştiği gözlendi (Resim 2, 3 ve 4).



Resim 3: Kırık oluşumundaki histopatolojik değişimler.



Resim 4: Sham grubu: Minimal düzeyde kartilaj gelişimi, az miktarda fibroblastik aktivite artışı ve vaskülizasyon.



Resim 5: Silimarin grubu: Belirgin fibroblastik aktivite artışı, belirgin kartilaj oluşumu ve osseoz gelişimi ve yeni kemik oluşumu.

4.4. RADYOLOJİK BULGULAR

Silimarin uygulanan grup, serum fizyolojik uygulanan sham grubu ve herhangi bir ilaç uygulanmayan kontrol grubundaki sıçanlar sıfırncı ve yirmibirinci günlerde anestezi altında sakrifiye edildi. İşlem sonrası sağ arka tibialar yumuşak dokularından kabaca sıyrıldıktan sonra röntgen kasetlerine yerleştirilerek ön-arka ve yan planda direk radyografileri çekildi. Tüm grafiler deneyden bağımsız bir radyolog (M.Y) tarafından

değerlendirildi. Sıfırncı gün kontrol, sham ve Silimarin grubunun tibialarının diafiz kısmı kesiminde deplase görünümde tek hatlı kırık (fraktür) izlendi. Yirmibirinci gün kontrol grubunun radyografisinde her iki tibiaya yönelik fraktür hatları izlenmiştir. Yirmibirinci gün sham ve Silimarin grubu radyografilerinde ise; belirgin iyileşme söz konusu olup bu incelemelerde fraktür hatları seçilmemiştir.

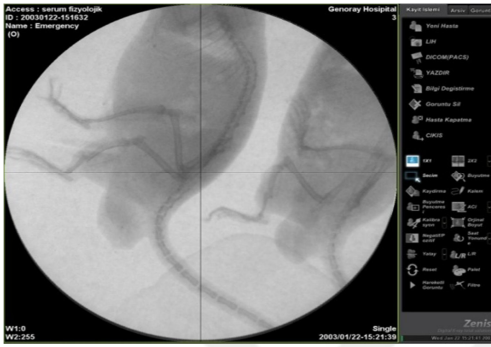




A



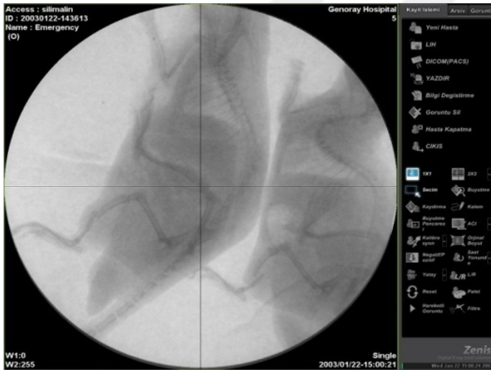
B



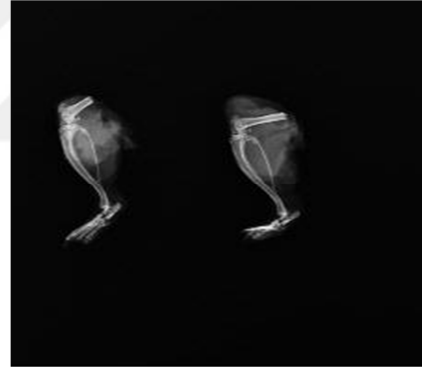
C



D



E



F

- Resim 6:** **A:** Kontrol grubununsıfırncı gündeki kırık durumları
B:Kontrol grubunun yirmibirinci gündeki kırık durumları
C: Sham gurubunun sıfırncı gündeki kırık durumları
D: Sham gurubunun yirmibirinci gündeki kırık durumları
E: Silimarin grubununsıfırncı gündeki kırık durumları
F: Silimarin grubunuyirmibirinci gündeki kırık durumları

5. TARTIŞMA

Bir kemik kırıldığı zaman kırık bölgesinde arteriyel vazokonstrüksiyon gelişmektedir. Bunu takiben geçici bir iskemik periyot, arteriyel vazodilatasyon ve kırık bölgesinde reperfüzyonda bir artış olmaktadır . Serbest radikallerin osteoblastlar üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini bildirmektedirler. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve etki mekanizmaları kırık iyileşmesi üzerine de olumsuz etkilerinin bulunabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca ekstremitelerin ortopedik operasyonlarında kanamanın azaltılması, anatomik yapıların detaylı şekilde görünmesi amacıyla sıklıkla turnike uygulamaları yapılmaktadır. Turnike uygulamaları sırası ve sonrasında dokularda iskemi-reperfüzyon ve serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır (86).

Ratlarda yaptıkları bir çalışmada, iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarında serbest radikaller ve bu hasara karşı vücutta koruyucu bazı değişikliklerin oluştuğunu ve bu değişikliklerden kan, kemik ve kas dokuları içerisinde en az etkilenen dokunun kas dokusu olduğunu bildirmişlerdir.

Kırık iyileşmesi, halen Ortopedinin detayları tam olarak çözülemeyen konularından biridir. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler ve iyileşmenin hızlandırılması araştırmacıların üzerinde çalıştığı popüler konularından biridir. Özellikle kırık iyileşmesini hızlandırmak için çok çeşitli çalışmalar düzenlenmektedir. Ayrıca sık kullanılan ilaçların kırık iyileşmesi üzerine etkileri de literatürde önemli bir yer tutmaktadır. Kırık iyileşmesi için çok önemli olan başlangıç fazında (ilk beş gün) lökosit, makrofaj ve mast hücreleri gibi inflamatuvar hücreler kırık bölgesine ulaşmaktadır. Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ile üretilen serbest oksijen radikallerinin granülasyon dokusunu bozduğu, yara iyileşmesini geciktirdiği bildirilmektedir (86).

Lipid peroksidasyonunun osteoklastları direkt olarak aktive ederek kemik rezorpsiyonunu artırdığı bildirilmektedir. Antioksidan sistemin düşük aktivitesi ve kemik demineralizasyonu ile serbest radikal düzeyindeki artış arasındaki ilişkiden bahsetmişlerdir. E vitamininin antioksidan özelliği nedeniyle kemik rezorpsiyonu ve kaybını azalttığını bildirmişlerdir. Besinlerde yetersiz vitamin E bulunan ratlarda kalsiyum emiliminin ve kemiklerdeki kalsiyum depolanmasının azaldığını bildirmişlerdir. Oksidatif stresin artışıyla kemik dansite-sindeki azalma arasında ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Serbest radikal toplayıcısı olan Vitamin C'nin kemik mineral dansitesinde yararlı etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir. Sıçanlarda yaptığı bir çalışmada serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesinde önemli rollerinin bulunduğu ve kırık iyileşmesini bozduğunu

bildirmiştir (101). Tavşanların kırık hematomu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, alfa-tokoferolün kırık hematomunda oluşan serbest oksijen radikalleri üzerinde antioksidan bir etkiye sahip olduğunu ve serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir (86). Vitamin E'nin trabeküler kemik formasyonunu stimüle ettiğini, osteoprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Köpeklerde deneysel radius kırıklarında, kırık oluşumundan sonraki ilk 7 gün süreyle 20 mg/kg dozunda intramusküler yolla D1-alfa tokoferol asetat verdikleri bir çalışmada, D1-alfa tokoferol asetat'ın erken dönemde (ilk 15 günde) kırık iyileşmesini artırıcı etkisini serbest oksijen radikalleri üzerine antioksidan etki göstermesine bağlamışlardır (101).

Çalışmamızda Silimarin'in kemik formasyonunu stimüle ettiği ve osteoprotektif etki gösterdiği gözlenmektedir. SOD ve CAT aktivitelerinin kırık oluşumundan 1 gün önce verilmesi sıfırıncı gündeki antioksidan enzim indüksiyonuna neden olduğu ve MDA düzeyini düşürdüğü gözlenmiştir. Buna karşılık yirmibirinci gündeki Silimarin ve sham grubundaki SOD ve CAT antioksidan enzim düzeylerinin normale yaklaşması kırık iyileşmesine paralel olarak gerçekleştiğini işaret etmektedir. MDA'nın oksidatif stresin önemli indikatörü olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir. Yirmibirinci günde Silimarin grubunda MDA düzeyinin çok düşük olması oksidatif stresin yok denecek şekilde azaldığı histopatolojik olarak fibroblastik aktivitenin belirgin şekilde artışı ve kartilaj dokusunun gelişimi Silimarinin osteoklastları direkt olarak aktive ederek kemik rezorpsiyonunu artırdığı düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Silimarin'in kırık iyileşmesi üzerine etkileri değerlendirildiği bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

6.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması, bugün bilinmeyen pek çok klinik durumun patogenezisine açıklık getirecektir. İncelenen çalışmaların değerlendirilmesi sonucunda kırık oluştuktan hemen sonra (erken dönemde) gavaj olarak verilecek silimarin'in kırık iyileşmesini artırıcı yönde olumlu etkilerinin olacağı kanısına varılmıştır.

6.2. Histopatolojik Sonuçlar

Silimarin grubunda kontrol grubuna göre:

- Kemik öncüsü hücrelerinin farklılaşmasının daha çabuk olduğu tesbit edilmiştir.
- Kallusun 21 günlük peryotta daha hızlı prokallustan fibrokartijelanoz ve osseöz kallusa geçtiği görülmüştür.
- Osteoblast miktarının ve osteoblastik aktivitenin arttığı fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
- Vaskularizasyonun kontrol grubuna göre az fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

6.3. Radyolojik Sonuçlar

Sham ve Silimarin grubunda, kontrol grubuna oranla belirgin iyileşme söz olup bu incelemerde fraktür hatları görülmemiştir. Sonuçlar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında anlamlı bir farksaptandı.

7. ÖNERİLER

Silimarinin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi amacıyla yapılan bu çalışma neticesinde; histolojik olarak Silimarin'in kırık iyileşmesini hızlandırdığı, histolojik olarak kaynamayı hızlandırdığı gösterilmiştir. Radyolojik bulgular neticesinde de Silimarin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisi olduğu görülmüştür. İstatiksel olarak anlamlı olarak da Silimarin uygulanan grupta fibroblastik aktivite belirgin olarak da yüksekti.

Kırık iyileşmesini hızlandırmak için Silimarin kullanılabilir. Bu çalışmada biyomekanik inceleme yapılamamıştır. Silimarin'in, kırık iyileşmesi üzerine etkilerini daha detaylı incelemek için daha fazla sayıda denek üzerinde, biyomekanik ve biyokimyasal incelemeler de eklenerek yapılabilir.



8. KAYNAKLAR

1. Indian J Med Res. Hepatoprotective herbal drug. Silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine Pradhan SC 2006; 124: 491-504.
2. Bio D. Silymarin are view of its clinical properties in the management of hepatic disorders. Wellington K 2001; 15: 465-89.
3. Am Fam P. Milk thistle. Rainone F 2005; 72: 1285-8.
4. Jungueria Carlos L, Carnerio J, Kelley O. Bone In *Basic Histology*. Appleton and Lange, New Jersey 1995; 132-151.
5. Brinker Mark R, O'Connor D. Kemik. In: Miller M (Ed) *Miller'in Ortopedi Kitabı*. Çeviri editörleri Yetkin H. Yazıcı M. Ankara. Adya 2006; 1-44.
6. Aydın B K. Pentoksifilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 1.Ortopedi ve Travmatoloji 2007.
7. Wilkins K. Travma. In Lynn Staheli (Ed) *Pediyatrik Ortopedi*. Çeviri editörü Yalçın S. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul 2005; 203-260.
8. Kiter A.E. Ortopedinin tarihçesi. 2012 <http://esatkiter.com/YaziDetay.aspx?yaziID=15> 2017.
9. Schenk Robert K. Biology of fracture. In Browner B. Jupiter J. Levine A. Trafton P (Eds) *Skeletal Trauma*. Saunders. Philadelphia 2003; 1: 29-74.
10. Us AK. Kırıklar hakkında genel bilgiler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü Ders Notları. Ankara 2005.
11. Kılıçoğlu S S. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55: 143-150.
12. Brond AR. Rubin TC. Fracture Healing. In *Surgery of the Musculoskeletal System*. ChurchillLivingstone, New York 1990; 1: 93-114.
13. Khan SN. Bone growth factors. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 375-388.
14. Miller Mark D. Bone In Miller M (Ed) *Review of Orthopaedics*. Saunders. Philadelphia. 1996; 1-22.
15. Gartner Leslie P, Hiatt James L. Cartilage and bone. *Color Textbook of Histology*. Saunders. Saint Louis 1997; 114-13.
16. Kayaalp Oğuz S. Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaacılık. Ankara 1992; 1200-1201.
17. Cruess R L. Healing of bone. Tendon and ligament In *Fractures*. Philadelphia. Lippincott Compan 1984; 1: 147-167.
18. Ozaki A. Role of fracture hematoma and periyosteum during fracture healing in rats interaction of fracture hematoma and the periyosteum in the initial step of the healing process. *J. Orthop. Sci* 2000; 5: 64-70.

19. Yılmaz C, Erdemli E, Selek H, Kınık H, Arıkan M. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Trauma Surg* 2001; 121: 426–8.
20. Wood G. General principles of fracture treatment. In Canale (Ed) *Campell' Operative Orthopaedics*. Mosby. Philadelphia 2003; 2669-2724.
21. Ahmed E, Malik A, Ferheen S, Afza N, Azhar U, Lodhi M.A, Choundhary M.I. Chymotrypsin inhibitory triterpenoids from *Silybum marianum*. *Chem Pharm Bull Tokyo* 2006; 54: 103-6.
22. Aktay G, Deliorman D, Ergun E, Ergun F, Yeşilada E, Çevik, C. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *J. of Ethnopharm* 2000; 73: 121-129.
23. Angeles Sanchez-Sampedro M, Fernandez-Tarrago J, Corchete P. Enhanced silymarin accumulation is related to calcium deprivation in cell suspension cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *J Plant Physi* 2005; 162: 1177-82.
24. Artele G, Marsano L, Bentley F, McClain C.S, Advances in Alcoholic liver disease. *Best Prac and Res. Clin Gastroenter* 2003; 17: 625-647.
25. Bai T C, Yan G B, Hu J, Zhang H L, Huangh C G. Solubility of silybin in aqueous poly(ethylene glycol) solution. *Int J Pharm* 2006; 308: 100-6.
26. Balian S, Ahmad S, Zafar R. Antiinflammatory activity of leaf and callus of *Silybum marianum* (L.) Gaertner in albino rats. *Indian J. of Pharm* 2006; 38: 213-214.
27. Barrite D, Jacobson I.M, Esposito S, Russo M.W. The effects of Milk Thistle (Silymarin) on serum alanine aminotransferase C and viral levels in patients with chronic hepatitis C. *The American J. of Gastroenter* 2002; 96: 117.
28. Blumenthal M. *Herbal Medicine Expanded Commission E Monographs*. Integrative Med. Comm 2000; 257-263.
29. Breschi M, Martinotti E, Nieri P. Protective effect of silymarin in antigen challenge- and histamine-induced bronchoconstriction in in vivo guinea-pigs. *European J. of Pharma* 2002; 437: 91-96.
30. Chen P N, Hsieh Y S, Chiou H L, Chu S C. Silibinin inhibits cell invasion through inactivation of both PI3K-Akt and MAPK signaling pathways. *Chem Biol Interact* 2005; 156: 141-50.
31. Dhanalakshmi S, Agarwal P, Glode L.M, Agarwal R. Silibinin sensitizes human prostate carcinoma DU145 cells to cisplatin- and carboplatin-induced growth inhibition and apoptotic death. *Int J. Cancer* 2003; 106: 699-705.
32. Duan L, Carrier D, Clausen E. Silymarin Extraction from Milk Thistle Using Hot Water. *Biochem & Biotech* 2004; 114: 559-568.
33. El-Samaligy M.S, Afifi N.N, Mahmoud E.A. Evaluation of hybrid liposomes encapsulated silymarin regarding physical stability and in vivo performance. *Int J Pharm* 2006; 9-16.

34. Fraschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of Silymarin. *Clin Drug Inves* 2002; 22: 51-65.
35. Gordon A, Hobbs D A, Bowden D S, Bailey M J, Mitchell J, Francis A J, Roberts S K. Effects of *Silybum marianum* on serum hepatitis C virus RNA. Alanine aminotransferase levels and well-being in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenter Hepat* 2006; 1- 2: 275-80.
36. Gurley B, Hubbarnd M, Williams D K, Thaden J, Tong Y, Gentry W B, Breen P, Carrier J, Cheboyina S. Effect of milk thistle (*Silybum marianum*) and black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) supplementation on digoxin pharmacokinetics in humans. *Drug Metab.Dispos* 2006; 34: 69-74.
37. Hoh C, Boocockd D, Marczyli T, Singh R, Berry D P, Dennison A R, Hemingway D, Miller A, West K, Euden S, Gaecea G, Farmer P B, Steward W P, Gescher A J. Pilot study of oral silibinin, a putative chemopreventive agent. In colorectal cancer patients silibinin levels in plasma. Colorectum and liver and their pharmacodynamic consequences. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2944-50.
38. Jacobs B P, Dennehy C, Ramize G, Sapp J, Lawrence V A. Milk thistle for the treatment of liver disease a systematics review and metaanalysis. *The American J. of Med* 2002; 113: 6, 506-515.
39. Kidd P, Head K. A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome a silybin-phosphatidylcholine complex (Siliphos). *Altern Med Rev* 2005; 10: 193-203.
40. Kim N C, Graf T N, Sparacino C M, Wani M C, Wall M E. Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Org Biomol Chem* 2003; 1: 1684-9
41. Kittur A, Wilasrusmee E, Skuntala A, Ward A. Neurotrophic and Neuroprotective Effects of Milk Thistle on Neurons in Culture. *J. of Mol. Neurosci* 2002; 18: 265-269.
42. Koch H P, Loffler E. Influence of silymarin and some flavonoids on lipid peroxidative stres in human platelets. *Clin Pharmac* 1985; 7: 13-8.
43. Kren V, Walterova D. Silybin and silymarin new effects and applications. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2005; 149: 29-41.
44. Kurkin V, Zapesocnaya G, Avdeeva E, Pimenov K. Flavonolignans of *Silybum marianum* fruit. *Chem. of Nat.l Compounds* 2001; 37: 315-317.
45. Lee J I, Hsu B H, Wu D, Barrett J S. Separation and characterization of silybin, isosilybin, silydianin and silychristin in milk thistle extract by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2006; 1116: 57-68.

46. Li L H, Wu L J, Tashito S, Onodera S, Uchiumi F, Ikejima T. The roles of Akt and MAPK family members in silymarin's protection against UV-induced A375-S2 cell apoptosis. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 190-7.
47. Mayer K, Myers R, Lee S S. Silymarin treatment of viral hepatitis: a systematic review. *J. of Vir Hepat* 2005; 12: 559–567.
48. Morazzoni P, Bombardelli E. *Silybum marianum* (*Carduus marianus*). *Fitoterapia* 1995; 66: 3-42.
49. Muzes G, Deak G, Lang I. Effect of silimarin (Legalon) therapy on the antioxidant defense mechanism and lipid peroxidation in alcoholic liver disease (double blind protocol). *Orv Hetil* 1990; 131: 863-6.
50. Nencini C, Giorgi G, Micheli L. Protective effect of silymarin on oxidative stress in ratbrain. *Phytomedicine* 2006.
51. Pham Q V, Shigeyuki S, Takuji T, Akira H. Chemopreventive Effects of a Flavonoid Antioxidant Silymarin on N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced Urinary Bladder Carcinogenesis in Male ICR,Mice. *Japanese J. of Cancer Res* 2002; 93: 42–49.
52. Salmi H A, Sarna S. Effect of silymarin on chemical, functional and morfological alterations of the liver. A double-blind controlled study. *Scand J. of Gastroenter* 1982; 17: 517-21.
53. Saller R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs* 2001; 61: 2035-63.
54. Schopen D, Lange K. Therapeutic use of Silymarin. *Med Welt* 1990; 15: 691-8.
55. Singh R P, Mallikarjuna G U, Sharma G, Dhanalakshmi S, Tyagi A K, Chan D C, Agarwal C, Agarwal R. Oral silibinin inhibits lung tumor growth in athymic nude mice and forms a novel chemocombination with doxorubicin targeting nuclear factor kappaB-mediated inducible chemoresistance. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8641-7.
56. Singh R P, Dhanalaksimi A, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin strongly inhibits growth and survival of human endothelial cells via cell cycle arrest and downregulation of survivin, Akt and NF-[kappa]B: implications for angioprevention and antiangiogenic therapy. *Oncogene*. 2005; 24: 1188-1202.
57. Singh R, Agarwal R. Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer. *Euro J. of Cancer*. 2005; 41: 1969–1979.
58. Spiridonov A M, Popov A D, Kurkin V A, Berezin I I, Zinina M L. The use of flavolignans of "*Silybum marianum* (L.) Gaertn." to create a new fat product--fortified butter. *Vopr Pitan* 2005; 74: 42-5.
59. Tanamly M D, Tedros F, Lobebe S, Makld H, Shehate N M, Abdel-Hamid M, Abu-Baki L, Medhat A, Megder L S, Afdhol N H, Strickland G T. Randomised double blinded trial evaluatiag Silymarin for chronic hepatitis C in an Egyption village: study description and 12-month results. *Diges. and Liver Dis* 2004; 36: 752-759.

60. Tedesco D, Domeneghini C, Sciannimanico D, Tameni M, Steidler S, Galletti S. Silymarin, a Possible Hepatoprotector in Dairy Cows: Biochemical and Histological Observations. *J. of Vet. Med* 2004; 51: 85–89.
61. Thelen P, Wutike W, Jarry H, Grzmil M, Ringert R. Inhibition of Telomerase Activity and Secretion of Prostate Specific Antigen by Silibinin in Prostate Cancer Cells. *J. of Urology*, 2004; 171: 1934-1938.
62. Tyagi A K, Agarwal C, Singh R P, Shroyer K R, Glode L M, Agarwal R. Silibinin down-regulates survivin protein and mRNA expression and causes caspases activation and apoptosis in human bladder transitional-cell papilloma RT4 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 312: 1178-84.
63. Van Erp N P, Baker S D, Zhao M, Rudek M A, Guchelaar H J, Nortier J W, Sparreboom A, Gelderblom H. Effect of milk thistle (*Silybum marianum*) on the pharmacokinetics of irinotecan. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7800-6.
64. Varghese L, Agarwal C, Tyagi A, Singh R P, Agarwal R. Silibinin efficacy against human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8441-8.
65. Venkataramanan R, Ramachandran V, Komoroski B J. Milk thistle, a herbal supplement, decreases the activity of CYP3A4 and uridine diphosphoglucuronosyl transferase in human hepatocyte cultures. *Drug Metab. and Dispos* 2000; 28: 1270-1273.
66. Velussi M, Cernigoi A, De Monte A. Long-term (12 months) treatment with an antioxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. *J. of Hepatology* 1997; 26: 871-9.
67. Victorrajmohan A, Chandrasekaran J, Pradeep S, Kannampalli C, Karthikeyan K, Sivanesan D. Influence of Silymarin Administration on Hepatic Glutathione-Conjugating Enzyme System in Rats Treated with Antitubercular Drugs in *R & D* 2005; 6: 395-400.
68. Wang M, Lin W, Chen H, Chang Y. Taiwan Silymarin protects dopaminergic neurons against lipopolysaccharide-induced neurotoxicity by inhibiting microglia activation. *Euro. J. of Neuroscience* 2002; 16: 2103-2112.
69. Wallace S, Carrier D J, Clausen E C. Extraction of Nutraceuticals from Milk Thistle: Part II. Extraction with Organic Solvents. *Biochem. & Biotech* 2003; 108: 891-904.
70. Yan Y, Wang Y, Tan Q, Lubet R A, You M. Efficacy of deguelin and silibinin on benzo(a)pyrene-induced lung tumorigenesis in A/J mice. *Neoplasia* 2005; 7: 1053-7.
71. Yanaida Y, Kohno H, Yoshida K. Dietary silymarin suppresses 4-nitroquinoline 1- oxide-induced tongue carcinogenesis in male F344 rats. *J. of Vet. Med* 2002; 23: 787-794.
72. Zi X, Mulchter H, Agarwal R. Novel cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin: Inhibition of mRNA expression of an endogenous tumor promoter TNF α . *Biochem. and Biophys. Res. Comm* 1997; 239: 334-339.

73. Pradhan S C, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res* 2006; 124: 491-504.
74. Li L, ZenG J, Gao Y, He D. Targeting silibinin in the antiproliferative pathway. *Expert Opin Investig Drugs*. 2010; 19: 243-255.
75. Akkuş İ, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınevi*. Konya. 1995; 1-77.
76. Szentivanyi A, Szentivanyi J. İmmünite, immünolojik inflamasyon ve aşırı duyarlılığın hücrel ve moleküler temelleri. *Sodeman's Fizyopatoloji*. Türkiye Klinikleri Yayınevi. Ankara. 1991.
77. Yüzer H. Ketamin, tiyopental, propofol, etomidat ve intralipidin böbrek iskemi reperfüzyon hasarına etkileri. Uzmanlık tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Kahramanmaraş 2008.
78. Atlı Y. İntestinal iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde alfa lipoik asit ve qersetin'in koruyucu etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Kahramanmaraş 2009.
79. Kavas GÖ. Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. *The Journal of faculty of medicine* 1994; 47: 579-592.
80. Kurutas EB. Endosulfanın fare eritrosit antioksidan sistemleri ve malondialdehit düzeyleri üzerine etkisi. *ÇÜ Tıp Fak. Derg* 2001; 26: 14-19 .
81. Arden W A, Slocombe R F, Stick J A, Parks A H. Morphologic and ultrastructural evaluation of effect of ischemia and dimethyl sulfoxide on equine jejunum. *Am J Vet Res*. 1990; 51: 1784-1791.
82. Basu S, Michaelsson K, Olofsson H, Johansson S. and Melhus H. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001; 288: 275-279.
83. Berger M M. Can oxidative damage be treated nutritionally *Clinical Nutrition* 2005; 24: 172-183.
84. Ceylan C, Koç Y, Karaman M. Köpeklerde Deneysel oluşturulan değişik tip intestinal strangülasyon obstrüksiyonlarında dimetilsülfoksitin (DMSO) koruyucu etkisinin klinik, laboratuvar ve histopatolojik olarak araştırılması. VIII. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi. Van 2002; 61-62.
85. Göktürk E. Sıçanlarda serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesine etkisi. *Acta Orthop. Traumatol. Turc* 1997; 31: 353-356.
86. Durmuş A S, Akpolat N, Ünsaldı E. Köpeklerde deneysel radius kırıklarında dl-alfa-tokoferol asetat'ın kırık iyileşmesi üzerine olan etkisi. VIII. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi. Van 2002; 136-137.

87. Hoşnüter M, Gürel A, Babuççu O, Armutcu F, Kargı E, Işıkdemir A. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns* 2004; 30: 121-125.
88. Isla M I, Nieva Moreno M I, Sampietro A R, Vattuone M A. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *J. Ethnopharmacol* 2001; 76: 165-170
89. Keskin D, Karsan O, Ezirmik N, Çiftçiöğlü A. Tavşanlarda kırık iyileşmesi üzerine alfa-tokoferolün etkisi. *Artroplasti-Artroskopik Cerrahi* 1999; 10: 207-210.
90. Mendez J A , Aguilar M R, Abraham G A, Vazquez B, Dalby M, Di Silvio L. and San Roman J. New acrylic bone cements conjugated to vitamin E: curing parameters, properties, and biocompatibility. *J Biomed Mater Res* 2002; 62: 299-307.
91. Köse K, Doğan P. Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Derg.*, Ek-1: 1992; 340.
92. Suda N. Role of free radicals in bone resorption. *Kokubyo Gakkai Zasshi* 1991; 58: 603-612.
93. Şahin K, Şahin N, Yaralıoğlu S. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation, blood serum metabolites, and mineral concentrations of laying hens reared at high ambient temperature. *Biol Trace Elem Res* 2002; 85: 35-45.
94. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002; 1: 21-29.
95. Şahin K, Özercan R, Önderci M, Şahin N, Gürsu M F, Khachik F, Sarkar F H, Mun-karah A, Ali-Fehmi R, Kmak D, Küçük Ö. Lycopene supplementation prevents the development of spontaneous smooth muscle tumors of the oviduct in Japanese quail. *Nutr Cancer* 2004; 50: 181-189.
96. Durmuş SA, Ünsaldı E. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi. Fırat Üniversitesi. Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı. Elazığ TÜRKİYE 2005.
97. Aydın B K, Pentoksifilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi. Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 1.Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği. İstanbul 2007.
98. Atlı Y. İntestinal iskemi Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Alfa Lipoik Asit Ve Quersetin'in Koruyucu etkilerinin Araştırılması Uzmanlık Tezi. K.Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı 2009; 52: 251-259.
99. Cheeseman K H. Slater T F. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993; 49: 481-493.
100. Granger D N. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255: 1269-H1275.
101. Yavuz H, Kurtoglu F. Biyokimyasal özellikleri ile L-Karnitin. İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi. Biyokimya Anabilim Dalı. Konya 2012; 38: 207-218.

9.ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Silimarinin 2 boyutlu şekli	27
Şekil 2: Silimarinin kimyasal formülü	27
Şekil 3: Antioksidan savunma mekanizmaları	31
Şekil 4: Protein standart eğrisi.....	38
Şekil 5: MDA standart eğrisi grafiği	41
Şekil 6: SOD standart eğrisi	45
Şekil 7: Gruplar arası SOD 0. gün düzeyleri	52
Şekil 8: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki SOD düzeyleri.....	53
Şekil 9: Gruplar arası sıfırncı günlerdeki CAT düzeyleri	54
Şekil 10: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki CAT düzeyleri.....	55
Şekil 11: Gruplar arası sıfırncı günlerdeki MDA düzeyleri	56
Şekil 12: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki MDA düzeyleri	57

10. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Kırık Tipleri ve Sınıflandırması	16
Tablo 2: Kırık belirti ve bulguları.....	18
Tablo 3: Silimarinin sistematikteki yeri	25
Tablo 4: Serbest radikallerin kaynakları.....	29
Tablo 5: Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	38
Tablo 6: Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı	39
Tablo 7: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	40
Tablo 8: Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı.....	41
Tablo 9: SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.....	43
Tablo 10: SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı	44
Tablo 11: Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars küvetlerin hazırlanışı	45
Tablo 12: Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	47
Tablo 13: Sıfırncı gündeki Kontrol, Sham ve Slimarin gruplarında her bir bireyin SOD aktivitesi	49
Tablo 14: Yirmibirinci gündeki Kontrol, Sham ve Slimarin gruplarında her bir bireyin SOD aktivitesi	49
Tablo 15: Sıfırncı gündeki Kontrol, Sham ve Slimarin gruplarında her bir bireyin CAT aktivitesi	50
Tablo 16: Yirmibirinci gündeki kontrol, sham ve silimarin gruplarında her bir bireyin CAT aktivitesi	50
Tablo 17: Sıfırncı gündekikontrol, sham ve silimarin gruplarında her bir bireyin MDA düzeyleri	51
Tablo 18: Yirmibirinci gündekikontrol, sham ve silimarin gruplarında her bir bireyin MDA düzeyleri	51
Tablo 19: Sıfırncı gündeki tüm gruplardaki SOD bulguları.....	52
Tablo 20: Gruplar arasıyirmibirinci gündeki SOD bulguları	53
Tablo 21: Gruplar arası sıfırncı günlerdeki CAT bulguları.....	54
Tablo 22: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki CAT bulguları	55
Tablo 23: Gruplar arası sıfırncı günlerdeki MDA bulguları	56
Tablo 24: Gruplar arası yirmibirinci günlerdeki MDA bulguları.....	57

11. RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Silimarin bitkisi ve tohumu	25
Resim 2: A. İntraperitoneal yoldan ketaminin verilmesi	36
B. Gastrik lavaj yoluyla Silimarin ve serum fizyolojik verilmesi	
C. Özel metal üç nokta prensibine uygun olarak literatürden yardım alınarak üretilen cihaz	
D. Kırık oluşturulurken	
E. Ratlara limitsiz olacak şekilde musluk suyu (<i>ad libitum</i>) ve standart kemirgen yemi verilirken	
F. Tibialar çıkartılırken	
Resim 3: Kırık oluşumundaki histopatolojik değişimler	58
Resim 4: Sham grubu: Minimal düzeyde kartilaj gelişimi, az miktarda fibroblastik aktivite artışı ve vaskülizasyon.....	58
Resim 5: Silimarin grubu: Belirgin fibroblastik aktivite artışı, belirgin kartilaj oluşumu ve osseoz gelişimi ve yeni kemik oluşumu.....	59
Resim 6: A: Kontrol grubununsıfırncı gündeki kırık durumları	62
B:Kontrol grubunun yirmibirinci gündeki kırık durumları	
C: Sham gurubunun sıfırncı gündeki kırık durumları	
D: Sham gurubunun yirmibirinci gündeki kırık durumları	
E: Silimarin grubununsıfırncı gündeki kırık durumları	
F: Silimarin grubunuyirmibirinci gündeki kırık durumları	

12.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Seher KARA ÖNGEL
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 02.05.1992 - Osmaniye
Medeni hali : Evli
e-posta : seherkara1004@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Tıbbi Biyokimya AD	2017
Lisans	KSÜ/Fen Edebiyat Fakültesi-Biyoloji Bölümü	2014
	KSÜ/Eğitim Fakültesi/Pedagojik Formasyon Eğitimi	2014
Erasmus-Lisans	Vilnius University/Faculty of Natural Sciences-Biology	2012
Lise	Mersin/Şevket Pozcu Anadolu Lisesi	2010

İş Denevimi

Yıl	Yer	Görev
2014-2015	MEB	Biyoloji Öğretmeni
2013-2014	Kahramanmaraş/Özel Körfez Eğitim Merkezi	Biyoloji Öğretmeni

Yabancı Diller

İngilizce, Litvanca

Hobiler

Doğa bilimleri, basketbol, yüzmeye, kitap okumak, yürüyüş yapmak

13. EKLER DİZİNİ

Poster

Kara S, Sarıççek E, Kurutaş Belge E, Beta Talasemi Major Hastalarında Asetilkolinesteraz Aktivitesi Ve Malondialdehit Düzeylerinin Değerlendirilmesi. 1st International Thalassaemia Symposium, Bildiri Kitabı, s. 69, Kahramanmaraş, 7-9 Nisan 2016.

EK-1. Etik Kurulu Karar Formu, Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu, KSÜ 2015.



EK-1. Etik Kurulu Karar Formu, Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu, KSÜ
2015.

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmann Başlığı	Ratlarda Kırık İyileşmesinde Silimarin'in Etkisi
	Başvuru Tarihi	02.07.2015
	Protokol No	18

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili
	Başvuru Formu	Türkçe

KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2015/04	Karar No: 01	09.07.2015
	Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	KSÜ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

Unvanı /Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Harun ÇIRALIĞ Başkan	Tıbbi Patoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E √ H	E √ H	KATILMADI
Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye	Tıbbi Biyokimya	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E √ H	√E H	
Prof. Dr. Yusuf ERGÜN Üye	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E √ H	√E H	
Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK Üye	Fizyoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E √ H	√E H	
Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK Üye	Üroloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E √ H	√E H	
Doç. Dr. Ali Murat KALENDER Üye	Ortopedi ve Travmatoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	√E H	E √ H	ARAŞTIRMACI
Yrd. Doç. Dr. Akif Hakan KURT Üye	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E √ H	√E H	
Erdal KÖRÜN Üye	Öğretmen	MEB	E √ H	E √ H	KATILMADI
Fatih AKGÜL Üye	Eczacı Teknisyeni	Serbest	E √ H	√E H	
ŞERH (VARSA)					

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda bulunma