

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**E VİTAMİNİ VE ANTIİNFLAMATUAR KULLANIMININ
KEMİK İYİLEŞME ÜZERİNE ETKİLERİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

SEVINCH SHEN

**DANIŞMAN
PROF. DR. R. DENİZ FIRAT**

**AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**AĞIZ, DİŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
PROGRAMI**

İSTANBUL-2011

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Sevinch SHEN

İTHAF

Anneme, babama ve eşime
ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, desteğini daima yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Refia Deniz Fırat'a,

Tezimin biyokimyasal çalışmaları aşamasında bilgisini ve zamanını esirgemeyen İ.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Pervin Vural'a,

Tezimin histopatolojik değerlendirmeleri aşamasında bilgi birikimlerinden yararlandığım İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Canan Alatlı ve sayın Doç. Dr. Vakur Olgaç'a,

Desteğini her zaman yanımda hissettiğim sayın Prof. Dr. Hakan Özyuvacı'ya,

Doktora eğitimim boyunca beni her yönden destekleyen, sonsuz yardımlarda bulunan Dr. Yiğit Şirin'e, Dr. Cemil İşler'e, Dr. İrem Aktaş'a, Dr. Yusuf Enes'e, Dt. Ammar Darwish'e, Dt. Gizem Gülgezen'e, Dt. Ciğdem Özçamur'a ve Dt. Senem Yıldırım Türk'e,

Hayatım boyunca bana güvenen ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen annem Yeğane Hasanova'ya, babam Naim Hasanov'a ve eşim Ümit Şen'e

teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Yapısı	3
2.1.1. Kemik Dokusunun Genel Özellikleri	3
2.1.2. Kemik Dokusunun Kimyasal Yapısı	4
2.1.2.1. İnorganik Matriks	4
2.1.2.2. Organik Matriks	5
2.1.3. Kemiğin Hücresel Elemanları.....	5
2.1.3.1. Osteoblastlar	5
2.1.3.2. Osteositler	6
2.1.3.3. Osteoklastlar	6
2.1.3.4. Osteoprogenitör Hücreler	7
2.1.4. Kemik Tipleri.....	7
2.1.4.1. Kortikal (Kompakt) Kemik.....	7
2.1.4.2. Trabeküler (Spongioz) Kemik	8
2.1.4.3. Ağsı (Woven) Kemik.....	8
2.1.5. Kemiğin Oluşumu ve Gelişim Evreleri	8
2.1.5.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu	9
2.1.5.2. Enkondral Kemik Oluşumu	9
2.1.6. Kemiklerin Büyümesi	11

2.1.6.1. Şekillenme (Modelling)	11
2.1.6.2. Yeniden Şekillenme (Remodelling).....	11
2.1.7. Kırık İyileşmesi.....	12
2.1.7.1. Primer Kırık İyileşmesi.....	12
2.1.7.2. Sekonder Kırık İyileşmesi	12
2.1.8. Kemikte Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	14
2.2. NSAİ	15
2.2.1. NSAİ İlaçların ve Analjezik Antipiretik İlaçların Sınıflandırılması.....	16
2.2.1.1. Kimyasal Yapılarına Göre	16
2.2.1.2. Yarılanma Ömrüne Göre	16
2.2.2. NSAİ İlaçların Genel Etki Mekanizmaları	17
2.2.2.1. Antiinflamatuvar Etki	17
2.2.2.2. Analjezik Etki	17
2.2.2.3. Antipiretik Etki	18
2.3. Prostaglandinler	18
2.3.1. Prostaglandinlerin Biyosentezi ve Metabolizması.....	19
2.3.2. Prostaglandinlerin Dokulardaki Dağılımı ve Görevleri.....	20
2.3.3. NSAİ İlaçlarla Prostaglandin Sentezinin İnhibisyonu	21
2.4. E Vitamini.....	22
2.4.1. E Vitaminin Etkileri.....	22
2.4.2. Metabolizma	23
2.4.3. Absorpsiyon	24
2.4.4. Diyet Kaynakları.....	24
2.4.5. Gereksinim.....	24
2.4.6. Eksiklik	24
2.4.7. Yumuşak Doku ve Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi	25
2.5. Serbest Radikaller	26
2.5.1. Serbest Oksijen Türevleri ve Reaktif Oksijen Türleri	26
2.5.1.1. Superoksit Radikali.....	27
2.5.1.2. Hidrojen Peroksit	27
2.5.1.3. Hidroksil Radikali.....	28
2.5.2. Serbest Radikallerin Etkileri	28
2.5.2.1. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri	28

2.5.2.2. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri.....	28
2.5.2.3. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	29
2.5.2.4. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri	29
2.6. Antioksidanlar.....	30
2.6.1. Antioksidan Sistemin Enzimleri	31
2.6.1.1. Superoksit Dismutaz (SOD)	31
2.6.1.2. Katalaz	31
2.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	31
2.6.1.4. Glutasyon Redüktaz (GSH-R).....	31
2.6.1.5. Glutasyon Transferaz (GST)	32
2.6.1.6. Glutasyon (GSH).....	32
2.7. Oksidan/Antioksidan Dengeyi Belirleyen Biyokimyasal Parametreler.....	32
2.7.1. MDA	32
2.7.2. AOPP	32
2.7.3. Nitrik Oksit (NO).....	33
2.7.4. FRAP	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Gereç.....	34
3.2. Yöntem.....	35
3.2.1. Deney Hayvanları ve Grupları	35
3.2.2. Cerrahi İşlemler	35
3.2.3. Gruplar	37
3.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	38
3.4. Biyokimyasal Analizler	39
3.4.1. Plazma AOPP (Advanced Oxidation Protein Products) Ölçümü	39
3.4.2. Plazmada Nitrat/Nitrit (NOx) Ölçümü	39
3.4.3. Plazma MDA(Malondialdehit) Ölçümü	39
3.4.4. Plazma FRAP (Ferric Reducing / Antioxidant Power Assay) Ölçümü	40
3.5. İstatiksel Analizler	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	41
4.2. Biyokimyasal Bulgular	52
5. TARTIŞMA	54

KAYNAKLAR	69
ETİK KURUL KARARI	79
ÖZGEÇMİŞ	80

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri	26
Tablo 2-2: Organizmada antioksidan sistem elemanları.....	30
Tablo 4-1: Grupların İltihap, Fibrozis, Yeni kemik oluşumu değerleri.....	41
Tablo 4-2: Grupların İltihap değerlerinin ki-kare testi ile karşılaştırılması.....	42
Tablo 4-3: Grupların Fibrozis değerlerinin ki-kare testi ile karşılaştırılması	43
Tablo 4-4: Grupların Yeni kemik oluşumu değerlerinin ki-kare testi ile karşılaştırılması	44
Tablo 4-5: İltihap, Fibrozis, Yeni kemik oluşumu değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması *	45
Tablo 4-6: Grupların AOPP, NO _x , MDA, FRAP değerleri.....	52
Tablo 4-7: AOPP, NO _x , MDA, FRAP değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması*	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kemik dokunun yapısı	4
Şekil 2-2: Kemiğin hücresel elemanları.....	5
Şekil 2-3: Kompakt kemiğin histolojisi	8
Şekil 2-4: Prostaglandinlerin biyosentezi	20
Şekil 2-5: Vitamin E'nin kimyasal yapısı	22
Şekil 3-1: Tibianın periosttan sıyrılarak ortaya çıkartılması	36
Şekil 3-2: Deney hayvanının tibiasında defekt hazırlanması.....	36
Şekil 4-1: Grupların 15. ve 30. gün İltihap değerlerinin dağılımı	45
Şekil 4-2: Grupların 15. gün ve 30. gün Fibrozis değerlerinin dağılımı.....	46
Şekil 4-3: Grupların 15. ve 30. gün Yeni kemik oluşumu değerlerinin dağılımı	46
Şekil 4-4: 15. gün Kontrol grubunda defekt bölgesinde genç mezenkim hücrelerinden oluşan fibröz doku içinde kemik fragmanları arasında köprü oluşturma eğliminde yeni kemik trabekülleri	48
Şekil 4-5: 15. gün NSAİ grubunda, defekt uçları arasında, damardan zengin fibröz doku içinde, defekt bölgesini büyük ölçüde kapatmış ince yeni kemik köprüsü	48
Şekil 4-6: 15. gün Vitamin grubunda defekt bölgesinde kortikal uçlar arasını kapatan aralarında hücresel kemik iliği bulunan trabeküler kemik dokusu	49
Şekil 4-7: 15. gün NSAİ+Vit grubunda defekt bölgesini tümüyle kapatmış yeni kemik trabekülleri	49
Şekil 4-8: 30. gün Kontrol grubunda, kırık fragmanları arasında, ince yeni kemik köprüsü.....	50
Şekil 4-9: 30. gün NSAİ grubunda, defekt bölgesini kapatan, kalınca, arasında hücresel kemik iliği bulunan trabeküler yeni kemik dokusu	50
Şekil 4-10: 30. gün Vitamin grubunda, defekt bölgesinde defekt uçlarını birleştiren lameller görünümde kompakt kemik dokusu.....	51
Şekil 4-11: 30. gün NSAİ + Vit grubunda, defekt bölgesini dolduran ve geniş bir alan işgal eden, hücresel kemik iliği içeren yeni kemik dokusu	51

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

NSAİ	:	Non-steroid antiinflamatuvar ilaç
İ.P.	:	İntraperitoneal
MDA	:	Malondialdehid
NO_x	:	Nitrik oksit ürünleri
AOPP	:	İleri oksidasyon protein ürünleri
FRAP	:	Demir indirgeyici antioksidan kapasite
Cox-1	:	Siklooksijenaz 1 enzimi
Cox-2	:	Siklooksijenaz 2 enzimi
PG	:	Prostaglandin
PGF_{2α}	:	Prostaglandin F _{2α}
PGI₂	:	Prostasiklin
PGE₂	:	Prostaglandin E ₂
(O₂^{·-})	:	Süperoksit radikali
OH⁻	:	Hidroksil radikali
IL	:	İnterlökin
TGF-β	:	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
PDGF	:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TXA₂	:	Tromboksan A ₂
TXB₂	:	Tromboksan B ₂
TNF-α	:	Tümör nekroz edici faktör
LDL	:	Düşük dansiteli lipoprotein
H₂O₂	:	Hidrojen peroksit
NO₂⁻	:	Nitrit
NO₃⁻	:	Nitrat
SOD	:	Süperoksit dismutaz
GSH	:	Glutasyon
GST	:	Glutasyon transferaz
GSH-R	:	Glutasyon redüktaz
GSH-Px	:	Glutasyon peroksidaz

GSSG	:	Glutasyonun oksitlenmiş şekli
NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
LOOH	:	Lipit hidroperoksit
LOO[•]	:	Lipid peroksid radikali
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
L[•]	:	Lipit serbest radikalleri

ÖZET

Shen S. (2011). E vitamini ve Antiinflamatuvar Kullanımının Kemik İyileşme Üzerine Etkileri (deneysel çalışma). İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Anahtar kelimeler: Kemik iyileşme, NSAİ, E Vitamini

Günümüzde sıklıkla kullanılan Non-steroid antiinflamatuvar (NSAİ) preparatlar iyileşme sürecinde yeni oluşan kemiğin niteliklerinde bozulmaya ve iyileşmede gecikmeye neden olmaktadır. Doku yaralanmalarından sonra bölgede artan serbest oksijen radikallerinin kemik iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri olduğu düşünülmektedir. Bir antioksidan olan E vitaminin bu serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonu önleyerek kırık iyileşmesi üzerine olumlu etkileri vardır. Bu çalışmada E vitamininin NSAİ kullanılan hayvanlarda oluşturulan deneysel kemik defektinin iyileşmesi üzerindeki etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal yöntemlerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda beş gruba ayrılan 74 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sham grubu 10 adet sıçandan oluşurken, diğer gruplardaki hayvan sayısı 16 olarak belirlenmiştir. Daha sonra her grup kendi içinde sakrifikasyon günlerine göre eşit olarak iki alt gruba ayrılmıştır. Sham grubundaki hayvanlardan sadece kan alınmıştır. Diğer bütün deney hayvanlarının sağ tibialarında standart kemik defektleri hazırlanmıştır. NSAİ grubundaki hayvanlara intraperitoneal (İ.P.) 5mg/kg/gün diklofenak sodyum, vitamin E grubundaki hayvanlara İ.P. 40 mg/kg/gün vitamin E, vitamin E + NSAİ grubundaki hayvanlara İ.P. 5mg/kg/gün diklofenak sodyum ve İ.P. 40 mg/kg/gün vitamin E enjeksiyonu yapılmıştır. Tüm gruplardaki hayvanlardan 15. ve 30. günlerde gerçekleştirilen sakrifikasyon işlemi sırasında biyokimyasal inceleme için intrakardiyak kan alınarak serum MDA, NOx, AOPP ve FRAP seviyelerine bakılmıştır. Defekt bölgeleri ışık mikroskobu altında incelenmiştir.

Sonuç olarak, NSAİ uygulanmış sıçanlarda biyokimyasal ve histopatolojik olarak kemik iyileşmesinin geciktiği saptanmıştır. Bununla birlikte, antioksidan vitamin E uygulamasının oksidatif zararı azalttığı ve kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu gözlemlenmiştir.

ABSTRACT

Shen S. (2011). The biochemical and histopatological effects of vitamin E and Diclofenac Sodium on the healing of bone defects in rats. (experimental study) Istanbul University, Institute of Helth Science, Department of Oral and Maxillofacial Surgery. Ph.D. Thesis. İstanbul.

Keywords: Bone healing, NSAID, Vitamin E.

Non-steroid antiinflamatar drugs (NSAID), which are commonly prescribed in modern medicine, may have deleterious effects on bone healing process. The production of free oxygen radicals increases after tissue injuries and can cause harmful effects on fracture healing. Vitamin E, an antioxidant that prevents lipid peroxidation caused by free radicals, have been shown to improve fracture healing. The aim of the present study was therefore to examine the biochemical and histopathological effects of vitamin E on the healing of experimental defects in NSAID (diclofenac sodium) treated rats.

74 Wistar Albino male rats divided into five groups were used in this study. Sham group consisted of 10 rats while the number of animals in other groups were 16. Each group was equally divided into two sub-groups according to sacrifice timepoint. Standard bone defects were created in the right tibiae of all experimental animals with the exception of Sham group rats. The animals in the NSAI group was treated with intraperitoneal (I.P.) injections of diclofenac sodium 5 mg/kg/day, vitamin E group with I.P. injections of vitamin E 40 mg/kg/day, vitamin E+ NSAI group with I.P. injections of diclofenac sodium 5 mg/kg/day and I.P. vitamin E 40 mg/kg/day. The animals were sacrificed on the 15th and 30th days post-operatively and cardiac blood was collected from all groups to determine the levels of serum MDA (Malondialdehyd), Nitric oxide (NO), Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) and Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP). Bone defects were examined by light microscopy.

In conclusion, the biochemical and histopathological findings indicated that the diclofenac sodium had delayed the healing of bone defects in rats. Furthermore, Vitamin E reduced the oxidative damage occurring during this process thereby demonstrating beneficial effects on bone healing.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Baş ve yüz bölgesindeki cerrahi girişimler sert ve yumuşak doku hasarlarına neden olabilirler. Ağrı duyusu genellikle bu girişimlerin doğal bir sonucu ve organizmanın önceden belirlenebilen bir yanıtı olarak kabul edilir. Bu duyu çoğunlukla doku hasarıyla oluşan enflamasyon sonucu tetiklenir. Nositör olarak isimlendirilen ağrı reseptörlerinin uyarılması ağrının algılanmasına yol açar. Bunlar, sinir liflerinin serbest uçlarında bulunurlar ve ağrılı uyarılara yanıt verirler. Bu reseptörlerin ağrı medyatörlerine karşı duyarlılıklarını ortadan kaldırmak için non-steroid anti inflamatuvar (NSAİ) ajanlar kullanılır (36, 37, 89, 99, 109, 119).

NSAİ ilaçlar siklooksijenaz-1 ve siklooksijenaz-2 (Cox-1 ve Cox-2) enziminin sentezini inhibe eder ve prostaglandin (PG) oluşumunu baskılayarak ağrının algılanmasını azaltırlar (100). Periferik etkili analjezikler oldukları için etkileri opioidlerden ve santral etkili analjeziklerden daha zayıftır. Ancak opioidler gibi tolerans ve bağımlılık yapmazlar, narkoz hali oluşturmazlar ve solunum depresyonuna neden olmazlar. Ayrıca ağız yoluyla kullanılabilirler ve opioidlerden farklı olarak antiinflamatuvar etkileri vardır. Bu özellikleri sayesinde günümüzde ağız ve yüz cerrahisi girişimlerinden sonra ağrı kontrolü amacıyla yaygın olarak kullanılırlar. Buna karşılık, kemik iyileşmesinde istenmeyen etkileri mevcuttur. NSAİ ilaçların kemik metabolizmasına etkileri tam olarak açıklanamamasına rağmen PG'lerle ilişkili olabilecekleri düşünülmektedir. $PGF_2\alpha$ ve PGI_2 gibi PGE_2 de sıklıkla kemikte bulunur. PGE_2 periostal ve bazı durumlarda endostal kemik rejenerasyonunu aktive eder ve yeniden şekillenmeyi sağlar. Cox'lar hücre duvarından salınan arşidonik asiti PG, prostasiklin ve trombaksana çevirdikleri için NSAİ ilaç kullanımı Cox enzimini inhibe eder ve PGE_2 oluşmaz, dolayısıyla kemik rejenerasyonu ve yeniden şekillenme geciki (12, 79, 122).

Kırık iyileşmesi sırasında inflamasyon fazı kırık sonrası ilk 48 saat içinde oluşur, kırık alanında hematoma oluşması ile belirginleşir, kırıkta ve yeni kemik oluşuncaya kadar devam eder. Kırık alanına ulaşan ilk inflamasyon hücreleri polimorfonükleer lökositler, makrofajlar ve mast hücreleridir (32, 45, 106, 109, 114, 122).

Bu hücrelerin aktivasyonu ile kırık alanında serbest oksijen radikalleri oluşur (114). Serbest radikaller, antioksidanlar tarafından engellenmedikleri durumlarda, en yakınındaki yağ, protein, karbonhidrat, RNA ve DNA moleküllerine saldırarak, yapısal ve işlevsel bozukluklar meydana getirmektedirler. Organizmanın savunma mekanizmasını oluşturan antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur. Aynı zamanda, vücuda beslenme yoluyla alınabilecek vitaminler de antioksidanların işlevlerini üstlenebilirler. Bunların arasında, E vitamini önemli bir yer tutar. Yağda eriyen bir antioksidan olan E vitamini, hücre fonksiyonunu düzenlemeye yardım eder ve tüm hücre membranları üzerinde stabilize edici bir etkiye sahiptir. Aynı zamanda superoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-) radikallerini ortadan kaldırarak hücreleri bunların meydana getirebileceği hasarlardan korur (66).

İncelenen kaynaklarda cerrahi girişim sonrasında NSAİ ve E vitamininin birlikte kullanımlarının kemik iyileşmesi sırasında antioksidan seviyelerine olan etkilerini inceleyen bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu yüzden, bu çalışmada sıçan tibialarında oluşturulan defektlerin iyileşmesinde NSAİ'lerin ve E vitamini uygulamasının etkilerinin ışık mikroskobu ile histopatolojik olarak incelenmesi ve plazmadaki antioksidan seviyelerinin belirlenerek karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

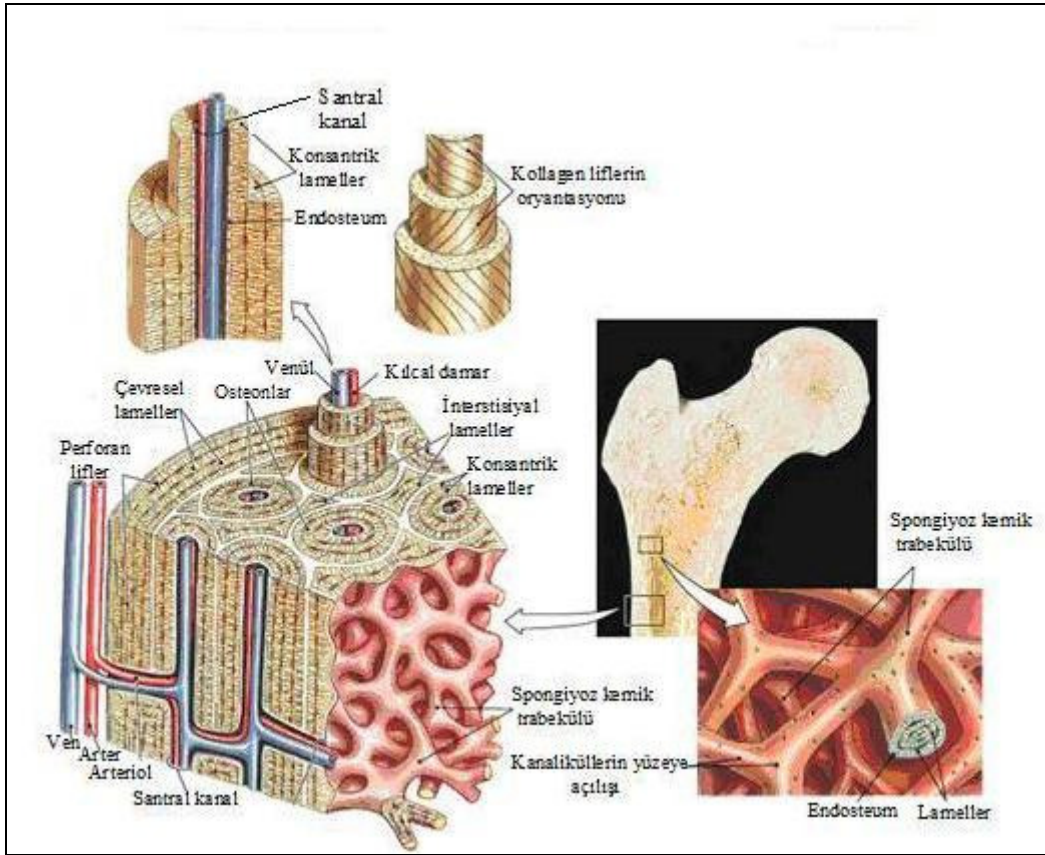
2.1. Kemik Yapısı

2.1.1. Kemik Dokusunun Genel Özellikleri

Kemik dokusu, yapısında bulundurduğu farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik tuzların çökelmesi ve bu sayede sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış olan ileri derecede özelleşmiş doku türüdür (84, 108). Bu doku, kendisini yapısal olarak yenileyebilen, şeklini, hacmini ve içeriğini dıştan gelen mekanik uyarılar doğrultusunda yönlendirebilen ve yaşam süresince fiziksel aktivitelere destek sağlayan bir yapıya sahiptir (11, 54, 116). İçinde bulunan kanallı yapıda kemik iliği ve hücreleri barındırır. Bunların yardımıyla hematopoeziste önemli rol oynar. Hayati organların barındığı vücudun önemli boşluklarını dışarıdan kuşatarak korur. Kan hücrelerinin sentezi, kalsiyum, fosfat gibi minerallerin depolanması ve salınması kemik doku sayesinde olur (58).

Kemiğin dış yüzeyinde kompakt kemik tabakası bulunur. Kemik yapısının orta kısmı meduller kanal olarak adlandırılır ve kırmızı ya da sarı kemik iliğiyle doludur. Tipik bir erişkin uzun kemiği, ortasında silindirik diafiz kısmı ve bunun her iki ucunda yer alan yuvarlak görümlü epifizden oluşur. Diafiz ve epifizin birleşme noktası major büyüme alanıdır ve buraya epifiziyal plak denir. Erişkin bireylerde epifiz ile diafiz arasında bütünleşme gerçekleştiğinde büyüme tabakası yerini kanselöz kemiğe bırakır. Yassı kemiklerin epifizleri yoktur (54).

Kortikal kemiğin dış yüzünü çevreleyen tabakaya periosteum, iç yüzünü çevreleyen tabakaya da endosteum denir. Periosteum, kambiyum denilen dış fibröz tabaka ve iç fibröz tabaka olarak ikiye bölünür ve burası yeni kemik hücrelerinin kaynağıdır. Çocuklarda periosteumun osteojenik potansiyeli yüksektir. Bu durum kırık iyileşmesinde önemlidir. Endosteumun altında trabeküler kemik ve trabeküler kemiğin içinde de kemik iliği bulunur (18, 47).



Şekil 2-1: Kemik dokunun yapısı

2.1.2. Kemik Dokusunun Kimyasal Yapısı

Kemiğin bileşimi anatomik bölge, yaş, beslenme alışkanlıkları ve hastalık varlığına bağlı olarak farklılıklar göstermekle birlikte genel olarak, kemik dokusunun %60-70'i inorganik mineraller, %30'u organik matriks, % 5'ni su ve hücreler oluşturur (18, 47, 84).

2.1.2.1. İnorganik Matriks

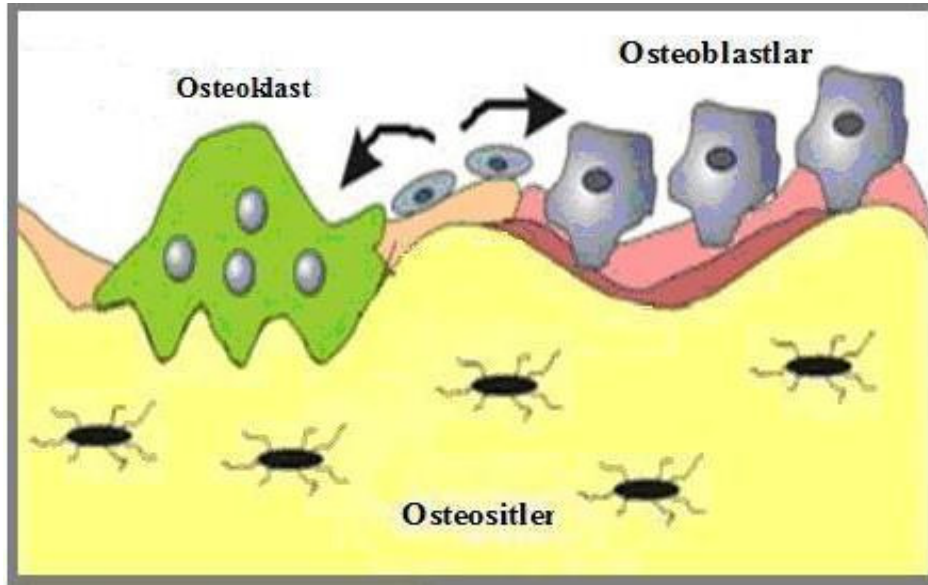
Kemik dokusunun %60-70'ni oluşturur. Kemiğin mineralize kısmıdır. İnorganik matriksin kimyasal bileşimi büyük oranda saf olmayan hidroksiapatitten [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] oluşur. İçeriğinde kalsiyum ve fosfat daha fazla olmakla beraber bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum bulunur. Yaşlanma ile birlikte kalsiyum ve karbonat oranı artar, fosfat ve magnezyum oranı ise azalır (18, 60).

2.1.2.2. Organik Matriks

Kemik dokusunun %30'unu oluşturan organik matriks, % 90 oranında tip I kollajen içerir, geriye kalanını kollajen dışındaki diğer matriks proteinleri, minör kollajen tipleri, lipitler ve diğer makromoleküller oluşturur. Kollajen, kemiğin lifli yapısını meydana getirir. Kollajen yapıda olmayan proteinlerin işlevi henüz tam olarak bilinmemesine karşılık, mineralizasyonda rol oynadıkları düşünülmektedir. En fazla görülen proteinler osteokalsin, osteonektin ve kemik sialoproteinidir. Bu proteinlerin idrarda saptanması kemik metabolizmasıyla ilgili sorunları gösterir (18, 44, 47, 54, 84).

2.1.3. Kemiğin Hücresel Elemanları

Aktif olarak büyüyen kemikler, osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve osteoprogenitör hücreler olmak üzere dört farklı tipte hücre içerirler (18, 47, 54, 58).



Şekil 2-2: Kemiğin hücresel elemanları

2.1.3.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar mezenkim dokusundan gelişirler. Periostun iç yüzeyinden, kambiyum tabakasından ya da komşu osteoprogenitör hücrelerin mezenkimal dokularından farklılaşırlar. Osteoblastlar bazofil boyanan 20-30 μm genişliğinde, kübik şekilli hücrelerdir, büyük bir çekirdek, hücresel uzantılar, hücreler arası bağlantılar, sık endoplazmik retikulum, gelişmiş golgi aparatı ve içleri kollajenle dolu salgı kesecikleri

içerirler. Osteoblastların bölünme ve fonksiyon özellikleri yoktur sadece kemik oluştururlar. Osteoblastlar kemik matriksinin sentezinden, gelişimden, yeniden şekillenme (remodeling) ve onarım sürecinden sorumludur. Kemik oluşumu işlemi tamamlandıktan sonra bazı osteoblastlar osteositlere dönüşür, bir kısmı ise periostta ve endostta varlıklarını sürdürürler (12, 18, 47, 116).

2.1.3.2. Osteositler

Kemik yapımı sırasında osteoid madde içinde kalan osteoblastlar, organellerinin çoğunu kaybederek osteositlere dönüşürler. Osteositler kemiğin esas hücreleri olup olgun kemik hücresi adını da alır. Osteositlerin en belirgin özelliği sitoplazmik uzantılarının bulunmasıdır. Bu uzantılar sayesinde osteositler, daha önce çevrede konumlanan diğer osteositlerle, osteoblastlarla, kemik yüzeyini döşeyen hücrelerle, periost hücreleriyle ve damarlarla bağlantılar kurarlar. Bu sitoplazmik uzantılar “osteositik membran” adı verilen bir sistemi oluştururlar. Bu membran sistemi kemikten kana kalsiyum geçişinde ve kalsiyumun vücut sıvılarındaki konsantrasyonunun dengelenmesinde etkindir. Metabolik olarak osteoblastlara oranla inaktif olan osteositler yenilenemez ve yaşam ömrü sadece birkaç yıldır (4, 18, 47, 58, 116).

2.1.3.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerinden kaynaklanırlar. Kemik yıkımından sorumlu hücreler olan osteoklastlar, büyük çok çekirdekli hücrelerdir ve çapları 20–100 µm arası değişir. Çoğunlukla kemik yüzeylerinde yer alan, rezorpsiyon kavimleri ya da Howship lakunaları adı verilen boşluklarda bulunurlar. Yaşam süreleri 3-4 haftadır. Osteoklastların hangi bölgeleri rezorbe edeceklerini belirleyen sinyal mekanizması henüz anlaşılmış değildir. Osteoblastlarla beraber osteoklastlar, kemiğin mekanik etkenlere bağlı olarak şekillenmesinde rol oynar. Foksiyonlarından dolayı makrofaj türü hücre olarak kabul edilen osteoklastlar, mononükleer fagositer sisteme dahil hücrelerdir ancak fagositoz yapmazlar. Osteoklastların içerdikleri kollegenaz ve diğer proteolitik enzimler kemiği rezorbe edici özelliktedir (4, 12, 18, 38, 47, 54,58 ,84 ,116).

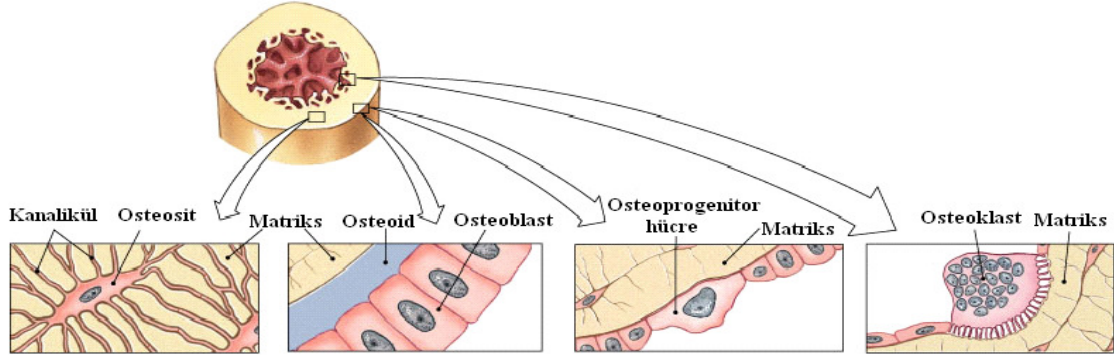
2.1.3.4. Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücreler mezenkim kaynaklı hücrelerin bir alt grubudur. Bu hücreler kemik yüzeyinde, periostun iç yüzeyinde, endosta ve kompakt kemiğin vasküler kanallarında bulunur. İhtiyaç olduğu zaman diğer tip kemik hücrelerine dönüşebilmektedir. Büyüme sırasında aktif olan osteoprogenitör hücreler, erişkin hayatında kırık iyileşmesi veya farklı tipteki yaralanma durumunda da aktive olabilir, osteoblast veya osteoklast gibi diğer tip kemik hücrelerine dönüşebilirler (18, 42, 47, 106).

2.1.4. Kemik Tipleri

2.1.4.1. Kortikal (Kompakt) Kemik

Kortikal kemik aynı zamanda kompakt kemik olarak da adlandırılır. Kortikal kemik uzun kemiklerin diafiz ve metafizinin dış yüzeylerini kapsayan solid ve kompakt bir dokudur. Erişkin insan iskeletinin yaklaşık %80'i kortikal kemikten oluşur, çoğu kalsifiyedir, metabolik aktivitesi düşüktür. Kortikal kemik içinde kanallar mevcuttur. Bu kanalların çoğu, kemiğin uzun eksenine ve birbirine paralel seyreder. Bunlara Havers kanalları denir. Longitudinal Havers kanalları yer yer oblik anastomozlarla birbirine bağlanmıştır. Diğer transversal kanallar kemiğin dış yüzünde periost altından başlayarak, kemiğin uzun eksenine dik veya oblik yönde seyreder ve kemiğin iç yüzüne kadar uzanarak kemik iliğine açılırlar. Bunlara Volkmann kanalları denir. Volkmann kanalları, transversal seyirleri esnasında Havers kanallarını birbirine bağlar. Bu kanallarda periosttan ve medüler kanal içindeki kemik iliğinden gelen damarlar ve bağ dokusu bulunur (47).



Şekil 2-3: Kompakt kemiğin histolojisi

2.1.4.2. Trabeküler (Spongioz) Kemik

Trabeküler kemik aynı zamanda spongioz kemik olarak da adlandırılır. İskeletin %20'sini oluşturur, daha az kalsifiedir ve metabolik aktivitesi daha yüksektir. Makroskopik olarak gözlenebilen, trabekül adı verilen plaklar ve gözeneklerden oluşur. Bunların içinde kan damarları ve kemik iliği bulunur. Trabeküler kemik lamelleri, kortikal kemikten farklı olarak Havers sistemi oluşturmazlar. Trabeküllerin yerleşimi fonksiyona ve dış etkenlere bağlı olarak değişebilir (44, 47, 54, 107).

2.1.4.3. Ağsı (Woven) Kemik

Bu tip kemik gelişmekte olan embriyonun tüm kemik dokusunu oluşturur. Lameller yapı içermez. Yapısında iyi organize olmamış kollajen lifleri ile düzensiz dağılımlı mineralizasyon alanları görülür. Kırık iyileşmesi sırasında kallus oluşumu gibi fizyolojik onarım süreçlerinde ve ektopik kemikleşmeler, osteosarkoma, Paget hastalığı, hiperparatiroidizm gibi patolojik oluşumlarda görülür. Yeniden şekillenme sırasında kortikal ya da trabeküler kemik ile yer değiştirir (11, 44, 47, 54).

2.1.5. Kemiğin Oluşumu ve Gelişim Evreleri

Kemik oluşumunun sağlıklı biçimde gerçekleşmesi için en önemli iki temel etken, yeterli kanlanma ve mekanik destektir. Yeni kemik oluşumundan sorumlu olan

osteoblast hücreleri, kan damarları ile birlikte işlev görürler. Kanın taşıdığı oksijenin azaldığı durumlarda, osteoblastların yapısı değişir. Bunun sonucunda fibröz doku ve kıkırdak dokusu oluşur. Ayrıca, yüksek düzeyde farklılaşmış bir doku olan kemik dokusu, gelişebilmek için sabit bir zemine ihtiyaç duyar. Bu temel gereksinimler, iki farklı şekilde gerçekleşebilen kemik gelişiminin alt yapısını oluştururlar. Kemik gelişimi intramembranöz kemikleşme veya endokondral kemikleşme şeklinde gerçekleşir. İntramembranöz kemikleşme sırasında, bağ dokusu bir kalıp oluşturarak yeni kemik birikimine yardımcı olur. Endokondral kemikleşme sırasında ise, kıkırdak dokunun hazırladığı taslağın yüzeyini kaplayan yeni kemik dokusu daha sonra bu taslağın tamamının yerini alır (47, 54, 97, 122, 131).

2.1.5.1. İntramembranöz Kemik Oluşumu

İntramembranöz kemik oluşumu, mezenkim kökenli yoğun embriyonel bağ dokusunun içinde gerçekleşir. Çevrelerindeki membranda damarlanmanın artmasıyla mezenkim hücreleri, kemikleşme merkezleri adı verilen bölgelerde osteoid madde sentezini ve salgılanmasını gerçekleştiren osteoblastlara farklılaşırlar. Bunu osteoid maddenin mineralizasyonu takip eder. Osteoid madde mineralize oldukça lakünalar içinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşürler ve incelen sitoplazmik uzantıları ile kemiğin kanalları içinde birbirleriyle bağlantılar kurarlar. Kemikleşme merkezlerinin yüzeyini döşeyen hücreler mitoz bölünmeye uğrayarak daha fazla osteoblast meydana getirirler. Bu yeni osteoblastlar ise daha fazla kemik oluşumu sağlarlar. Bu şekilde gerçekleşen devamlı kemik birikimi ışınsal yayılım göstererek birbirlerine komşu olan kemikleşme merkezlerini birleştirir ve yeni kemik oluşumunu sağlar. Kollajen liflerin rastgele ve düzensiz dizilim gösterdiği bu yapı, osteoklastların rezopsiyonu ve osteoblastların yeni kemik oluşturmasıyla yeniden şekillenerek lamelli yapıda olan olgun kortikal ya da kansellöz kemiğe dönüşür. Bu sırada gelişmekte olan kemik dokusunun içinde kalan ilkel mezenkim dokusu da kemik iliğini oluşturur. İskelet sistemindeki kafa kemiklerinin kalvariumu yapan kısımları, yüz kemiklerinin bir kısmı bu şekilde bir kemikleşme ile meydana gelirler (16, 47, 122).

2.1.5.2. Endokondral Kemik Oluşumu

Köprücük kemiği dışında kalan uzun kemiklerin, leğen kemiklerinin, omurganın ve kafa tabanının kemikleşmesi bu yolla gerçekleşir. Uzun kemiklerin gelişiminde önce bu kemiğin mezenkim dokudan hyalin kıkırdak yapıda küçük bir taslağı oluşur (21).

Daha sonra bu kıkırdak taslak apozisyonel büyüme yoluyla daha uzun bir şekil alır. Perikondriumla sarılı olan diafiz ve epifizler oluşur. Kıkırdak modelin ortasında yer alan kondrositler büyüyerek onları çevreleyen kıkırdağı rezorbe ederler ve geride trabeküllü bir kıkırdak matriks kalır. Daha sonra bu kıkırdak matriks kalsifiye olur. Kondrosit hücreleri dejenere olduktan sonra geniş boşluklar meydana gelir. Periost kıkırdak taslağın üzerinde ince bir kemik dokusu oluşturur. Aynı anda ilkel mezenkim dokusu ve kan damarları kıkırdak taslağın içindeki boşlukları istila ederler. Bu mezenkim dokusu daha sonra osteoblastlara ve kemik iliği hücrelerine farklılaşır. Osteoblastlar kıkırdak matriksin kalıntılarının yüzeyinde bir hücre tabakası meydana getirerek ağı kemik iliği oluşturmaya başlar (108). Bu olaylar sonucunda ilk kıkırdak taslağın uç kısımları orta kısımdan primer kemikleşme merkezi adı verilen geniş bir alanla ayrılır. Buna karşılık kıkırdağın her iki ucunun çapı büyümeye devam eder. Bu sırada orta kısmın uç bölümlerindeki kıkırdak, değişime uğramaya ve kemikleşmeye başlar. Bu aşamada gelişmekte olan kemik uzun bir diafiz ve bunun her iki ucunda yarım ay biçiminde halen kıkırdak dokudan meydana gelen epifizlerden oluşur. Diafiz ile her iki epifiz arasında yer alan bölgelere büyüme plağı ya da epifiz plağı adı verilir. Bunların içinde kıkırdak doku çoğalmaya devam ederek kemiğin boyunun uzamasını sağlar. Benzer şekilde, plakların diafiz tarafında kondrositler olgunlaşır ve kaybolur, dejenere olan kısımlara ise yeni kemik dokusu yerleşir. Bu sayede diafiz kısmı da uzar ve büyüme plakları daha uzağa itilir. Genel iskelet sisteminin olgunlaşmasıyla beraber hormonal etkenler daha fazla kıkırdak oluşumunu engelleyerek büyüme plaklarının kemikleşmesini ve diafiz ile epifizlerin birleşmesini sağlar (128). Bu sırada gelişmekte olan epifizlerin içindeki kıkırdak dokusunun merkezinde diafize benzer şekilde yeni kemik oluşumu meydana gelir. Bunun gerçekleştiği bölgeye sekonder kemikleşme merkezi adı verilir. Sonradan eklem kıkırdağına dönüşecek olan ince bir hyalin kıkırdak doku epifizlerin yüzeyini örtmeye devam eder. Fonksiyonel streslerin etkisiyle, kalsifiye kıkırdak dokusu ve bunu çevreleyen düzensiz ağı kemik yeniden şekillenerek kemiğin kompakt yapıda bir dış tabaka ve ortasında boşluk bulunan kansellöz yapıda bir iç tabakadan oluşmasını sağlarlar. Yaşlanma ile birlikte orta kısım rezorbe olarak kemik iliği ile dolu geniş bir boşluk haline gelir (47, 128).

2.1.6. Kemiklerin Büyümesi

Herhangi bir kemiğin büyümesi, genetik özelliklere bağlı olduğu kadar fiziksel etkenlere de bağlıdır. Kemiğin enine büyümesi ya da genişlemesi, yüzeyini saran periost tabakasından oluşan osteoblastlar sayesinde gerçekleşir. Bu şekilde kortikal tabaka üzerinde kemik birikimi meydana gelir. Kemiklerin boylarının uzaması ise kıkırdak taslağın yeni kemik dokusuyla düzenli olarak yer değiştirdiği endokondral kemikleşme sayesinde meydana gelir (54, 97).

2.1.6.1. Şekillenme (Modelling)

Kemiğin büyümesi ve şekillenmesi birbirlerini yakından takip eden olgulardır. Büyümeyi kontrol eden yerel etkenler aynı zamanda bu yapılanmaya uygun bir kemik şekillenmesini de başlatırlar. Şekillenme süreci genel olarak, rezorpsiyon ve yeni kemik oluşumu mekanizmaları sayesinde kemik yüzeylerine daha fazla kemik dokusu eklenmesi ya da varolan kemik dokusunun azalması şeklinde tanımlanabilir. Büyüme sırasında yeni kemik oluşumu miktarı rezorbe olandan daha fazladır. Şekillenme olayı kemiklerin büyümesini, şeklini, dayanıklılığını ve anatomik özelliklerini belirler. Bununla ilişkili olarak, şekillenme kortikal tabakanın kalınlığını arttırarak ve kemik iliğinin bulunduğu boşluğun çapını genişleterek uzun kemiklerin uç kısımlarını şekillendirir. Aynı şekilde, kafatasının genişlemesinden ve eğimlerinin değişmesinden de sorumludur. Erişkinlik dönemi ile beraber şekillenme son bulur (44, 54).

2.1.6.2. Yeniden Şekillenme (Remodelling)

Yeniden şekillenme işlemi, kemiğin biyomekanik ve metabolik yapısının korunmasını sağlar. Örnek olarak, metafizlerde oluşan ağsı kemik dokusu olgun kemikle karşılaştırıldığında yapısal olarak daha zayıftır. Ayrıca, olgun kemiğin kalitesi de zamanla azalmaktadır. Bu yüzden, yeni kemik dokusuyla değiştirilmesi ya da yenilenmesi gerekir. Ağsı kemiğin ya da yaşla kalitesi azalan kemiğin önce rezorbe olması daha sonra ilgili bölgede lamellar yapıda yeni kemik oluşması olayına yeniden şekillenme adı verilir (54, 84, 97). İnsanlarda, zamanla olgun olmayan kemik dokusu rezorbe olarak yerini yeni kemik dokusuna bırakır. Bu aşamada trabeküler kemik hacminde ve yoğunluğunda yeniden şekillenmeye bağlı olarak belirgin bir azalma meydana gelir. Bu işlem yaşam boyu devam eder. Sürekli olarak, yaşlanan kemik dokusu yenisi ile değiştirilir (84). Normal koşullar altında bir erişkin kemiğinin kortikal kısmının 20 yıllık, trabeküler kısmının 1-4 yıllık yaşam süresi vardır. Kemiğin bu

şekilde sürekli olarak yenilenmesi, iskeletsel yapının yük taşıma kapasitesinin korunmasını, kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesini, kan hücrelerinin üretiminin devamlılığını ve kemikte oluşan hasarların onarılmasını sağlar (18, 40, 54, 97).

2.1.7. Kırık İyileşmesi

Kemik büyümesi, daha önce oluşmuş kemik dokusunun bir bölümünün yıkımı aynı anda başka bir bölümünün yapımı ile gerçekleşir. Sağlıklı bireylerde kemik yapım hızı kemik yıkım hızından fazladır. Böylece kemik büyürken şekli de korunur.

Dıştan veya içten gelen zorlamalarla kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir. Fizyolojik reaksiyonlar, bozulan kemik bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yöneliktir. Kemik, skar dokusu oluşturmaz ve yeniden şekillenme ile iyileşir. Kırık iyileşmesi kırık olduğu andan itibaren başlar, düzenli kemik dokusu ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (48).

Kemiklerde meydana gelen kırıkların iyileşmesi 2 yolla gerçekleşir:

2.1.7.1. Primer Kırık İyileşmesi

Primer iyileşme olarak tanımlanan ilk tipte, kırık parçalar birbirine temas eder. İntramembranöz kemik oluşumu ile kortikal tabakaların doğrudan yeniden şekillenmesi gerçekleşir. Bu şekilde gerçekleşen iyileşme kırık bölgesinde kesin hareketsizlik gerektirir. Klinik uygulamalarda kırık bölgesinin çeşitli mekanizmalarla tespitinin sağlandığı durumlarda primer kırık iyileşmesi elde edilir (54, 68, 131).

2.1.7.2. Sekonder Kırık İyileşmesi

Sekonder kırık iyileşmesinde, organizma kırık bölgesini dışarıdan saran bir kallus oluşumu ile hareketsizliği sağlar ve kırık bölgesini endokondral kemikleşme ile tamir eder. Değişik özelliklere sahip hücre topluluklarının çoğalarak, farklılaşarak ve matriksi oluşturarak birlikte işlev görmelerini gerektirir (21, 109, 131).

Sekonder kırık iyileşmesi 4 evreden oluşur:

- İnflamasyon fazı
- Granülasyon dokusu fazı
- Kallus fazı
- Yeniden yapılanma fazı (Remodeling fazı) (20, 32, 37, 45, 89, 106, 114).

- **İnflamasyon Fazı**

Bu faz, kemiğin periostu ve kan damarlarının zarar görmesiyle başlar. Kan ve lenf damarlarında meydana gelen hasar sebebiyle bölgede hematoma oluşur ve hızla pıhtılaşır. Damarsal hasar nedeniyle kemik yarasının yüzeyini döşeyen osteositler beslenemezler ve ölürlür. Periost dokusunda ve kemik iliğinde de benzeri şekilde gerçekleşen hücre ölümleri sonucunda ortamda fazla miktarda nekrotik artı birikir. Fazla miktarda biriken artı maddeler, ani ve yoğun bir iltihapsal yanıt oluşturur. İltihap sonucu, dokudaki mast hücrelerinin salgıladığı histaminin etkisiyle bölgeyi çevreleyen damarlarda vazodilatasyon oluşur ve eksüda birikir. Bundan sonra taze kemik yarasında ani bir ödem görülür ve bölgeye yoğun bir hücre göçü gerçekleşir. Ortama İnterlökin-1, (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar sitokinler ve TGF- β , Platelet derived growth factor (PDGF) gibi hücre sel yanıtın düzenlenmesinde rol aldığı düşünölen büyüme faktörleri salgılanır (13, 35, 37, 84, 106, 107, 109, 131). Fibrinojene eklenen lizin, fenilalanin, gamaglobin ve albuminle fibrine dönüşür ve fibrin matriks oluşur. Polimorf çekirdekli lökositler, monositler ve lenfositler bölgeye gelirler. Yara bölgesi asidik pH'dan önce nötral daha sonra hafif alkali pH'ya dönüşür (45, 114, 125).

- **Granülasyon Dokusu Fazı**

Lokal uyarılara cevap veren öncü hücreler; yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğ er hücreleri oluşturmak üzere farklılaşarak, oluşmuş olan hematoma organize etmeye başlarlar. Öncü hücrelerin organizasyonu ve ayrışma oluş an yumuşak granülasyon dokusu kırık bölgesinde bir miktar stabilite sağlar. Bu evrede kırık bölgesi pH'sı asittir. Tamir sürecinde rol oynayan hücrelerin mezenkimal kaynaklı olduğu ve bunların kollajen, kırıkta ve kemik dokusunu yaptığı bilinmektedir. Büyük bir kısmı granülasyon bölgesinden, periostun yeni kemik oluşturma yeteneğine sahip tabakasından ve endosttan salgılanır. Fibroblastlar kollajen, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikanları, osteoblastlar ise osteoid maddeyi salgırlar. Kallus adı verilen ve yara bölgesini bir zarf gibi çevreleyip, bölgenin hareket etmemesini sağlayarak iyileşmeye yardımcı olduğu düşünölen bu yapı; fibröz doku, kırıkdan ve olgunlaşmamış kemik dokusundan oluşur (44).

- **Kallus Fazı**

Osteoid doku mineralizasyonu osteoblastlar tarafından başlatılıp devam ettirilir. Kalsifiye doku içinde kalan osteoblastlar osteositlere dönüşerek dağılık trabeküler kemik ağını yaparlar. Osteoblastlar, tropokollajen salgılayarak kollajen liflerin dizilimini düzenlerler. Bunların üzerine kalsiyum iyonlarının çökelmeye başlamasıyla sert kallus oluşur.

Kıkırdak dokuda alkalen fosfataz salgılanarak kıkırdak matriks kalsifiye olmaya başlar. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiklerinden ölmeye başlarlar ve buldukları yerlerde lakünalar meydana gelir. Rezorbe olan kalsifiye kıkırdak matriks yerinde osteoblastlar tarafından osteoid doku ve fetal yeni kemik yapımı sürecine bağlı olarak kıkırdak doku ile kemik dokusu yer değiştirir. Yaralanmadan sonra kallus mineralizasyonu için 4-16 hafta arasında zaman gerektirir (18, 47).

- **Yeniden Yapılanma Fazı**

Kemik iyileşmesinin en uzun süren fazı olup, mekanik olarak kuvvetli fakat mikroskopik olarak düzensiz kallus, normal kemiğin lameller yapısına dönüşür. Kemik iliğinin bulunduğu bölgedeki kallus dokusu osteoklastlar tarafından rezorbe edilir ve kemik dokusu olağan görünümünü kazanır (18, 47).

2.1.8. Kemikte Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kemik yaralarının iyileşmesini etkileyen faktörler enel ve yerel olmak üzere iki grup halinde incelenir.

Genel faktörler; yaş, diabet, anemi, tüberküloz gibi sistemik hastalıklar, paratiroid hormonu, kalsitonin, insülin, büyüme hormonu gibi hormonlar, kondroitin sülfat, hiyaluronidaz etken maddeli ilaçlar, A, C ve D vitaminleri.

Yerel faktörler ise, travmanın derecesi ve etkisi, yara uçlarının birbirlerine göre konumu, yara bölgesinin damarlanması, kemiğin türü, kemik yarasına eşlik eden deri ve yumuşak doku yaralanmalarının durumu, yerel bir enfeksiyon, bölgedeki patolojik oluşumlar, ve sinir hasarlarıdır (18, 47).

2.2. NSAİ

NSAİ ilaçların kimyasal yapıları farklı olup, klinik kullanım alanları, etki mekanizmaları ve istenmeyen etkileri benzerlik göstermektedir. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırılırlar. Etki güçleri, farmakokinetik özellikleri açısından aralarında farklılıklar vardır. Periferik etkili analjezikler olarak da adlandırılırlar (30, 119). Hemen hepsi değişen derecelerde antipiretik ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir. Antitrombotik etki çoğunda görülür. Para-aminofenol türevi olan asetaminofen, antiinflamatuvar ve antitrombotik etkinlikleri olmadığı için NSAİ ilaçların sınıflandırılmasının dışında değerlendirilmektedir.

NSAİ ilaçların antiinflamatuvar etkileri, glukokortikoidlerden düşüktür. Ancak glikokortikoidlerden daha iyi tolere edilirler ve analjezik, antipiretik özellikleri üstünlük sağlar. Glikokortikoidler gibi antiinflamatuvar etki gösterdikleri için yapı farklılıklarını belirtmek açısından NSAİ olarak adlandırılırlar. Periferik etkili oldukları için analjezik etkileri, santral etkili olan opioidlerden daha zayıftır. Ancak opioidler gibi tolerans ve bağımlılık yapmazlar, narkoz hali oluşturmazlar ve solunum depresyonuna neden olmazlar. Ayrıca oral yolla kullanılabilmeleri ve opioidlerden farklı olarak antiinflamatuvar etkilerinin olması gibi özellikleri ile yaygın kullanılırlar. Analjezik etkilerinin gücü sınırlıdır. Dozun yükselmesi etkiyi arttırmaz (30).

İndometazin, Diklofenak gibi bazı NSAİ ilaçlar dışında, çoğu lipooksijenaz enzimini etkilemezler. Yeni NSAİ türevleri dışında kimyasal yapı olarak zayıf asitlerdir. Yağda çözünürler, gastrointestinal kanaldan emilimleri iyidir. Genelde plazma proteinlerine bağlanırlar. Bu ilaçların çoğu sinoviyal sıvıya iyi penetre olur, burada birikebilirler.

Farmakokinetik olarak inflamasyon dokusunun asidik ortamında daha fazla toplanırlar ve antiinflamatuvar etkinlikleri artar. Karaciğerde metabolize olurlar ve çoğunlukla böbreklerden atılırlar. Eliminasyon yarı ömürleri 1-2 saatten 70-80 saate kadar uzayabilen değişkenliktedir. Bu genel özelliklere göre NSAİ ilaçların arasında en uygun tercihi yapabilmesi için hekimin, ilaçların endikasyonu, farmakokinetik özellikleri, istenmeyen tesirleri ve uygun dozlarına ilişkin bilgilere sahip olması önemlidir. Kişisel deneyimler ve hastanın genel durumu seçimi kolaylaştıracak faktörlerdir.

2.2.1. NSAİ İlaçların ve Analjezik Antipiretik İlaçların Sınıflandırılması

2.2.1.1. Kimyasal Yapılarına Göre

A) Asidik türevler

Salisilik asit türevleri:

-Asetil salisilat: Aspirin

-Nonasetil salisilatlar: Diflunisal, Magnezyum trisalisilat, Sodyum salisilat, Salsalat, Benarilat.

Asetik asit türevleri:

-İndolasetik asitler: Indometazin, Tolmetin, Asetmetazin, Sulindak.

-Fenilasetik asitler (Aril asetik asitler): Diklofenak, Fenklofenak, Alklofenak.

-Paranokarboksilik asitler: Etodolak.

Propiyonik asit ürevleri: İbuprofen, Ketoprofen, Naproksen, Flurbiprofen, Tiaprofenik asit, Oxaprozin

Fenamik asit türevleri: Mefenamik asit, Flufenamik asit, Meklofenamik asit, Niflumik asit.

Heteroaril asetik türevleri: Ketorolak.

Enolik asit türevleri:

-Oksikam türevleri (Enolik asitler): Proksikam, Sudoksikam, Oksikam, Tenoksikam.

-Prazolon türevleri: Fenilbutazon, Oksifenbutazon, Azapropazon.

B) Nonasidik türevler: Nabumeton, Prokuazon, Tinoridin, Fluprokuazon.

C) Analjezik antipiretikler

2.2.1.2. Yarılanma Ömrüne Göre

A) Kısa yarı ömürlüler: Aspirin, Diklofenak, Etodolak, İbuprofen, İndometazin, Ketoprofen, Tolmetin, Mefenamik asit, Flufenamik asit.

B) Uzun yarı ömürlüler: Diflinusal, Nabumeton, Naproksen, Proksikam, Tenoksikam, Tenidap, Fenilbutazon, Azapropazon, Sulindak (33).

2.2.2. NSAİ İlaçların Genel Etki Mekanizmaları

2.2.2.1. Antiinflamatuvar Etki

Akut inflamasyon çeşitli uyarılara yanıt olarak başlar, organizmayı korumaya yöneliktir. Kronik inflamasyon ise tam tersine organizmaya zarar verir. Akut inflamasyonu başlatan nedenler arasında enfeksiyon ajanları, antijen-antikor reaksiyonları, otoimmün reaksiyonlar ve temel uyarılar, radyasyon, travma gibi fiziksel hasarlar sayılabilir. Akut inflamasyonun başlıca belirtileri calor, rubor, tümör ve dolor (ateş, kızarıklık, ödem, ağrı) dur. Diş hekimliğinde de cerrahi travmayla başlayan inflamasyon ve buna bağlı ödem, ağrı, trismus gelişmesi en önemli sorunlardan biridir. Diş çekimiyle oluşan travma doku hasarına neden olur. Böylece kan damarlarının dilatasyonu ile hasarlı bölgeye kan akımı artar. Trombosit ve lökosit adezyonu, inflamasyon bölgesine lökosit göçü oluşur. Kapiller permeabilite artışı ödeme neden olur. Sinir uçlarının duyarlılığına bağlı olarak ağrı algılanır. İnflamasyon alanında bu değişikliklerin olduğu dönemde çeşitli kimyasal mediyatörler (histamin, serotonin, PG, bradikinin) sentezlenir ve salıverilir. Akut inflamatuvar reaksiyonda PG'ler özellikle PGE₂ diğer mediyatörlerden sonra (hasardan 6-12 saat sonra) sıvı ve eksudada da görülür. Lökositler inflamasyonda önemli rol oynarlar. Kemotaksis, migrasyon, fagositoz işlevlerine ek olarak kimyasal mediyatörleri de açığa çıkarırlar. Lökositlerden serbestlenen lizozomal enzimler hücre membranındaki fosfolipidlerden araşidonik asidin ayrılmasına neden olurlar. Araşidonik asitten PGI₂, PG, tromboksan A₂ (TXA₂) oluşur (12).

İnflamasyonun akut fazında monositer makrofajlar ve epitel hücrelerinden serbestlenen sitokinler de önemli rol oynar. Özellikle IL-1 ve tümör nekroz edici faktör (TNF- α) inflamasyonda etkinliği olan en önemli sitokinlerdir. Sitokinlerle indüklenen lökosit proteinleri kemotaksis ve migrasyonda rol oynar. Sitokinler proinflamatuvar belirtilerin çoğunu oluştururlar (33).

2.2.2.2. Analjezik Etki

Ağrı rahatsız edici bir uyarı olarak çoğunlukla doku hasarıyla oluşan inflamasyon sonucu indüklenir. Ağrı reseptörlerinin uyarılması da ağrı algılanmasına yol açar. Nositörler çeşitli ağrılı uyarılar için özelleşmiş reseptörlerdir. Sinir liflerinin serbest uçlarında bulunur ve ağrılı uyarılara yanıt verirler.

Ağrı yapıcı kimyasal ve mekanik etkenler periferde PG sentezini artırırklar. Örneğin operasyon sonrası ilk 3-8 saat arasında ağrı çok Őiddetlidir. PG'ler, bradikin ve öteki aljezik mediyatörlere nosiseptörlerin duyarlılığını artıran hiperaljezik ağrı mediyatörlerdir.

NSAİ ilaçlar periferde PG oluşumunu baskılayarak nosiseptörlerin ağrı mediyatörlerine duyarlılığını kaldırır. Ağrının algılanmasını azaltırklar (33).

2.2.2.3. Antipiretik Etki

Ateş; infeksiyon, inflamasyon, malignite, çeşitli hastalıklar ve doku hasarının sonrasında oluşabilir. Ateşe neden olan maddeler pirojen madde olarak adlandırılır. Bakteri, virüs, polipeptidler, ekzojen pirojenler, makrofajlardan endojen pirojenlerin serbestlenmesine neden olur. IL-1, interferonlar, TNF- α gibi sitokinler endojen pirojenlerdir. Bunlar hipotalamusta termoregülatör merkezini uyarırklar. Bu bölgedeki PGE'lerin sentezini artırarak onların aracılığı ile ısı üretiminde artma, ısı kaybında azalma oluştururklar. Termoregülatör merkez uyarıldığında daha yüksek ısı değerine ayarlanmış olur ve ateş yükselir. NSAİ ilaçlar PGE₂ sentezini baskılayarak ısı kaybını artırır, ateşi düşürürler. Ciltte vazodilatasyon ve terleme aracılığı ile ısı kaybı artar. NSAİ ilaçlar yükselmiş vücut ısısına etkilidir. Normal vücut ısısını veya egzersiz, sıcak çarpması gibi faktörlerle yükselen ısıyı (hipertermi) etkilemezler (33).

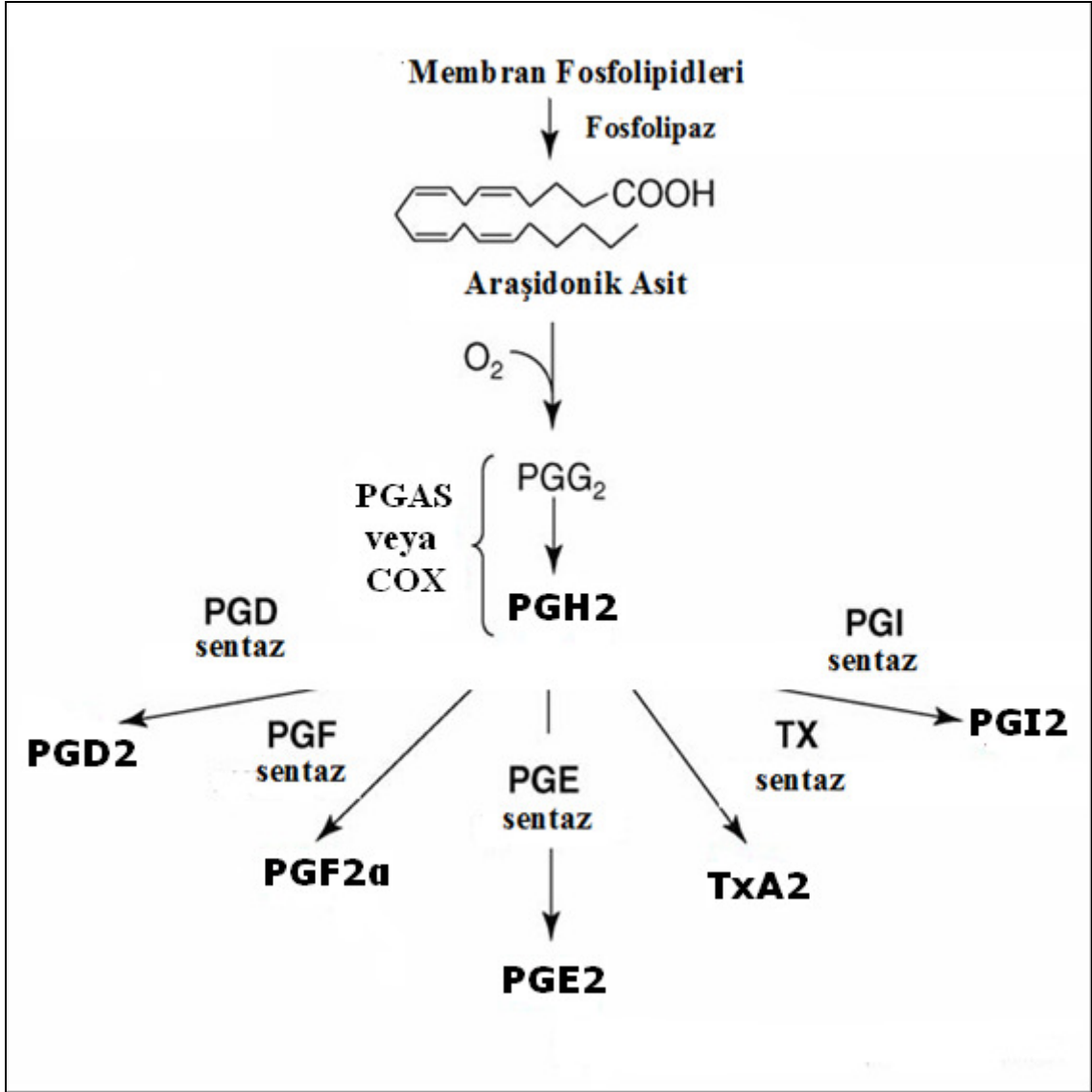
2.3. Prostaglandinler

PG'ler yaklaşık 80 yıldan beri bilim adamlarının ilgisini çeken aktif maddelerdir. Kurzrok Lieb ve arkadaşları 1930 yılında insan seminal sıvısından hazırlanan ekstrelerde değişik bir aktif maddenin bulunduğunu ve bu maddenin izole insan uterus şeritleri üzerinde bazen kasıcı, bazen gevşetici etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir (22). Daha sonra 1935 yılında Von Euler bu endojen aktif maddenin öteki maddelerden farklı olarak yağda eriyebilen, çift bağ kapsayan değişik bir yağ asidi olduğunu bildirmiştir (10). En çok prostat bezinde bulunması nedeniyle de "Prostaglandin" adı verilmiştir. Daha sonra bütün memeli dokularında bulunduğu ve lokal hormon olarak etki gösterdikleri anlaşılmıştır. 1960 yılında Bergstrom ve Samuelsson tarafından PG'nin tek bir madde olmayıp çeşitleri olduğu gösterilmiştir (9). PGD₂, PGE₂, PGH₂, PGI₂, PGF_{2 α} gibi tipleri vardır. Her tipe ait alt gruplar da tanımlanmıştır. PG sembolündeki D, E, F, G, H, I büyük harfler, moleküldeki halka tipini göstermektedir. PG sembolünde büyük

harften sonra gelen ve altta yazılan küçük rakam, moleküldeki doymamış bağ sayısını göstermektedir (33).

2.3.1. Prostaglandinlerin Biyosentezi ve Metabolizması

PG'lerin sentezinde rol oynayan maddeler hücrelerin sitoplazma membranlarındaki fosfolipidler veya kolesterol esterleri içinde bulunan çoklu doymamış yağ asitleridir (18, 73). Bu yağ asitleri vücutta sentez edilemediklerinden "esansiyel" olarak adlandırılır ve besinler aracılığı ile dışarıdan alınırlar. PG sentezinin başlamasında, hücre membranlarında bulunan fosfolipaz A ve kolesterol esteraz enzimleri rol oynamaktadır. Fosfolipaz ve kolesterol esteraz enzimleri adı geçen esterleri hidrolize ederek araşidonik asiti serbest duruma geçirirler (13). Daha sonra çift fonksiyonlu bir enzim olan siklooksijenaz (Cox), oksidasyon reaksiyonu ile serbest araşidonik asiti PGG_2 'ye dönüştürür ve bir peroksidaz reaksiyonuyla PGG_2 'yi PGH_2 'ye indirger (13, 55, 121). Oluşmuş olan bu ara ürünler değişik şartlar altında prostaglandin sentez enzimleri aracılığıyla PGE_2 , PGD_2 , PGF_2 , PGI_2 , TxA_2 gibi farklı PG'lere dönüşürler (7, 122). Bunlar arasında PGE_2 , kemik metabolizmasında hem anabolik, hemde katabolik reaksiyonlarda görev aldığı bildirilmiştir (12, 73, 79, 122). PGE_2 büyüme plağı kondrositleri, mezenkimal kök hücreleri ve osteoblastlardan sentezlenir ve salgılanır. Ayrıca PGE_2 'nin osteoblastların farklılaşmasında da görev aldığı bildirilmiştir (79). PGE_1 ve PGE_2 kemikten kalsiyum mobilizasyonunu belirgin şekilde arttırırlar. Bu etki paratiroid hormonuna bağımlı olmayıp, osteoklast stimülasyonuna dayanan direkt bir etkidir.



Şekil 2-4: Prostaglandinlerin biyosentezi

2.3.2. Prostaglandinlerin Dokulardaki Dağılımı ve Görevleri

Oluşan PG'ler dokularda depolanmaksızın salıverilirler. Metabolik olaylardaki etkilerini gösterdikten sonra veya göstermeden, sentez edildikleri dokularda bulunan enzimler tarafından süratle inaktive edilirler. Bu inaktivasyon her zaman PG'lerin sentezinin yapıldığı dokuda olmayabilir. Dolaşıma karışan PG'lerin bir bölümü akciğerlerden, karaciğerden, böbreklerden geçerken, buralarda bulunan enzimler aracılığı ile inaktive edilirler. Hücre düzeyinde, fibroblastlar, polimorf nüveli lökositler, makrofajlar, lenfositler, trombositlerde de PG sentezi, dolayısı ile de varlığı

gösterilmiştir. Organizmada en zengin PG kaynağı insan semenidir (300µg/ml). Ayrıca kalp, böbrek, karaciğer, beyin, mide, uterus, göz, deri, kan damarları, sürrenal bezler, pankreas, seminal veziküller, tiroid bezi, kemik, tükürük bezi, dişeti, diş pulpası, diş germi gibi organ ve dokularda da bulunduğu bildirilmiştir. Semenden başka, menstruel sıvı, amniyotik sıvı, süt, tükürük gibi vücut sıvılarında da varlıkları saptanmıştır. Ayrıca karayipler yosunu olarak bilinen bir bitkinin kuru ağırlığının %2'si kadar PG kapsamı buradan saf kristalize PG'lerin üretilmesine neden olmuştur (33).

2.3.3. NSAİ İlaçlarla Prostaglandin Sentezinin İnhibisyonu

NSAİ ilaçların Cox enzimini baskılayarak PG oluşumunu engellediği, terapötik etkilerinin büyük oranda bu mekanizmayla sağlandığı 1979 yılından bu yana bilinmektedir. Ancak 1990'lı yılların başında PG oluşumunda aracı olan Cox enziminin iki izoformu (Cox-1 ve Cox-2) olduğu saptanmıştır (99). Bu iki izoform şekli Cox-1 ve Cox-2 olarak adlandırılmıştır (7). Farklı doku ve organlarda Cox-1 ve Cox-2'nin değişen miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir.

Cox-1 normal fizyolojik durumlarda gastrointestinal sistemde, böbrek, trombositlerde ve endotelial hücrelerde fazla miktarda bulunur. TXA₂ ve PG oluşumuna aracılık eder. Cox-1, midede PGE₂ ve PGI₂ sentezini katalize eder. Normal hücrel olayları düzenleyen bu PG'ler mide mukozasının bütünlüğünü koruyan etkiye sahiptir. Ayrıca trombosit fonksiyonunu düzenler, vasküler hemostaza aracılık ederler, böbrek kan akımını ve böbrek fonksiyonlarını düzenler (13, 37, 39, 55, 78, 89, 99, 109, 121).

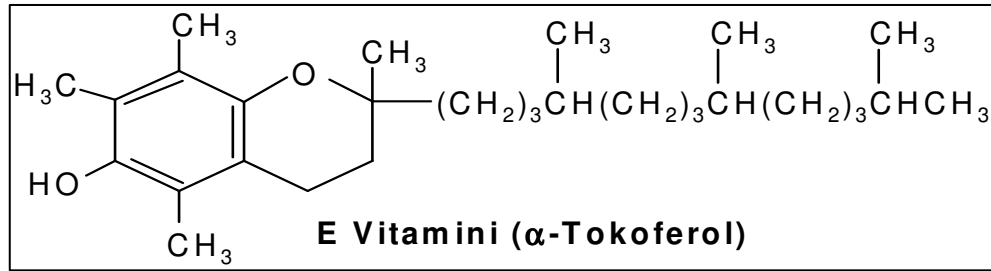
Cox-2 izoformu indüklenebilir özelliğe sahiptir. Proinflamatuvar maddeler olan IL-1, lipopolisakaridler, TNF-α, büyüme faktörleri ile indüklenerek etkileri artar (18, 121). Fizyolojik durumlarda sadece birkaç özel dokuda düşük düzeyde bulunur. Böbrek gelişiminde, ovülasyon ve doğumda, birçok beyin fonksiyonlarında PG oluşumuna aracılık eder. Ancak daha çok inflamasyon, ağrı ve ateşle ilişkili PG sentezine aracılık ettiği gösterilmiştir (13, 37, 39, 55, 78, 79, 89, 99, 109, 121, 122).

Araşidonik asitin PGG₂ ve/veya PGH₂'ya dönüşümünü sağlayan Cox-1 ve/veya Cox-2 enziminin inhibisyonu NSAİ grubunda yer alan ilaçların ana etki mekanizmasıdır (109). NSAİ ilaçlar her iki Cox izoformunu baskılayarak PG sentezini engellerler (99). Cox enzimleri antiinflamatuvar ilaçlara farklı duyarlılık gösterirler. Cox-2 enziminin inhibisyonu NSAİ ilaçların analjezik ve antiinflamatuvar etkilerini göstermesine olanak

sağlar. Cox-1 enzimin inhibisyonu ise NSAİ ilaçların gastrointestinal kanama ve renal hasar gibi yan etkilerinin nedenini oluşturur.

2.4. E Vitamini

E vitamini 1922 yılında keşfedilmiştir (63, 75, 107). Yağda eriyen bir vitamindir (77, 84). Kimyasal yapısı 6 kromonol halkasından oluşur. Yapısındaki aromatik halkada fenolik hidroksil grubu bulunmaktadır. Bu aromatik halka, molekülün aktif kısmını oluştururken antioksidan özelliğini de vermektedir.



Şekil 2-5: Vitamin E'nin kimyasal yapısı

Vitamin E aktivitesini veren bileşikler kimyasal olarak tokoferol olarak bilinir. Sekiz tane tokoferol tanımı yapılmıştır (33). Birbirine benzer etkiye sahip doğal ve sentetik olan bu bileşikler, tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere iki grupta toplanabilirler. Bunlar da α, β, γ ve δ moleküllerine ayrılabilirler (14, 34, 49, 50, 55, 63, 84, 98, 107).

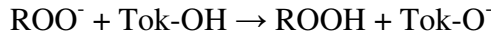
Tokoferolün α, β, γ ve δ türevlerinden en etkili olanı α formudur (55, 107). Literatürlere göre besinler içindeki E vitamini etkinliğinin yaklaşık %80'ni α-tokoferola bağlı olduğu, geri kalan % 20'sinin diğer tokoferol türevlerinden ve tokotrienollerden ileri geldiği kabul edilmektedir. α-tokoferolün doğadaki bulunan izomeri, RRR-α-tokoferol ya da d-α-tokoferol olarak adlandırılmaktadır.

2.4.1. E Vitaminin Etkileri

E vitaminin en önemli özelliği serbest oksijen radikalleri ve peroksitleri antioksidan etkinliği sayesinde nötralize edebilmesidir (77). Hücre membranlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri, spontan olarak ya da oksidan metabolitlerin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler ve peroksit türevlerine dönüşebilirler. Bu olaya lipit peroksidasyonu adı verilir. Lipit peroksidasyonu sonucu ise serbest oksijen radikalleri

oluşmaktadır. Membranda oluşan bu zararlı serbest radikalleri nötralize edebilen en güçlü antioksidan faktör E vitamindir (32, 34, 84). C vitamini, glutatyon peroksidaz ve β -karoten gibi vücudun diğer antioksidan sistemleri, söz konusu olay üzerine E vitamini kadar etkili değildir. Lipitte çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle, E vitamini kolayca membran fosfolipitlerine diffüze olabilmekte ve tüm hücre membranlarını oksidatif zedelenmeye karşı koruyarak stabilize edici etki oluşturmaktadır (34, 86, 114). Tokoferolun antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında tesirlidir ve bundan dolayı eritrosit membranlarında ve bronkoalveolar sistemin epitel membranı gibi vücutta en yüksek parsiyel oksijen basıncına maruz kalan yerlerde E vitamini yoğunlaşır (34).

E vitamini (Tok-OH) peroksitler üzerindeki nötralize edici etkisini, kendisinin fenolik hidroksil grubundaki hidrojen atomunu, peroksil radikaline (ROO^{\cdot}) transfer etmek suretiyle yapmaktadır, bunun sonucunda nispeten stabil lipit hidroksit ($ROOH$) ve tokoferoksi radikali ortaya çıkar.



Oluşan lipit hidroksit sonradan nonradikal reaksiyonlar yoluyla detoksifiye edilir. Reaktivitesi az olan tokoferoksi radikalının tekrar tokoferole indirgenmesi için vitamin C ya da glutatyon gibi hidrojen verici redükthanlarla etkileşime ihtiyacı vardır (34).

2.4.2. Metabolizma

E vitamini, karaciğerde metabolize olur, idrar ve safra yoluyla atılır. E vitamini, tüm dokulara dağılmış olmasına rağmen, buralarda farklı oranlarda tutulduğu için konsantrasyonları dokudan dokuya değişir. Vücuttaki E vitaminin büyük kısmı adipoz dokuda lokalize olur, yağ depolarında ve hücre membranlarında birikir (34).

Normal durumlarda, plazmadaki konsantrasyonu bireyler arasında değişkenlik gösterir ve ortalama 0,4-0,5mg/dl kadardır. Plazmadaki total lipit düzeyinde meydana gelen değişimler E vitamini düzeyine de yansır. Bu nedenle plazma E vitamini düzeyine bakarak yeterliğinin değerlendirilmesinde mutlak E vitamini konsantrasyonundan ziyade, plazma E vitamini/total lipit oranına bakılır. Oranın 0,8mg/dl'in altına düşmesi eksiklik belirtisidir (62).

2.4.3. Absorpsiyon

Diyetle alınan E vitamini yağda çözülmüş olarak bulunur ve yağ sindirimi esnasında ortaya çıkıp gastrointestinal kanaldan absorbe olunur. Absorpsiyon safraya ve normal pankreas fonksiyonuna bağlıdır. Absorbe edilen E vitamini miktarı %20 ile %80 arasında değişiklik gösterirken, alınan doz arttıkça absorpsiyon oranı azalır. Absorbe edildikten sonra tokoferoller kanda plazma lipoproteinleriyle taşınırlar (33).

2.4.4. Diyet Kaynakları

Tokoferoller primer olarak yeşil yaprakların kloroplastlarında meydana gelmektedirler. E vitamini yaygın olarak hububat tanelerinde, mısır yağı, soya yağı, pamuk yağı, ay çiçek yağı ve diğer bitkisel sıvı yağlarda, et, karaciğer, balık, tavuk ve yumurtada bulunur. Kızartma, kaynatma ve saklama sırasında önemli ölçüde parçalanır (34, 107).

2.4.5. Gereksinim

İnsanlarda ve hayvanlarda sentezlenemeyen E vitamini önemli bir madde olduğu için gıdayla alınmak zorundadır. Normal değerler farklı populasyonlar arasında, kişiler arasında geniş farklılıklar göstermektedir ve lipoproteinler ile taşındığından lipit konsantrasyonu ile değişir. Besinler içindeki α -tokoferol miktarı, mg yada uluslararası ünite (IU) şeklinde ifade edilir. Doğal vitamin olan d- α -tokoferol'un 1 mg'ı 1,49 ünitelik bir etkinlik gösterir. E vitaminin günlük gereken optimal miktarı kesin olarak saptanamamıştır. Dünya Sağlık Örgütüne göre kabul edilebilir günlük alım insanlar için 0,15-2mg α -tokoferol/kg olarak saptanmıştır. 10-150mg α -tokoferol toksikolojik bakış açısıyla "kesin olarak emniyetli" olarak tanımlanmaktadır. Ancak 700mg gibi yüksek dozların kullanımının bile yan etki göstermediği bildirilmiştir (33).

2.4.6. Eksiklik

Günlük diyetine ilave olarak, uzun süre E vitamini alınmasının ateroskleroz ve koroner kalp hastalığı riskini azalttığı düşüncesi halen tartışmalı bir konudur. Erişkinlerde, yüksek dozlarda verildiğinde, çeşitli kanser türlerine ve hava kirliliğinden ileri gelen akciğer lezyonlarına karşı insanı koruduğu, kısırlık, kardiomyopati, menopozal sendrom, inflamatuvar cilt hastalıkları ve nöromusküler bozukluklar gibi durumlarda terapötik etkisi olduğu belirtilse de, bu durum kesin olarak ispatlanmamıştır (33).

2.4.7. Yumuşak Doku ve Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi

Organizmalarda, doku yaralanmalarından sonra yara alanında artan serbest oksijen radikallerinin, granülasyon dokusu oluşması üzerine, dolayısıyla kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri vardır. Serbest radikallerin, osteoklast hücrelerinin aktivasyonunu arttırarak, kemik rezorpsiyonunu hızlandırdıkları düşünülmektedir. E vitamininin, bu serbest radikalleri elimine edebileceği, lipit peroksidasyonunu engelleyebileceği ve kırık iyileşmesi üzerine pozitif etkisi olabileceği düşünülmüştür (94, 107).

Vitamin E'nin lipit peroksidasyonunu azalttığı, düz kas hücre proliferasyonunu, trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe ettiğini, monositler üzerine antiinflamatuvar etki uyguladığını ve endotelial fonksiyonunu düzelttiği kanıtlanmıştır (48). Yapılan bir çalışmada E vitamini trabeküler kemik miktarını ve osteoid hacmini bilinmeyen bir mekanizma ile arttırarak kemiğin uzunlamasına büyümesini etkilediği bildirilmiştir (107). Diğer bir çalışmada ise vitamin E, trabekül oluşumunu arttırarak ve oksidize ajanlar aracılığıyla kalsiyum kaybını engelleyerek kemik üzerine olumlu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir (84).

E vitamininin, kollagenin yıkımını azaltarak, peridontitis gibi lokal destrüktif inflamatuvar hastalıkların tedavisinde ve gingivektomilerde yara iyileşmesinin hızlandırılmasında kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu vitaminin yara iyileşmesi üzerine etkisinin mekanizması tam olarak açıklanmamış olmasına rağmen, immunostimulan ve antiinflamatuvar etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir (35).

E vitamini topikal olarak değişik deri lezyonlarının tedavisinde, yanık, cerrahi skar gibi yaraların iyileşmesinin hızlandırılmasında da kullanılmaktadır (34). Hayvan moellerinde yapılan çalışmalar, antioksidan alımı ile ateroskleroz ve kanser gelişimi insidansı arasında negatif korelasyon olduğunu göstermiştir (34).

Düşük dansiteli lipoprotein'nin (LDL) lipit peroksidasyon sırasında vitamin E tarafından baskılanması ile aterosklerotik süreçte anlamlı bir düşüş sağlanabileceği görülmüştür. Ayrıca bağışıklık sisteminin gelişimini teşvik ederek, tümör hücrelerinin apoptozisi tetiklemesi ve P53 tümör baskılayıcı genin aktivasyonuna etki ederek, neoplastik dönüşüm sürecini yavaşlatabileceği sonucuna varılmıştır (34).

2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklaşmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü ya da yüksüz atom veya moleküllerdir. Oldukça kararsız ve reaktif yapılar oldukları için yarılanma ömürleri çok kısadır. Çevrelerindeki atom veya moleküllere hücum ederek onlardan elektron almaya çalışırlar ve bir an önce kararlı hale ulaşmak ister. Serbest radikaller organizmada metabolik olaylar sırasında oluştuğu gibi, radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasal maddeler gibi çeşitli dış etkenler nedeniyle de oluşur (19, 35, 66, 115).

Serbest radikaller organizmada mitokondride ve hücrenin diğer fraksiyonlarında membrana bağlı veya serbest halde bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşur. Aerobik organizmalarda serbest radikallerin çoğu oksijen ve azot kaynaklıdır. Bunlardan bir kısmı radikal niteliklidir, bir kısmı ise bazı reaksiyonlara katıldıktan sonara radikallere dönüşür (66).

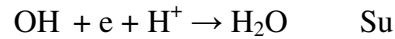
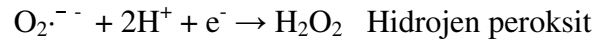
2.5.1. Serbest Oksijen Türevleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Hücrelerin çoğu kendileri için gerekli enerjiyi sağlamak için adenosin trifosfat oluşumu sırasında, sitokrom sisteminde oksijenin suya tam redüksiyonunu kullanmaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez ve bu yolla birtakım oldukça reaktif türler açığa çıkar. Bu stabil olmayan araçlar *reaktif oksijen serbest radikalleri* olarak adlandırılırlar. Bunlar hidrojen peroksit, superoksit ve hidroksil radikali ve singlet oksijendir (104).

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	OH [•]	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Alkoksil	RO [•]	Singlet oksijen	*O ₂
Peroksil	ROO [•]	Ozon	O ₃
Superoksit	O ₂ ^{•-}	Hipoklorid asit	HOCl
Nitrik oksit	NO [•]	Lipit hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO ₂ [•]	Peroksinitrit	ONOO ⁻

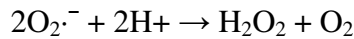
Tablo 2-1: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri

Aerobik organizmalar yaşamlarını sürdürebilmeleri için mutlaka oksijene ihtiyaç duyar. Oksijen hücrede bir dizi reaksiyondan geçerek suya dönüşür ve bu sayede hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlar. Fakat bu süreçte oksijenin %2-3 kadarı suya dönüşmeyip oksijen kaynaklı radikaller oluşur (66, 114). Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile superoksit radikali, iki elektron alarak indirgenmesi ile hidrojen peroksit oluşur. Üçüncü elektronun eklenmesi ile yüksek derecede reaktif hidroksil radikali, dördüncü elektron eklenmesiyle su oluşur.



2.5.1.1. Superoksit Radikali

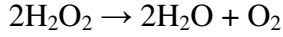
Aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest $\text{O}_2^{\cdot-}$ oluşmaktadır (66). Orta derecede oksidan olan superoksit radikalının kendisi direkt olarak asıl zarardan sorumlu değildir. Zincirleme reaksiyonları başlatabilme özelliğindedir. Asıl etkisi, hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynaklık etmesi ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. İki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri indirgenir ve böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelir.



Superoksit radikallerinin ortamdan temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Çeşitli kimyasal bileşikler ve özellikle yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar gibi fiziksel etkenler oksijenli ortamda süperoksit radikali oluştururlar (35).

2.5.1.2. Hidrojen Peroksit

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu meydana gelen peroksitin 2 hidrojen molekülü ile birleşmesinden H_2O_2 oluşur. Elektron yapısı nedeniyle serbest bir radikal olmayan H_2O_2 güçlü bir oksidan ajandır ve süperoksit veya demirle reaksiyona girerek hidroksil radikali oluştururlar (115).

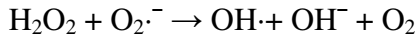
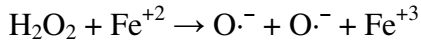
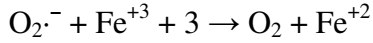


H_2O_2 , glutatyon peroksidaz ve katalaz tarafından su ve oksijene indirgenir.

Aerobik organizmalar oksijen kaynaklı oksidan serbest radikallerini oluşturmasına karşın, eř zamanlı olarak bu oksidan serbest radikallerin oluşumunu en az d¼zeve indirecek ya da oluştukları anda hızla parçalayacak, enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemlerini geliştirmişlerdir (114).

2.5.1.3. Hidroksil Radikali

Canlı dokuda meydana gelen en reaktif radikal türlerinden biri olan hidroksil radikali, H_2O_2 'din Fe gibi geçiş metallere varlığında indirgenmesiyle meydana gelirler.



Hidroksil radikalinin yarı ömrü oldukça kısa ve difüzyonu kısıtlı olduğu için çok düşük miktarlarda hücresel elemanlara büyük zararlar verebilir (35).

2.5.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada güçlü bir savunma sistemi olmasına rağmen, bazı durumlarda savunma sistemi yetersiz kalabilir ve makromoleküller hasar görebilir. Bunun sonucunda hasarın yerine bağlı olarak çeşitli organ ve sistemler etkilenebilir.

2.5.2.1. Serbest Radikallerin N¼kleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (17, 49, 66, 77, 114, 125)

2.5.2.2. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek yaşlanma olaylarında rol oynarlar (1, 66, 125).

2.5.2.3. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerden etkilenen proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Proteinlerde kırılmalar, çapraz bağlanmalar ve agregasyonlar oluşabilir. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri çok güçlü olmadıkça, hasar yapabilme aktiviteleri oldukça düşüktür (1, 66, 114, 125).

2.5.2.4. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Lipitler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar (66, 88, 114).

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri ($L\cdot$) ve lipit peroksit radikallerinin ($LOO\cdot$) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir. Hücre membranlarında lipit peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleridir (66). Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipit radikali niteliği kazanmasıyla başlar.

Lipit radikali ($L\cdot$) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit radikallerinin ($L\cdot$) moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikalleri ($LOO\cdot$) oluşur (64, 104, 125). Lipit peroksit radikalleri ($LOO\cdot$), membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit peroksitlerine ($LOOH$)

dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Lipit peroksitler yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşmaktadır. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilmektedir veya başlangıçtaki etki alanlarından geçerek hücrenin diğer bölümlerine hasarı yaymaktadırlar.

2.6. Antioksidanlar

Bir organizmanın sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi için oksidan/antioksidan dengesi çok önemlidir (35). Oksijenle sürekli temas halinde olmak serbest radikal oluşumuna sebep olur. Serbest radikal oluşumundaki artışa veya antioksidan sistemindeki yetersizliğe bağlı olarak organizmada oksidatif stres gelişir ve serbest radikallerinin zararlı etkileri ortaya çıkmaya başlar; hasarın yeri ve dağılımına bağlı olarak çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir (88, 112, 125).

Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini gösterir (35). Antioksidan sistem; enzimler, suda ve yağda çözünen radikal tutucuları ve metal iyonları bağlayan proteinleri kapsar (32, 66, 94).

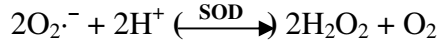
Enzimler	Suda çözünen radikal tutucuları	Yağda çözünen radikal tutucuları	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
Superoksit dismutaz	Glutasyon	E vitamini	Ferritin
Katalaz	C vitamini	β -Karoten	Transferrin
Glutasyon peroksidaz	Ürik asit	Bilirubin	Haptogloblin
Glutasyon redüktaz		Ubikinol	Seruloplazmin
Glutasyon transferaz		Flavonoidler	Albumin

Tablo 2-2: Organizmada antioksidan sistem elemanları

2.6.1. Antioksidan Sistemin Enzimleri

2.6.1.1. Superoksit Dismutaz (SOD)

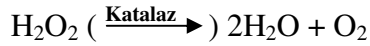
SOD enzimi superoksit radikalini dismutasyona uğratarak H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dır.



İnsanlarda SOD'un Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD olmak üzere iki izoenzimi vardır. Bakır ve çinko içeren tipi sitozolde, mangan içeren tipi ise mitokondride bulunur. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazla, buna karşılık ekstrasellüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür (94, 112, 117).

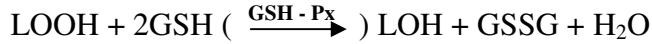
2.6.1.2. Katalaz

Katalaz enzimi H_2O_2 'i oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler. Enzim, peroksizomlarda bulunur.(117)



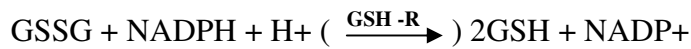
2.6.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, H_2O_2 , lipit hidroperoksitleri (LOOH) üzerine etkilidir. GSH-Px'in iki farklı tipi vardır. Aktivitesi için seleniyuma gereksinim duyan formu hem H_2O_2 hem de LOOH'leri, seleniyum gerektirmeyen formu ise sadece LOOH'leri metabolize eder. Bu reaksiyonlarda glutatyon (GSH) hidrojen vericisi olup H_2O_2 ve LOOH'ler indirgenirken, GSH oksitlenmiş şekline (GSSG) dönüşür.



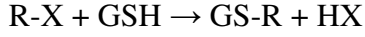
2.6.1.4. Glutatyon Redüktaz (GSH-R)

GSSG ise NADPH'a bağımlı glutatyon redüktaz (GSH-R) tarafından tekrar GSH'a indirgenir.(94)



2.6.1.5. Glutasyon Transferaz (GST)

GST dimerik yapıda olup sitozolde bulunur. Çok sayıda izoenzimi vardır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rolleri olan GST'ler çeşitli endojen ve ekzojen bileşiklerin GSH ile birleşmesini kataliz eder.



GST'lerin bazı izoenzimleri GSH-Px aktivitesi göstererek LOOH'ların metabolizmasını da sağlar.



2.6.1.6. Glutasyon (GSH)

GSH hücre için en önemli antioksidan molekülüdür ve serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. GSH zehirsizleştirme reaksiyonlarına doğrudan katıldığı gibi, bazı enzimlerin substratı veya kofaktörü olarak görev yapar. Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek oranda bulunur. Glutamat, sistein, ve glisinden sentezlenen bir tripeptittir ve sülfidril grupları açısından oldukça zengindir. GSH-Px, GSH-R ve GST gibi enzimlerin fonksiyonu için gereklidir. Ayrıca hücrenin protein yapısındaki sülfidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. GSH amino asitlerin membrandan geçişinde rol alır (49, 94, 117).

2.7. Oksidan/Antioksidan Dengeyi Belirleyen Biyokimyasal Parametreler

2.7.1. MDA

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu malondialdehit (MDA) meydana gelmektedir. MDA yağ asidi oksidasyonun spesifik göstergesi olmakla birlikte lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon göstermektedir. Bu nedenle biyolojik sıvılarda MDA tayini lipid peroksit seviyelerinin göstergesi olarak kullanılmaktadır (19, 49, 88, 94, 104, 114, 125).

2.7.2. AOPP

Advanced oxidation protein products (AOPP) olarak adlandırılan, 1996'da kronik üremik hastaların plazmasında, yeni bir oksidatif stres belirteci tespit edildi.

AOPP, oksidatif modifikasyona uğrayan yüksek molekül ağırlığına sahip albüminin son çapraz bağlanma ürünüdür (120).

2.7.3. Nitrik Oksit (NO)

NO organizmada yaygın olarak bulunan, birçok hücre ve dokuda doğal olarak sentezlenen bir moleküldür. NO normal fizyolojik olayların düzenlenmesinde ve çeşitli patolojik süreçlerin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Hızlıca nitrat ve nitrite okside edildiği için yarılanma ömrü saniyelerle ifade edilen NO, serbest radikal özelliğinde bir gazdır. Son derece labil olup, oksijen ve su aracılığı ile nitratlara (NO_3^-) ve nitritlere (NO_2^-) parçalanır. Bu türevlerin hepsini birden NO_x sembolünü kullanarak ifade ediyoruz (28, 29, 57, 77, 88, 90, 116).

NO bölünmeyi durdurarak dokular üzerinde baskılayıcı etkiye sahiptir. Güçlü bir vazodilatör etkiye sahip olan NO, aynı zamanda önemli bir hücre içi ve hücre dışı sinyalizasyon ajanıdır, vasküler tonusun düzenlenmesinde rol alır. İnflamasyon, vazodilatasyon, apoptoz ve karsinogenez olaylarına karışır. Yağda çözünebilen ve biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilen NO'nun basit bir kimyasal yapısı olmasına karşın organizmaya etkileri karmaşıktır (115). NO, nitrik oksit sentetaz (NOS) denilen bir grup enzim tarafından L-argininin substrat olarak kullanılmasıyla üretilir. NOS enziminin 3 izoformu vardır. Bunlar endotelial NOS (eNOS veya tip III) olarak, indüklenbilir NOS (iNOS veya tip II), nöronal NOS (nNOS veya tip I), olarak tanımlanmaktadır. Bunlardan eNOS ve nNOS kalsiyum bağımlı olarak çalışırlar. iNOS ise kalsiyuma duyarlıdır. Endotoksin ve sitokinler tarafından indüklenbilir. nNOS ve eNOS başlıca nöronlar ve endotelial hücrelerden salgılanabildiği gibi diğer hücrelerden de salgılanabilirler. iNOS'un salınımı bakteriyel polisakkaritlerin ya da birçok hücreyi özellikle de makrofajları ilgilendiren inflamasyon bağlantılı sitokinlerin indüksiyonu ile etkilenir (24, 28, 29, 57, 90, 116, 130, 131).

2.7.4. FRAP

Plazmanın in vitro demiri redükleyebilme kapasitesini ölçen FRAP testleriyle, ürik asit, askorbik asit, vitamin E, bilirubin ve protein gibi antioksidanların miktarı ölçülebilmektedir (8, 88).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmamızda kullanılan gereçlerin listesi aşağıda verilmiştir.

- 74 adet 10-12 haftalık erkek Wistar-Albino cinsi 250 ± 20 g ağırlığında erkek sıçan
- Ketamin HCl (Ketalar®, Parke Davis)
- Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer-Türkiye)
- Thiopental sodium (Pentotal®, 250 I.E Ulagay I. S., İstanbul, Turkey)
- Vitamin E (dl-Alfa Tokoferol Asetat – Evigen)
- Diklofenak sodyum (Voltaren®)
- İnsülin enjektörleri
- 5cc'lik enjektörler
- 5 cc'lik heparinli tüpler
- % 0,9 serum fizyolojik
- Formaldehit (% 10'luk formol)
- Ameliyat seti
- Tur motoru ve piyasemen
- 1mm çapında yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frez
- 3-0 ipek dikiş ipliği (Doğsan, İstanbul, Türkiye)
- Santrifüj cihazı
- AOPP, NO_x, MDA ve FRAP, ölçümleri için kimyasallar

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneysel Hayvanlar ve Grupları

Çalışmamızda deney hayvanlarının ameliyatları İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı laboratuvarında, kemik dokuların histopatolojik incelemeleri İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Anabilim Dalı'nda, plazma örneklerinin AOPP, NOx, MDA ve FRAP incelemeleri İ.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır.

Bu proje kapsamındaki hayvan deneyleri için, İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alınmıştır.

Çalışmamızda kullanılan 74 adet Wistar-Albino cinsi 250 ± 20 g ağırlığında 10-12 haftalık erkek sıçanlar 21°C sıcaklıkta deney süreleri boyunca metal kafesler içerisinde muhafaza edilmişlerdir. Deney hayvanları, İstanbul Yem Sanayi tarafından üretilen %21 oranında protein içeren standart sıçan yemi ve distile su ile beslenmişlerdir.

Çalışmamızda kullanılan 74 adet sıçan başlangıçta 5 ana gruba ayrıldı. Sham grubu 10 adet sıçandan oluşurken, kalan gruplardaki hayvan sayısı 16 olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra her grup kendi içinde eşit olarak iki alt gruba ayrıldı. Bunlar 15. gün ve 30. gün deney gruplarını oluşturdu.

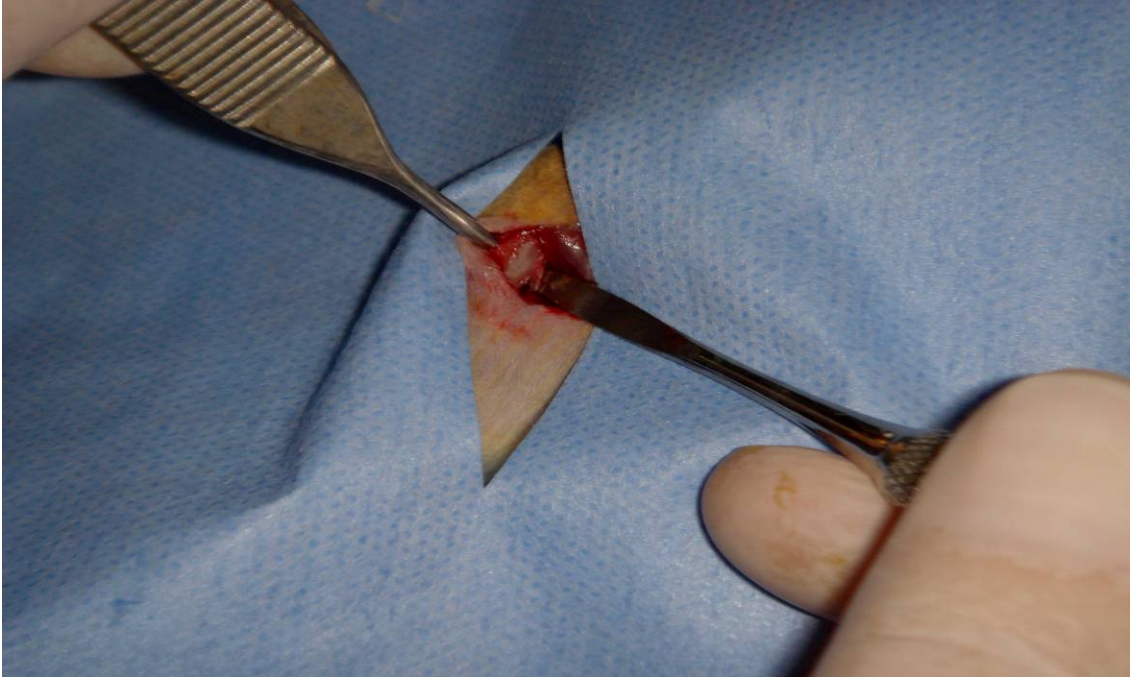
Bu şekilde çalışmaya hazırlanan 74 adet sıçan, uygulanacak deney prosedürlerine göre, Sham grubu hariç her birinde 8 adet sıçan bulunan toplam 5 gruba ayrıldı.

Sham grubundaki hayvanlara hiçbir deneysel işlem yapılmayarak biyokimyasal analizlerde kontrol grubu olarak kullanıldı.

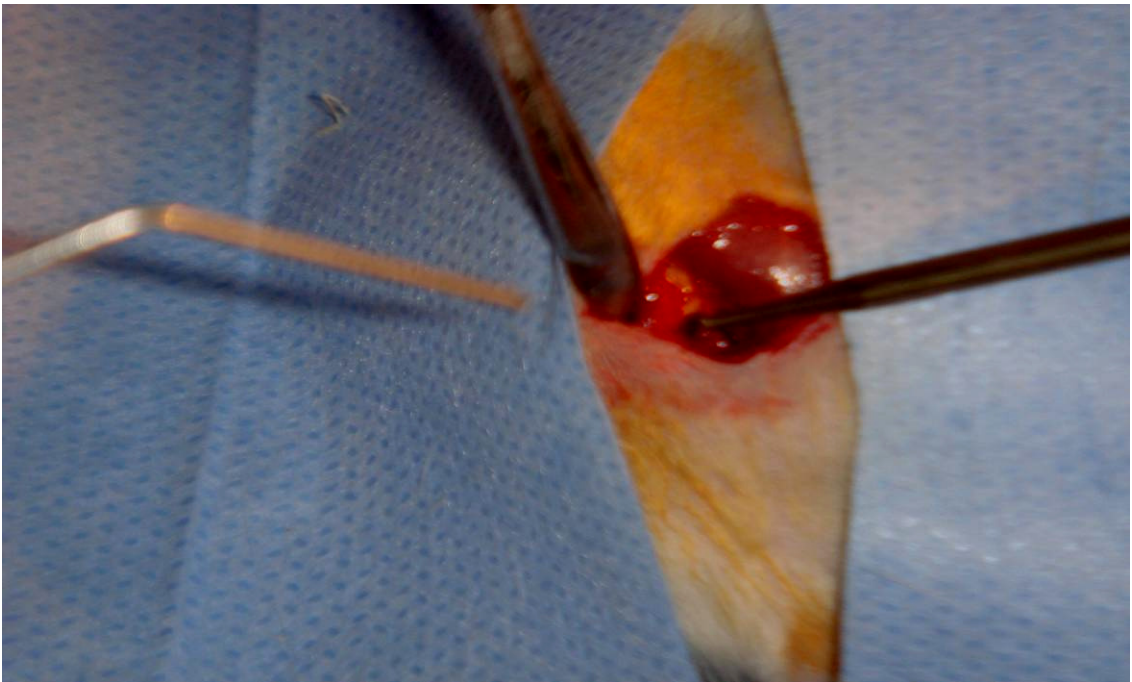
3.2.2. Cerrahi İşlemler

Sıçanlara 75mg/kg İ.M. ketamin HCl ve 10 mg/kg ksilazin HCl enjeksiyonuyla genel anestezi uygulandı. Standart pozisyona getirilen sıçanların sağ bacaklarının medial yüzleri tıraşlanıp, iyot solüsyonuyla dezenfekte edildikten sonra, tibiaların medial yüzeylerine ulaşmak amacıyla 20mm uzunluğunda longitudinal cilt disseksiyonu yapıldı. Künt disseksiyonla tibiaların medial yüzeyine ulaşıldı. Serum fizyolojik irrigasyonu altında tur motoru piyasemenine takılı 1mm çapındaki paslanmaz çelik yuvarlak uçlu cerrahi frezle 8 mm uzunluğunda ve 2 mm genişliğinde korteks ve

medulla tabakalarını içine alan kemik defektleri oluşturuldu. Bu işlemler tamamlandıktan sonra operasyon sahası 3-0 ipek dikişlerle kapatıldı.



Şekil 3-1: Tibiannın periosttan sıyrılarak ortaya çıkartılması



Şekil 3-2: Deney hayvanının tibiasında defekt hazırlanması

3.2.3. Gruplar

Grup1: (Sham grubu) Toplam 10 sıçandan oluştu. Bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

15S grubu-Bu gruptaki deneklere hiçbir işlem uygulanmadan, 15.günde sıçanlar sakrifiye edildi.

30S grubu-Bu gruptaki deneklere hiçbir işlem uygulanmadan, 30. günde sıçanlar sakrifiye edildi.

Grup2: (Kontrol grubu) Toplam 16 sıçandan oluştu. Bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

15K grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Defekt oluşturulduktan 15 gün sonra bu gruptaki sıçanlar sakrifiye edildi.

30K grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Defekt oluşturulduktan 30 gün sonra bu gruptaki sıçanlar sakrifiye edildi.

Grup3: (NSAİ grubu) (diklofenak sodyum-Voltaren) Toplam 16 sıçandan oluştu. Bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

15N grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Operasyon gününden başlayarak 15 gün boyunca her gün 5mg/kg İ.P. diklofenak sodyum (Voltaren) enjeksiyonu yapıldı, 15. günde sakrifiye edildi.

30N grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Operasyon gününden başlayarak 30 gün boyunca her gün 5mg/kg İ.P. diklofenak sodyum (Voltaren) enjeksiyonu yapıldı, 30. günde sakrifiye edildi.

Grup4: (Vitamin grubu) Toplam 16 sıçandan oluştu. Bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

15V grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Operasyon gününden başlayarak 15 gün boyunca her gün 40 mg/kg İ.P vitamin E enjeksiyonu yapıldı. 15. günde sakrifiye edildi.

30V grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Operasyon gününden başlayarak 30 gün boyunca her gün 40 mg/kg İ.P. vitamin E enjeksiyonu yapıldı. 30. günde sakrifiye edildi.

Grup5: (NSAİ+Vitamin grubu) Toplam 16 sıçandan oluştu. Bu grup 2 alt gruba ayrıldı.

15NV grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Operasyon gününden başlayarak 15 gün boyunca her gün 5mg/kg İ.P. diklofenak sodyum (Voltaren) ve 40 mg/kg İ.P. vitamin E enjeksiyonu yapıldı. 15. günde günde sakrifiye edildi.

30NV grubu-Tüm deneklerin sağ tibialarına defekt oluşturuldu. Operasyon gününden başlayarak 30 gün boyunca her gün 5mg/kg İ.P. diklofenak sodyum (Voltaren) ve 40 mg/kg İ.P. vitamin E enjeksiyonu yapıldı. 30. günde sakrifiye edildi.

Tüm gruplardaki hayvanlardan sakrifikasyon sırasında biyokimyasal inceleme için Heparin’li tüplere intrakardiyal kan alındı. Sakrifikasyondan sonra histopatolojik inceleme için defekt oluşturduğumuz sağ tibialar çıkarıldı.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Sakrifikasyon sonrası çıkartılan tibialar histopatolojik değerlendirmesi öncesi %10’luk tamponlanmış formalinde 1 hafta süre ile fikse edildi. Fiksasyondan sonra tüm materyal %50’lik formik asit ve %20’lik sodyum sitrat çözeltilerinden 1’er ölçek alınarak hazırlanan solusyonda dekalsifiye edildi. Dekalsifiye parçalar rutin doku takibinden geçirildikten sonra hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5-7mikron kalınlığındaki kesitler hematoksilen–eozin yöntemiyle boyanıp ışık mikroskopunda incelendi.

İncelememiz sırasında “Olympus Soft imaging system analySIS FIVE” görüntü analiz sistemi kullanıldı. İncelenen kesitlerde 400 büyütme altında tüm görüntü alanını kaplayan üçer saha esas alınarak digital görüntüler elde edildi ve bu alanlarda iltihap, nekroz, fibrozis ve kemik yapımı göz önünde bulundurularak yeni kemik yapımının kapladığı alanlar hesaplandı. Bu bulgulara bir büyük büyütme alanında kapladıkları bölgenin yüzdesine göre %1-30, %30-60 ve >%60 olmak üzere değer verildi. Kemik

yapımı değerlendirmesinde defekt alanında hiç kemik yapımı yoksa 0, defektin %1-30 (+), %30-60 (++) , >%60 (+++) değerleri verildi.

3.4. Biyokimyasal Analizler

Sakrifikasyon sırasında tüm sıçanlardan intrakardiyak olarak alınan kanlardan elde edilen plazmalar -80°C 'de analiz gününe kadar saklandı. Bu plazma örneklerinde AOPP, NOx, MDA, ve FRAP ölçümleri yapıldı.

3.4.1. Plazma AOPP (Advanced Oxidation Protein Products) Ölçümü

AOPP düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçümlendi. 20, 40, 60, 80 ve 100 μM chloramine T solüsyonları standart grafik çizilmesi için kullanıldı. Absorbanlar 340 nm dalgaboyunda okundu. Sonuçlar μmol chloramine T eşdeğerleri / L plazma [$\mu\text{mol/L}$] olarak ifade edildi (120).

3.4.2. Plazmada Nitrat/Nitrit (NOx) Ölçümü

Bir serbest radikal olan Nitrik oksit, oksijenli ortamda stabil değildir ve spontan olarak moleküler oksijen ile reaksiyona girerek, çeşitli nitrojen oksit ürünlerine dönüşmektedir. Oluşan bu ürünler içerisinde en stabil ürünlerin NO_2^- (nitrit) ve NO_3^- (nitrat) olduğu gösterilmiştir. Plazma nitrat/nitrit konsantrasyonlarını tayin etmek için bazı modifikasyonlar uygulanarak, Grisham'ın metodu kullanıldı. NO_3^- , Aspergillus nitrat redüktaz enzimi yardımı ile NO_2^- haline ve bunu takiben NO_2^- 'nin tayini Griess ayırıcı ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Plazma NOx miktarları [$\mu\text{mol/L}$] olarak ifade edildi (46).

3.4.3. Plazma MDA (Malondialdehit) Ölçümü

Çok doymamış yağ asitlerinin yıkılımı sonucu oluşan MDA lipid peroksidasyonunun tayininde önemli bir indekstir. Lipit peroksidasyonunun ürünü olan MDA tiyobarbitürik asit reaksiyonuna girerek, 535nm'de absorban veren kırmızı renkli bir bileşik oluşturur. Örneklerin MDA konsantrasyonunu hesaplamak için MDA'nın ekstinsiyon katsayısı ($\epsilon=1,56 \times 10^5\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanıldı. MDA konsantrasyonları nmol MDA / ml plazma [nmol/ml] olarak ifade edildi (15).

3.4.4. Plazma FRAP (Ferric Reducing / Antioxidant Power Assay) Ölçümü

FRAP antioksidanların indirgeyici özelliklerine dayanan bir methoddur. Düşük pH'da, ferric-tripyridyltriazin (Fe^{3+} -TPTZ) kompleksi antioksidanlar tarafından indirgenerek mavi renkli (Fe^{2+} -TPTZ) haline gelir. Oluşan mavi rengin absorbansı 593nm dalga boyunda okunur. Absorbans değişikliği ve plazmada bulunan elektron verici antioksidanlar arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. 500 μ M FeSO₄ çözeltisi standart olarak kullanıldı. Örneklerin FRAP aktivitesi [μ mol/L] olarak ifade edildi (8).

3.5. İstatiksel Analizler

Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS 2007 paket programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra, gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi, alt grup karşılaştırmalarında Dunn's çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında χ^2 testi kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

Tablo 4-1: Grupların İltihap, Fibrozis, Yeni kemik oluşumu değerleri

Gruplar		İltihap değerleri		Fibrozis değerleri		Yeni kemik oluşumu	
		15.gün	30.gün	15.gün	30.gün	15.gün	30.gün
Sham	Yok	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	%1-30	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	%31-60	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	>%60	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Kontrol	Yok	12,5%	100%	0%	0%	0%	0%
	%1-30	87,5%	0%	37,5%	57,1%	0%	0%
	%31-60	0%	0%	62,5%	42,9%	75%	28,6%
	>%60	0%	0%	0%	0%	25%	71,4%
NSAİ	Yok	87,5%	87,5%	0%	0%	0%	0%
	%1-30	12,5%	12,5%	0%	50%	12,5%	0%
	%31-60	0%	0%	100%	50%	75%	75%
	>%60	0%	0%	0%	0%	12,5%	25%
Vit	Yok	25%	100%	0%	0%	0%	0%
	%1-30	62,5%	0%	62,5%	28,6%	12,5%	0%
	%31-60	12,5%	0%	25%	71,4%	50%	14,3%
	>%60	0%	0%	12,5%	0%	37,5%	85,7%
NSAİ+Vit	Yok	37,5%	100%	0%	0%	0%	0%
	%1-30	62,5%	0%	75%	75%	12,5%	0%
	%31-60	0%	0%	25%	25%	62,5%	50%
	>%60	0%	0%	0%	0%	25%	50%

Tablo 4-2: Grupların İltihap değerlerinin ki-kare testi ile karşılaştırılması

İltihap		Sham	Kontrol	NSAİ	Vit	NSAİ+Vit
15. Gün	Yok (-)	100,0%	12,5%	87,5%	25,0%	37,5%
	%1-30 (+)	0,0%	87,5%	12,5%	62,5%	62,5%
	%31-60 (++)	0,0%	0,0%	0,0%	12,5%	0,0%
30. Gün	Yok (-)	100,0%	100,0%	87,5%	100,0%	100,0%
	%1-30 (+)	0,0%	0,0%	12,5%	0,0%	0,0%
		p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05

Kontrol grubunun 15. gün (+) iltihap varlığı dağılımları 30. günden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**). (Tablo: 4-2)

Vit grubunun 15. gün (+) iltihap varlığı dağılımları 30. günden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (**p<0,05**). (Tablo: 4-2)

NSAİ+Vit grubunun 15. gün (+) iltihap varlığı dağılımları 30. günden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**). (Tablo: 4-2)

Sham grubunun 15. gün iltihap negatiflik dağılımı Kontrol, Vit ve NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**).

Kontrol grubunun 15. gün (+) iltihap varlığı dağılımı NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**).

NSAİ grubunun 15. gün iltihap negatiflik dağılımı Kontrol, Vit, NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**).

Tablo 4-3: Grupların Fibrozis değerlerinin ki-kare testi ile karşılaştırılması

Fibrozis		Sham	Kontrol	NSAİ	Vit	NSAİ+Vit
15. Gün	Yok (-)	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	%1-30 (+)	0,0%	37,5%	0,0%	62,5%	75,0%
	%31-60 (++)	0,0%	62,5%	100,0%	25,0%	25,0%
	%>60 (+++)	0,0%	0,0%	0,0%	12,5%	0,0%
30. Gün	Yok (-)	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	%1-30 (+)	0,0%	57,1%	50,0%	28,6%	75,0%
	%31-60 (++)	0,0%	42,9%	50,0%	71,4%	25,0%
		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05

NSAİ grubunun 15. gün (++) fibrozis varlığı dağılımları 30. günden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**). (Tablo: 4-3)

NSAİ grubunun 15.gün (++) fibrozis varlığı dağılımları Vit ve NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,05**).

Tablo 4-4: Grupların Yeni kemik oluşumu değerlerinin ki-kare testi ile karşılaştırılması

Yeni kemik oluşumu		Sham	Kontrol	NSAİ	Vit	NSAİ+Vit
15. Gün	Yok (-)	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	%1-30 (+)	0,0%	0,0%	12,5%	12,5%	12,5%
	%31-60 (++)	0,0%	75,0%	75,0%	50,0%	62,5%
	%>60 (+++)	0,0%	25,0%	12,5%	37,5%	25,0%
30. Gün	Yok (-)	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	%31-60 (++)	0,0%	28,6%	75,0%	14,3%	50,0%
	%>60 (+++)	0,0%	71,4%	25,0%	85,7%	50,0%
		p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Kontrol grubunun 15.gün (+++) yeni kemik oluşumu varlığı dağılımları 30. günden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (**p<0,05**). (Tablo: 4-4)

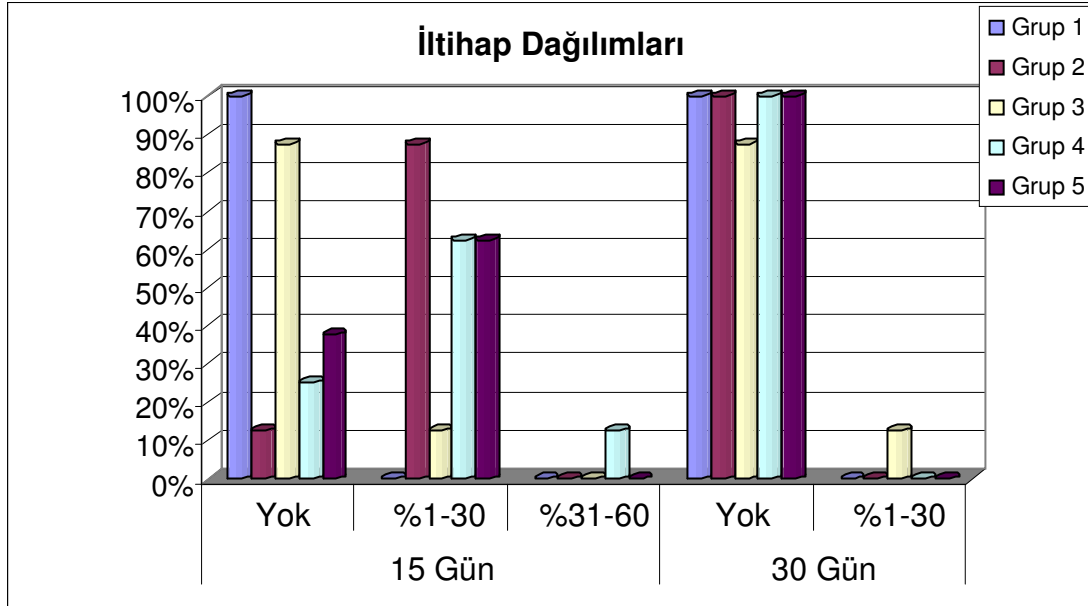
Vit. grubunun 30. gün (+++) yeni kemik oluşumu varlığı dağılımları NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. (**p<0,05**)

15. ve 30. günlerde hiçbir grupta nekroza rastlanmamıştır.

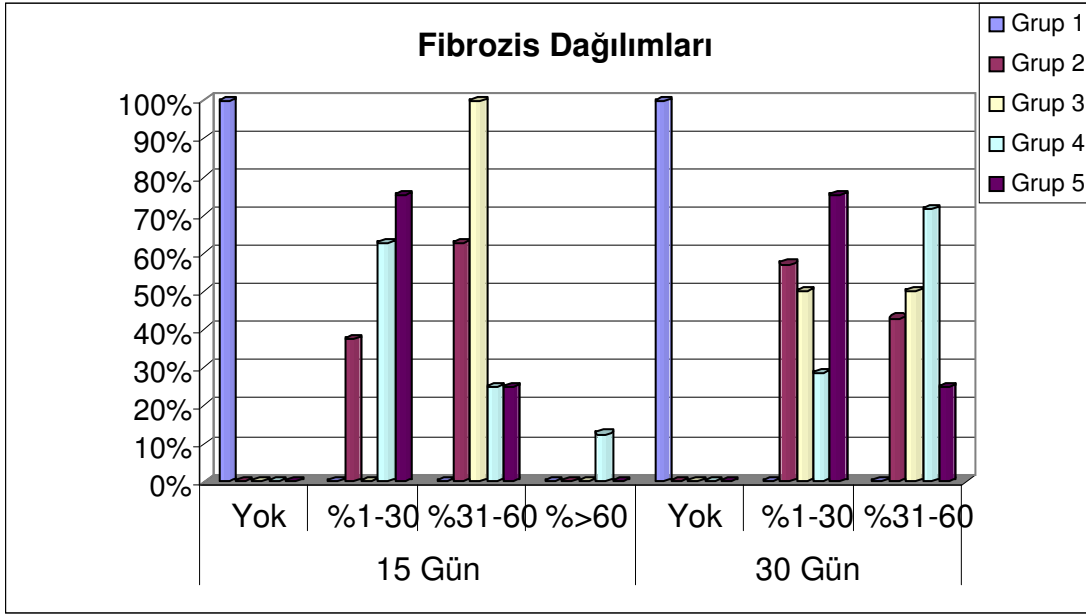
Tablo 4-5: İltihap, Fibrozis, Yeni kemik oluşumu değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması *

Gruplar	15.gün			30.gün		
	İltihap P	Fibrozis P	Yeni kemik P	İltihap P	Fibrozis P	Yeni kemik P
Sham/Kontrol	0,002	0,001	0,001	0,467	0,002	0,002
Sham/ NSAİ	0,410	0,003	0,004	0,549	0,001	0,001
Sham/ Vit	0,030	0,002	0,004	0,561	0,002	0,002
Sham/NSAİ+Vit	0,024	0,001	0,004	0,278	0,001	0,001
Kontrol/ NSAİ	0,002	0,05	0,513	0,410	0,782	0,072
Kontrol/ Vit	0,434	0,248	0,449	0,864	0,280	0,514
Kont/ NSAİ+Vit	0,248	0,130	0,579	0,871	0,464	0,398
NSAİ/Vit	0,039	0,008	0,496	0,485	0,398	0,018
NSAİ/NSAİ+Vit	0,038	0,001	0,808	0,208	0,301	0,301
Vit/NSAİ+Vit	0,548	0,876	0,885	0,731	0,072	0,143

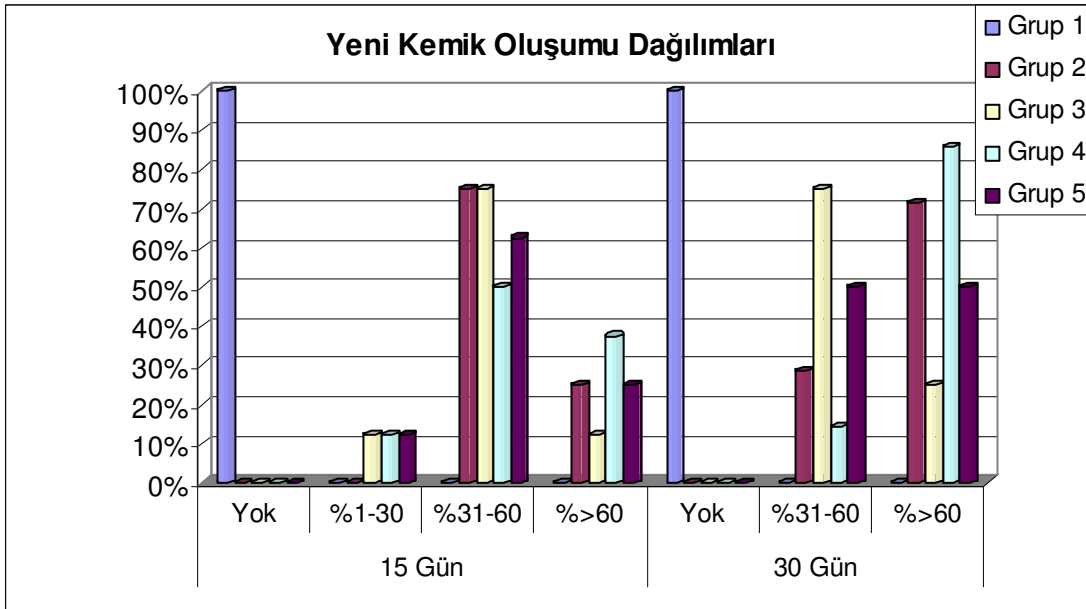
- İltihap, Fibrozis, Yeni kemik oluşumu değerlerinin istatistiksel incelemesinde ki-kare testi ile Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı.



Şekil 4-1: Grupların 15. ve 30. gün İltihap değerlerinin dağılımı



Şekil 4-2: Grupların 15. gün ve 30. gün Fibrozis değerlerinin dağılımı



Şekil 4-3: Grupların 15. ve 30. gün Yeni kemik oluşumu değerlerinin dağılımı

Histopatolojik Bulgular

15. gün Kontrol grubu

Defekt bölgesinde, hafif şiddette lenfosit, plazma hücresi, nötrofil ve eozinofil polimorf infiltrasyonu saptanmıştır. Genç mezenkim hücreleri, fibrosit ve fibroblastlardan zengin, fibröz doku görülmektedir. Yeni kemik trabekülleri seçilmektedir. Hiçbir denekte nekroza rastlanmadı.

15. gün NSAİ grubu

Damardan zengin fibröz doku, fibrosit ve fibroblastlar izlendi. Yeni kemik trabekülleri görüldü.

15. gün Vit grubu

Trabeküler kemik ve hücresele kemik iliği saptandı. Yer yer fibrosit, fibroblast, lenfosit, plazma hücresi görüldü.

15. gün NSAİ+Vit grubu

Yeni kemik trabeküllerin, defekt bölgesini kapattığı görüldü. Yer yer fibrosit, fibroblast ve iltihap hücrelerine rastlandı.

30. gün Kontrol grubu

Defekt bölgesinde ince yeni kemik köprüsü görüldü. Hiçbir denekte iltihap hücresi ve nekroza rastlanmadı.

30. gün NSAİ grubu

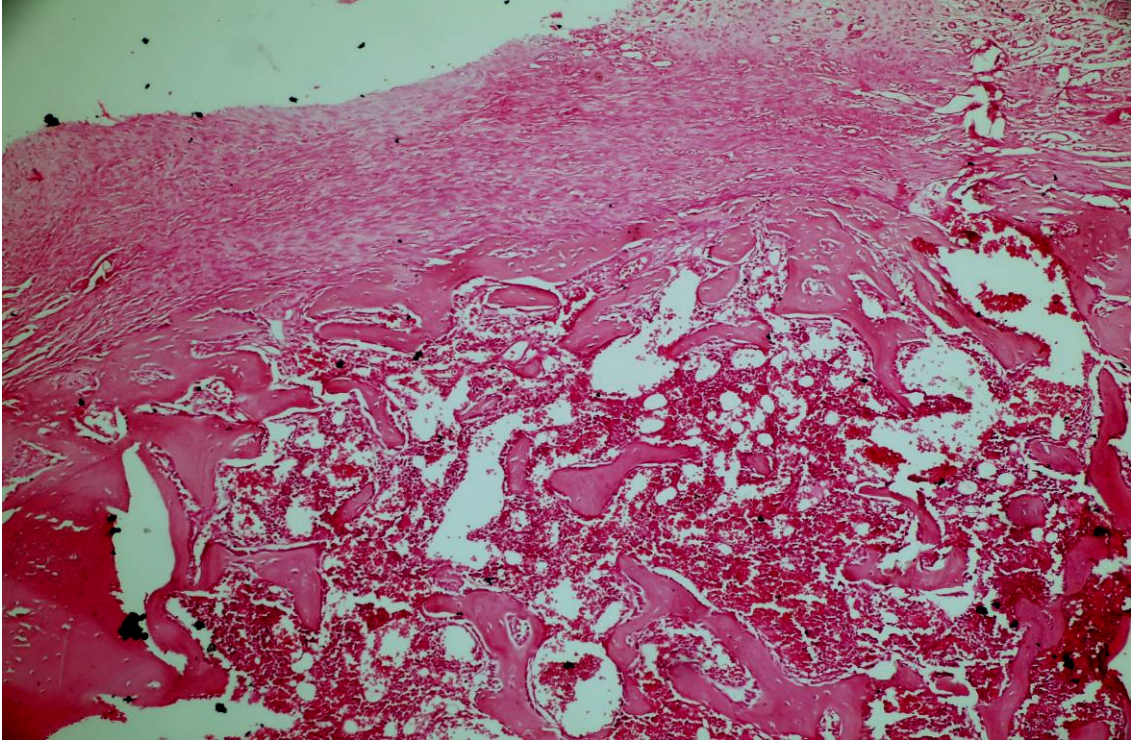
Trabeküler yeni kemik dokusu ve kemik iliği görüldü. Yer yer fibröz bağ dokusu alanlara rastlandı.

30. gün Vit grubu

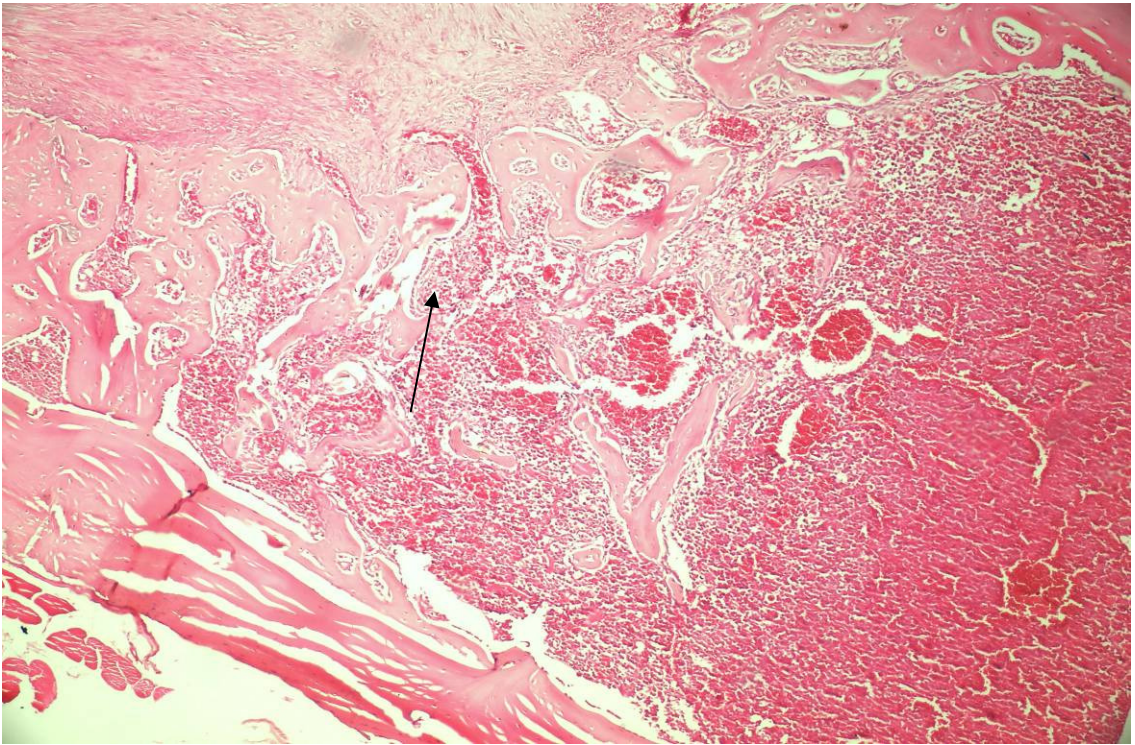
Defekt alanında lameller tipte kompakt kemik dokusu görüldü. İltihap dokusu görülmedi. Fibröz doku alanlarına rastlandı.

30. gün NSAİ+ Vit grubu

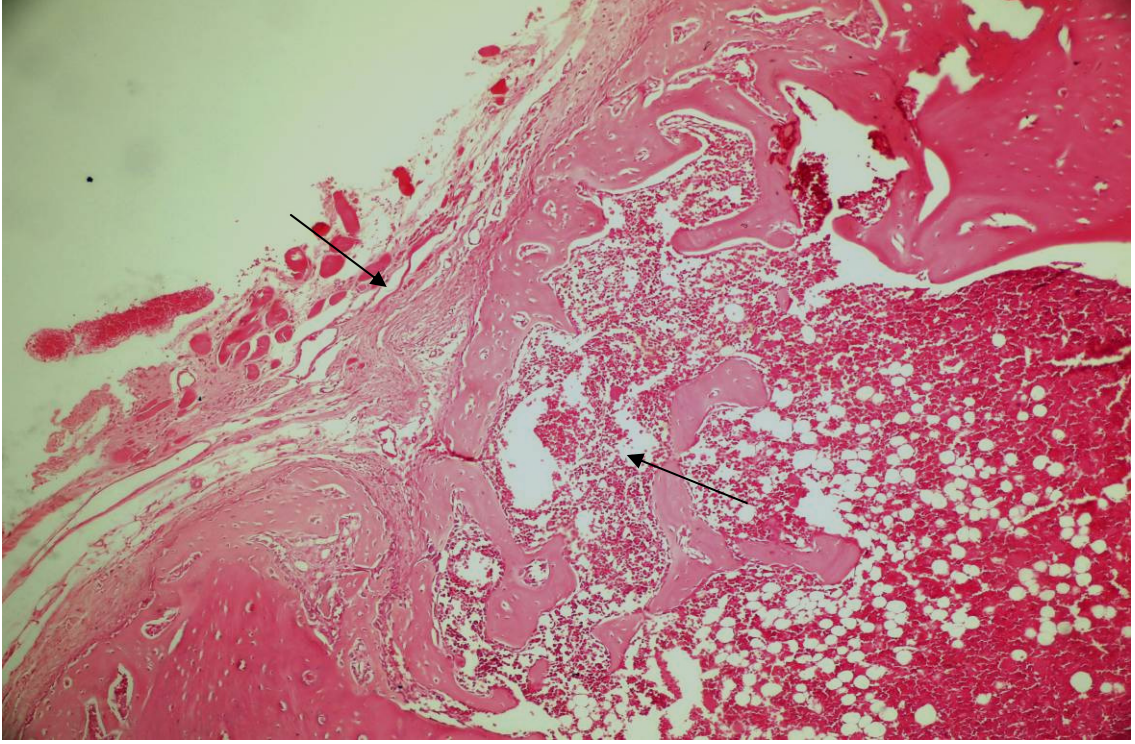
Hücresele kemik iliği içeren yeni kemik dokusu, yer yer fibrosit ve fibroblast hücreleri izlendi.



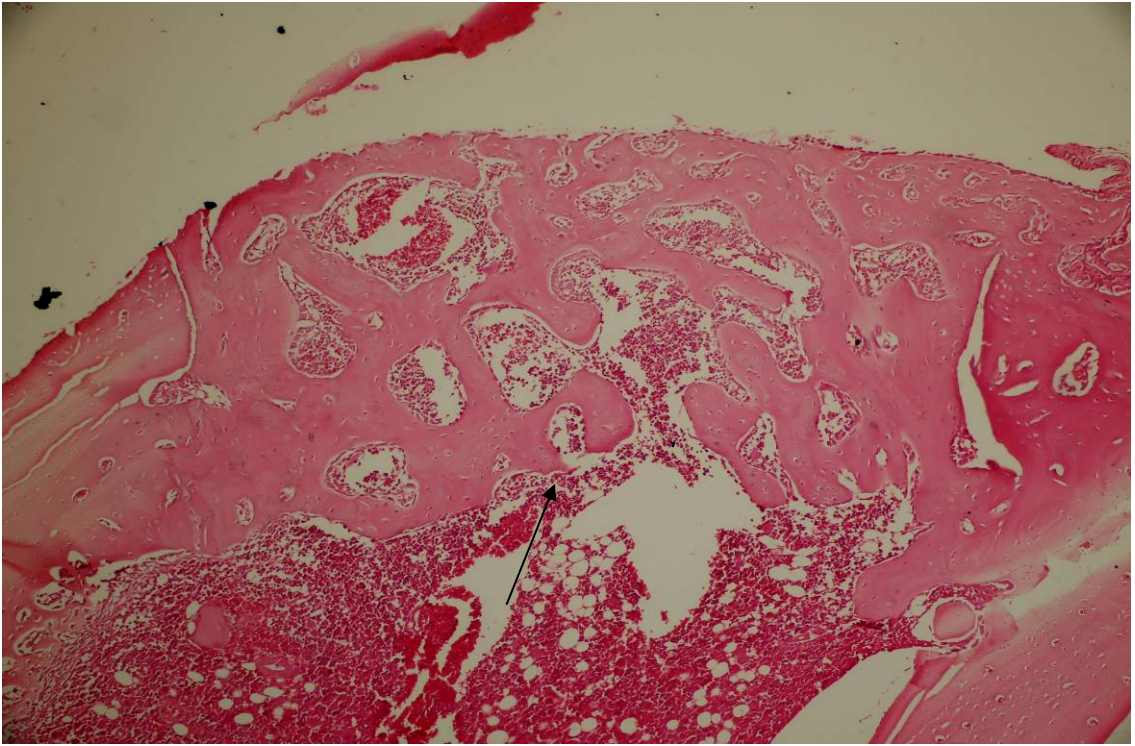
Şekil 4-4: 15. gün Kontrol grubunda defekt bölgesinde genç mezenkim hücrelerinden oluşan fibröz doku içinde kemik fragmanları arasında köprü oluşturma eğliminde yeni kemik trabekülleri (H.E. x 100)



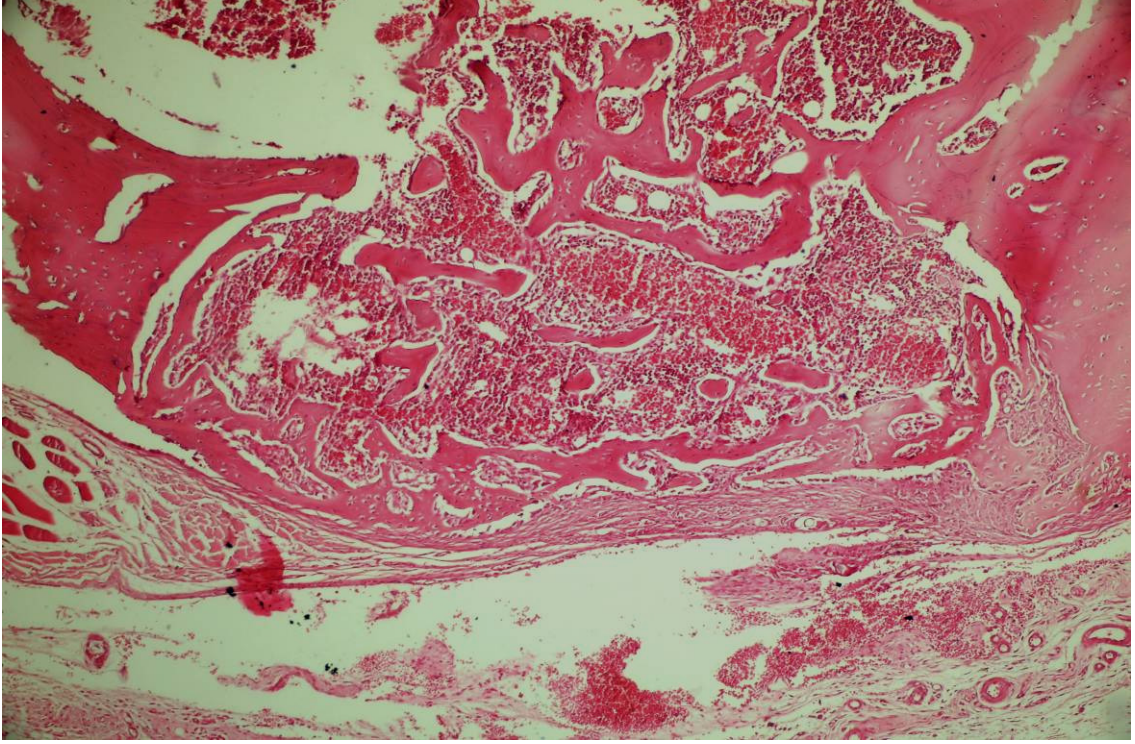
Şekil 4-5: 15. gün NSAİ grubunda, defekt uçları arasında, damardan zengin fibröz doku içinde, defekt bölgesini büyük ölçüde kapatmış ince yeni kemik köprüsü (H.E. x 100)



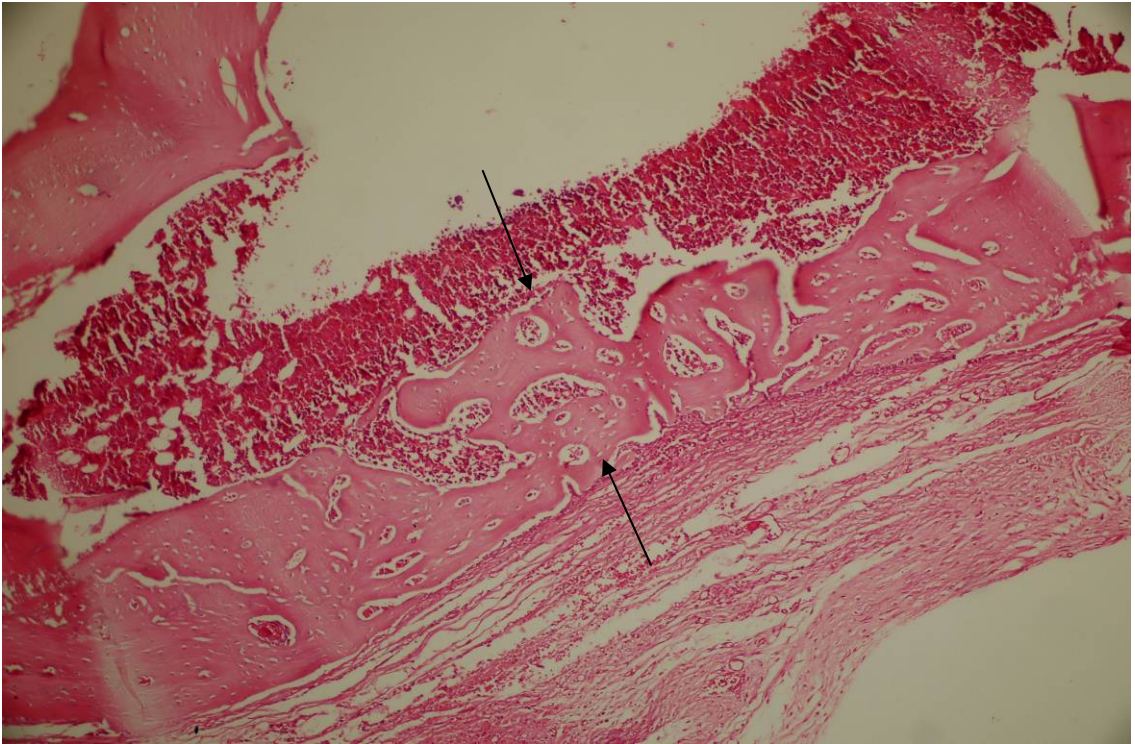
Şekil 4-6: 15. gün Vitamin grubunda defekt bölgesinde kortikal uçlar arasını kapatan aralarında hücreli kemik iliği bulunan trabeküler kemik dokusu (H.E. x 100)



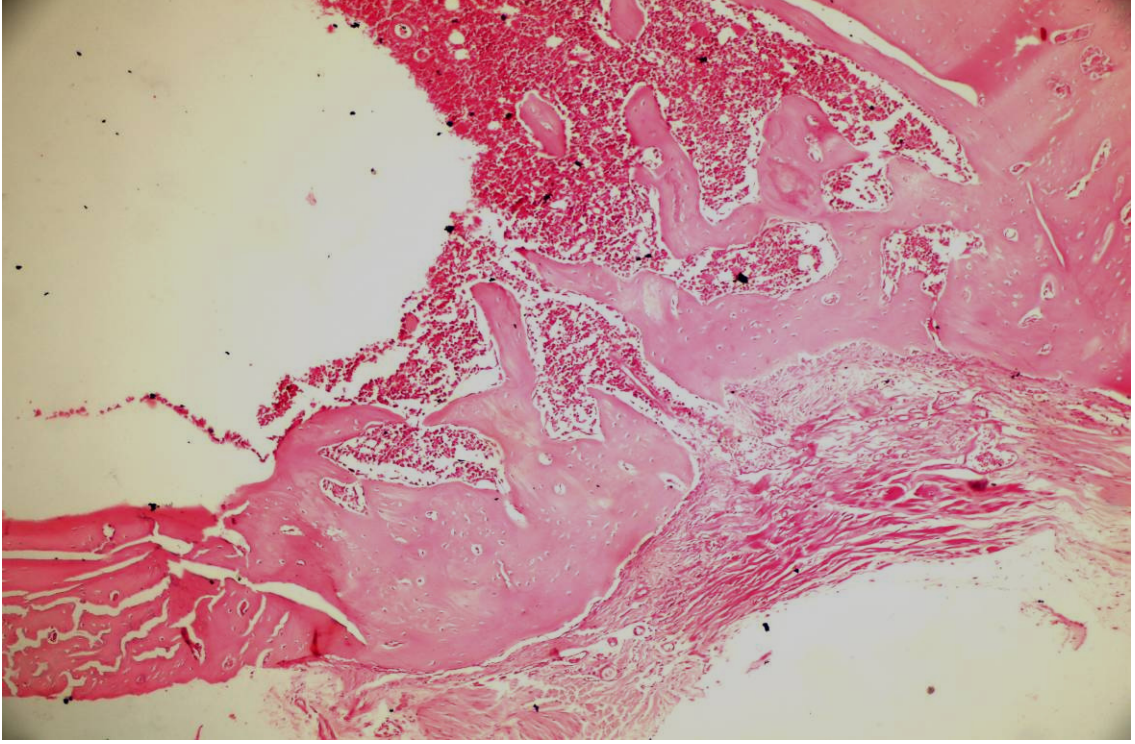
Şekil 4-7: 15. gün NSAİ+Vit grubunda defekt bölgesini tümüyle kapatmış yeni kemik trabekülleri (H.E. x 100)



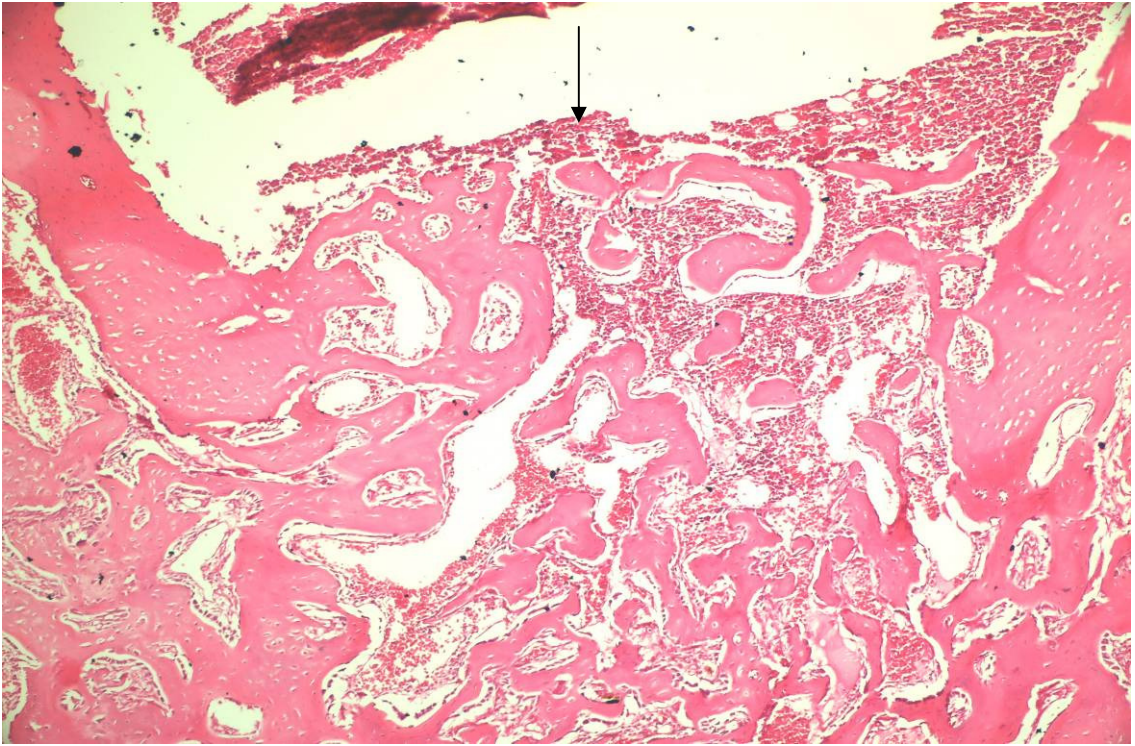
Şekil 4-8: 30. gün Kontrol grubunda, kırık fragmanları arasında, ince yeni kemik köprüsü (H.E. x 100)



Şekil 4-9: 30. gün NSAİ grubunda, defekt bölgesini kapatan, kalınca, arasında hücresel kemik iliği bulunan trabeküler yeni kemik dokusu (H.E. x 100)



Şekil 4-10: 30. gün Vitamin grubunda, defekt bölgesinde defekt uçlarını birleştiren lameller görünümde kompakt kemik dokusu (H.E. x 100)



Şekil 4-11: 30. gün NSAİ + Vit grubunda, defekt bölgesini dolduran ve geniş bir alan işgal eden, hücreli kemik iliği içeren yeni kemik dokusu (H.E. x 100)

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4-6: Grupların AOPP, NOx, MDA, FRAP değerleri

	AOPP[$\mu\text{mol/ L}$]		NOx[$\mu\text{mol/ L}$]		MDA[nmol/ml]		FRAP[$\mu\text{mol/ L}$]	
	Ort \pm SD		Ort \pm SD		Ort \pm SD		Ort \pm SD	
	15.gün	30.gün	15.gün	30.gün	15.gün	30.gün	15.gün	30.gün
Sham	84,12 \pm 17,06	81 \pm 11,46	48 \pm 12,92	55,2 \pm 9,83	7,49 \pm 0,53	8,08 \pm 0,34	242,8 \pm 29,47	238,6 \pm 27,84
Kontrol	94,8 \pm 17,6	91,6 \pm 7,54	54,62 \pm 9,5	55,75 \pm 17,38	8,64 \pm 0,43	8,82 \pm 0,97	247,88 \pm 26,06	245,71 \pm 24,57
NSAİ	100,75 \pm 12,48	99,71 \pm 10,53	59,75 \pm 20,62	61 \pm 11,72	9,18 \pm 0,4	8,96 \pm 0,53	190,62 \pm 38,67	162,87 \pm 34,28
Vit	92,12 \pm 14,99	74,25 \pm 7,11	54,62 \pm 13,63	40,12 \pm 4,55	8,1 \pm 0,9	8,12 \pm 0,78	314,38 \pm 45,74	221,43 \pm 25,26
NSAİ+Vit	93,75 \pm 15,87	75,5 \pm 8,05	57 \pm 11,17	55,14 \pm 14,66	8,96 \pm 0,53	9,08 \pm 0,57	278,38 \pm 64,92	241,88 \pm 16,51

Tablo 4-7: AOPP, NOx, MDA, FRAP değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması*

Gruplar	15.gün				30.gün			
	AOPP	NOx	MDA	FRAP	AOPP	NOx	MDA	FRAP
	P	P	P	P	P	P	P	P
Sham/Kontrol	0,532	0,933	0,016	0,999	0,314	0,786	0,398	0,99
Sham/ NSAİ	0,688	0,987	0,001	0,26	0,023	0,544	0,476	0,001
Sham/ Vit	0,589	0,999	0,408	0,057	0,747	0,589	0,376	0,796
Sham/NSAİ+Vit	0,699	0,999	0,001	0,627	0,86	0,897	0,477	0,214
Kontrol/ NSAİ	0,58	0,987	0,393	0,098	0,565	0,657	0,538	0,001
Kontrol/ Vit	0,605	0,906	0,375	0,089	0,152	0,946	0,486	0,432
Kont/ NSAİ+Vit	0,527	0,927	0,603	0,647	0,214	0,456	0,687	0,89
NSAİ/Vit	0,692	0,848	0,008	0,001	0,001	0,025	0,573	0,001
NSAİ/NSAİ+Vit	0,589	0,987	0,997	0,003	0,001	0,480	0,312	0,204
Vit/NSAİ+Vit	0,567	0,999	0,02	0,493	0,999	0,753	0,423	0,217

*AOPP, NOx, MDA, FRAP parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis, Mann-Whitney-U testi ve Dunn's goklu karşılaştırma testi kullanıldı.

Sham grubunun 30. gün AOPP(μmol) ortalamaları NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

NSAİ grubunun 30. gün AOPP(μmol) ortalamaları Vit ve NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

NSAİ grubunun 30.gün NOx(μmol) ortalamaları Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

Sham grubunun 15. gün MDA(nmol/ml) ortalamaları Kontrol, NSAİ ve NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

NSAİ grubunun 15. gün MDA(nmol/ml) ortalamaları Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

Vit grubunun 15. gün MDA(nmol/ml) ortalamaları NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

NSAİ grubunun 15. gün FRAP(μmol) ortalamaları Vit ve NSAİ+Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

Sham grubunun 30. gün FRAP(μmol) ortalamaları NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

Kontrol grubunun 30. gün FRAP(μmol) ortalamaları NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

NSAİ grubunun 30. gün FRAP(μmol) ortalamaları Vit grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

Vit grubunun 15.gün FRAP(μmol) ortalamaları 30. gün ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). (Tablo: 4-7)

5. TARTIŞMA

Non-Steroid Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİ), kas, iskelet ve sinir sistemlerini ilgilendiren ağrılarda bütün dünyada yaygın olarak kullanılırlar (13). Çene cerrahisinde ise, çene eklemi ve yüz ağrıları, dental implant uygulamaları, kaza ve tümörlere bağlı doku kayıplarının düzeltilmesi, çene kırıkları ve yaralanmaları, gömük dişler, ağız kanserleri gibi alanlarda NSAİ'ler hekimlerin sıklıkla reçete ettikleri ilaçlar arasındadır (36). Ancak, bu ilaçların kemik iyileşmesini bozdukları, iyileşme süresini uzattıkları ve yeni oluşmuş kemik kalitesinde bozulmaya neden olduklarını gösteren pek çok araştırma vardır (6, 13, 41, 61, 69, 70, 85, 89, 96, 99, 101, 119, 127).

Biz de oral cerrahi uygulamalar sonrasında sık kullanılan bir NSAİ ilaç olan diklofenak sodyumun sıçanlarda oluşturulan kemik defektlerinin iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık.

Krischak ve arkadaşları 2007 yılında 20 adet Wistar cinsi sıçan üzerinde meydana getirdikleri çift delik şeklindeki femural defektlerin iyileşmesi sırasında diklofenakın osteoblastlar üzerine etkisini ışık mikroskobu altında hücre sayımı ile ve kemik mineral dansitesini ölçerek araştırmışlardır. İlaç uygulaması 5mg/kg diklofenak sodyum içeren peletlerle oral yoldan yapılmıştır (70).

Aynı araştırmacılar 2007 yılında 40 adet Wistar cinsi sıçan modelinde osteotomi iyileşmesinde 5 mg/kg vererek 7. ve 21. günlerde periostal callus olgunlaşması üzerine diklofenak sodyum etkisini histomorfometrik olarak incelemiştir (69).

Da Silva ve arkadaşları 240 adet sıçan femuru üzerinde meydana getirdikleri 2mm çapındaki defektlere otojen kemik grefti ve devitalize sığır kemik matriksin entegrasyonuna antiinflamatuvar ilaçların etkilerini araştırmışlardır. 2 mg/kg diklofenak sodyum vererek, sıçanları 7., 14. ve 30. günlerde sakrifiye etmişlerdir (26).

Tiseo ve arkadaşları 2006 yılında 44 sıçanda sağ femurlarına uyguladıkları osteotomi defekti üzerine diklofenak sodyumun 3mg/kg ve selektif COX-2 inhibitör olan rofekoksib'sin 1 mg/kg dozunda postoperatif 14 ve 28 gün boyunca oral yolla uygulamışlardır. Cerrahi işlemden 2 ve 4 hafta sonra kemik örneklerini radyolojik ve histomorfometrik olarak incelemiştir (111).

Beck ve arkadaşları 2003 yılında 40 adet Wistar sıçanında meydana getirdikleri 40 tibial transvers osteotomi defekt üzerine diklofenak sodyumun etkisini histolojik olarak incelemişlerdir. Grup I kontrol (herhangi bir ilaç verilmemiştir), Grup II- tramadol 20mg/kg/gün, Grup III- diklofenak sodyum 5 mg/kg/gün 7 gün boyunca ve Grup IV- diklofenak sodyum 5 mg/kg/gün 21 gün boyunca oral yolla uygulanmıştır (6).

Yogashi ve arkadaşları 2002 yılında 42 adet sıçanda diş çekiminden bir gün önce başlayarak toplam 5 gün süre ile 10mg/kg/gün diklofenak sodyumu I.P. yolla uygulamışlardır. 7., 14. ve 21. günlerdeki çekim boşluğu iyileşmeleri kıyaslanmıştır (127).

Biz de sıçanlarda etkinlik ve farmakoloji açısından 5 mg/kg vücut ağırlığı dozunu kullanmaya uygun gördük.

Sıçanlarda kemik defektinin iyileşme süreci insanlardakine benzerlik gösterdiğinden bu model kemik iyileşmesini incelemeyi amaçlayan çalışmalarda yaygın olarak kullanılan ve kabul edilmiş bir modeldir. Bu modelin tercih edilmesinin bir diğer nedeni, mekanik etkilere karşı tepki, hormonlar, ilaçlar ve diğer ajanlara yanıtın sıçanlarda ve insanlarda benzer olmasıdır (49). Bizim çalışmamızda erkek sıçanların seçilme nedeni dişilere göre üreme hormonlarının metabolizmalarını daha az etkilemesi ve aylık periyotlarının olmamasıdır (107). Ayrıca yeterli sayıda ve deney koşullarına uygun nitelikte hayvan elde edilebilmesi, çalışılacak bölgede yaşamsal önem taşıyan damar ve sinir yapılarının bulunmaması, deney alanına cerrahi erişim kolaylığı olması ve değerlendirme yöntemlerinin basit, çabuk ve hassas şekilde uygulanabilmesi sıçan modelini seçmemizin nedenleridir.

Günümüzde, kanser ve yaşlanma gibi birçok patolojik olayda serbest radikallerin etkileri hakkında bulgular vardır. Serbest oksijen radikalleri; inflamasyon, şoka bağlı dolaşım bozukluğu, radyasyon, solunum sıkıntısı, stres, ilaçlara bağlı mide mukoza yaralanmalarında ve farklı dokulardaki iskemi/reperfüzyon gibi olaylarda patolojik doku hasarının tetikleyicileri olarak rol oynamaktadırlar. Bunların yanı sıra, serbest radikallerin granülasyon dokusu oluşumunda, kollajen ve kıkırdak dokuların iyileşmeleri üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (31, 35, 45, 66, 105). Kemik dokusunda kırık sonrası meydana gelen oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu ürünler kıkırdak ve ekstraselüler matrise zarar verirler. Ayrıca, serbest radikaller kollajen ve proteoglikan sentezini baskılar, osteoklastların etkisini

arttırıp osteoblastik farklılaşmayı azaltarak kemik remodeling sürecini etkiler (17, 35, 49, 66, 81, 94).

Kemik kırığı meydana geldiğinde monosit, makrofaj, nötrofil ve fagositler tarafından üretilen yüksek miktarda serbest oksijen radikalleri akut inflamatuvar cevabın oluşumunda etkilidirler. İnflamatuvar dönemde fagositik hücrelerin mikroorganizmaları yıkmak için ürettiği bu radikaller, enfeksiyona bağlı doku hasarında önemli rol oynarlar. İnflamasyonda bu serbest radikal ürünleri yaralanma bölgesinde fazla salınırlar ve sıklıkla esas yaralanmanın sebep olduğundan fazla hasar meydana getirirler. Oksijen kaynaklı serbest radikaller membran lipidlerinin peroksidasyonu ile çeşitli hücresel komponentlerde hasar oluştururlar ve bir zincir reaksiyonu başlatarak hücre ölümüne neden olurlar (19, 88, 94). Ayrıca lipid peroksidasyonunun osteoklastları direkt olarak aktive ederek kemik rezorpsiyonunu arttırdığı da bilinmektedir (43, 67, 82).

Hasar görmüş dokuda serbest oksijen radikallerinin üretimi, iyileşmedeki rolleri ve antioksidan uygulanmasının yara iyileşmesine etkileri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (31, 45, 66, 114). Bu konuda yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin artışıyla kemik dansitesindeki azalma arasında ilişki bulunduğunu bildirilmiştir (5, 23, 72). Serbest oksijen radikallerinin hücre içi ya da plazma seviyelerindeki artışının osteoblastların büyümesini ve farklılaşmasını baskıladığı gösterilmiştir (74).

Garret ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmalarında, serbest oksijen radikallerinin ve özellikle superoksid'in, osteoklast oluşumunda ve aktivasyonunda önemli rol oynadıklarını bildirmişlerdir (43).

Bir antioksidan olan E vitaminin de, kırık sonrası meydana gelen serbest radikallerin artışını ve zararlı etkilerini engelleyerek, kemik yapısının özelliklerini olumlu yönde desteklediğine inanılmaktadır (107). Bu radikaller E vitamini tarafından inhibe edilebilen NOx ve kolajenaz enziminin üretimini de arttırır (74, 92).

Ima-Nirvana (53), Yee ve arkadaşları (124), E vitamininin antioksidan özelliği nedeniyle kemik rezorpsiyonu ve kaybını azalttığını tespit etmişlerdir. Vitamin E yönünden yetersiz beslenen sıçanlarda, kalsiyum emiliminin ve kemiklerdeki kalsiyum depolanmasının azaldığı ve kemik kalsifikasyonunda gecikme meydana geldiği bildirilmiştir (82, 83, 102, 103).

Xu ve arkadaşları (123) vitamin E'nin trabeküler kemik formasyonunu stimüle ettiğini, Seifert ve arkadaşları (100) ise vitamin E'nin osteoprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Cetinus ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kırık iyileşmesi sürecinde meydana gelen serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla, iyileşme döneminde antioksidan uygulamasının yapılmasının serbest radikallerin negatif etkilerini yok edebileceğini öne sürmüşlerdir (19). Benzer şekilde Yeler ve arkadaşları serbest radikallerin kırık iyileşmesi sırasında meydana getirdikleri negatif etkileri ortadan kaldırmak amacıyla antioksidan tedavisini önermişlerdir (125).

Biz de çalışmamızda, NSAİ ilaç uygulanan sıçanlarda aseptik şartlar altında oluşturulmuş kemik dokusu defektinin iyileşmesi sırasında serbest radikal oluşumunu ve bunun üzerine E vitaminin antioksidan etkisini inceledik. Yapılan deneysel çalışmalar incelendiğinde, araştırmacılar arasında E vitamini uygulanmasındaki en uygun doz hakkında fikir birliği olmadığını gördük:

Hermizi ve arkadaşları iki aşamadan oluşan deneysel çalışmalarında, Sprague-Dawley cinsi sıçanlara 2 ay boyunca 7mg/kg/gün İ.P. yolla nikotin uygulamışlardır. Daha sonra deneyin ikinci kısmında 2 ay boyunca 60mg/kg vitamin E takviyesi yaparak, nikotinin kemik dokusundaki negatif etkilerini, E vitaminin düzeltip düzeltmediğini anlamak için histomorfometrik parametreleri incelemişlerdir (49).

Norazlina ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Sprague-Dawley cinsi sıçanları üç gruba ayırarak, bir kısmına standart diyet, bir kısmına 30mg/kg Palm vitamin E diyeti ve üçüncü gruba 30 mg/kg saf vitamin E'yi 8 ay uygulayarak, lumbar ve femur kemiklerinde ki kalsiyum miktarını incelemişlerdir (82).

Sarısozen ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada E vitamini ve C vitaminin kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bunun için Sprague-Dawley cinsi sıçanlara 40 mg/kg/gün İ.P. yolla E vitamini uygulayarak 14. ve 21. günde sakrifiye etmişlerdir (95).

Biz çalışmamızda E vitaminini 40 mg/kg/gün I.P., yolla uygulamayı tercih ettik. Kullandığımız dozda herhangi bir toksik veya yan etki görmedik.

Türk ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları deneysel çalışmada, E vitaminin kemik kırığı iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Deneyde, Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanılmış ve sıçanların sağ tibiaları, genel anestezi altında kırık oluşturulduktan sonra fikse edilmiştir. Deney grubundaki sıçanlara 20 mg/kg E vitamini İ.P. yolla her gün uygulanmış, Kontrol grubundaki hayvanlara ise serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. Her iki gruptaki denekler 15., 46. ve 60. günlerde sakrifiye edilmiştir. Yapılan histopatolojik ve radyografik incelemelerde, E vitamini uygulanan

grupta kontrol grubuna oranla, kemik kırığı iyileşmesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha iyi olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, çalışma sonucunda, E vitaminin, kırık iyileşmesinin erken ve geç dönemleri üzerine pozitif etkisi olabileceğini düşünmüşlerdir (114).

Durak ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları bir çalışmada, femur kırığı oluşturulan tavşanlarda E vitaminin plazma ve hematomdaki serbest radikal miktarı üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. 21 adet tavşan 3 gruba ayrılarak, 1. gruptaki deneklerde kırık oluşturulmazken 2. ve 3. gruptakilere oluşturulmuştur. Anestezi uygulanmadan 3 saat önce deney gruplarının birine E vitamini 20 mg/kg dozunda İ.M. olarak verilmiştir. Venöz kan örnekleri anesteziden 30 dakika önce alınarak deney gruplardaki tavşanların femurlarında kırık oluşturulmuştur. Kırık oluşturulduktan 60 dakika sonra venöz kan örnekleri ve kırık alanından hematoma sıvısı örneği alınmıştır. Yapılan inceleme sonucunda, E vitamini uygulanan grupta kontrol grubuna göre, venöz kandaki ve hematoma sıvısındaki serbest radikal seviyeleri anlamlı derecede daha düşük olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, Durak ve arkadaşları alfa-tokoferolün kırık hematoma oluşmuş serbest oksijen radikalleri üzerinde antioksidan bir etkiye sahip olduğunu ve serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir (31).

Aynı araştırmacılar 2003 yılında yaptıkları başka bir deneysel çalışmada, E vitaminin tavşanlardaki fraktür iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. 20 adet Yeni Zelanda tavşanını kontrol ve deney gruplarına ayırmışlardır. Her iki gruptaki deneklerin sağ tibialarında kırık oluşturulduktan sonra fikse edilmiştir. Deney grubundaki deneklere kırıktan 1 saat önce başlanarak 5 gün süreyle 20mg/kg E vitamini İ.M. olarak uygulanmıştır. 21. günde denekler sakrifiye edilip, sağ tibiaları histopatolojik olarak incelenmiştir. İnceleme sonucunda deney grubundaki deneklerde kemik kırığı iyileşmesi, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha iyi olduğu gözlenmiştir. 21. günde, E vitamini uygulanan 10 hayvanın 4'ünde, kırık alanında tamamlanmış kemikleşme, 5'inde sert kallusta yer yer kırık alanları, sadece 1'inde tamamlanmamış kırık dokusu görülmüştür. Kontrol grubunda ise kırık alanında tamamlanmış kemikleşmesi olan hayvana rastlanmamıştır. Araştırmacılar, E vitamininin, kırık iyileşmesinin inflamasyon fazında oluşan serbest radikalleri elimine ederek, iyileşmeyi olumlu etkilediğini ve bu ajanın kırık vakalarında destekleyici ilaç olarak kullanılabileceğini düşünmüşlerdir (32).

Keskin ve arkadaşları 30 adet tavşan üzerinde meydana getirdikleri fibula kırıklarında, deneyden 1 saat önce başlayarak 5 gün süre ile günlük 20mg/kg İ.M. olarak vitamin E uygulamışlardır. Kırıktan 4 hafta sonra kırık bölgesinden aldıkları doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde deney grubundaki hayvanların kırık iyileşmesi, kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu saptamışlardır. Kırık oluştuktan sonraki erken dönemde profilaktik olarak uygulanan vitamin E'nin kırık iyileşmesini olumlu yönde etkileyeceği sonucuna varmışlardır (66).

Sarısozen ve arkadaşları E ve C vitaminini ayrı ayrı veya beraber kullanımının, sıçanlardaki kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla Sprague-Dawley cinsi sıçanları 4 gruba ayırarak A- grubundaki sıçanlara 40 mg/kg/gün E vitamini, B grubundaki sıçanlara 200 mg/kg/gün C vitamini, C grubundaki sıçanlara ise E ve C vitaminini beraber uygulamışlardır. Uygulamalar İ.P. yoluyla yapılmıştır. Vitaminler ilk 3. gün her gün, 4'üncü günden itibaren haftada 3 kez uygulanmıştır. 4'üncü günde sıçanların sağ tibialarında kırık oluşturulmuş ve sıçanların bir bölümü 14. günde, kalanları ise 21. günde sakrifiye edilmişlerdir. C vitamini tek başına yada E vitaminiyle beraber kullanıldığı gruplarda, kırık alanındaki kırık matrisin oluşumu ve mineralizasyonu, diğer gruplara göre önemli derecede daha hızlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak, E vitamini uygulanan gruptaki sonuçların kontrol grubundaki sonuçlarla benzer olduğu ve E vitaminin kırık iyileşmesi üzerine önemli bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (95).

Yaptığımız çalışmada vitamin E grubunun 30. gün (>%60) yeni kemik oluşumu varlığı dağılımlarının, NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu bulduk. Biz de Türk, Durak ve Keskin ile uyumlu olarak E vitaminin kemik iyileşmesine olumlu etkileri olduğunu düşünmekteyiz.

Sassioto ve arkadaşları 2006 yılında 48 sıçanda meydana getirdikleri 96 femoral defekt üzerinde kalsitonin ve diklofenak sodyumun 7., 14. ve 21. günlerde kemik iyileşmesine olan etkisini histolojik olarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda diklofenak sodyum grubunda daha az trabekülasyon oluşumu gözlenirken, kalsitonin grubunda trabekülasyonun daha fazla olduğunu saptamışlardır (96).

Beck ve arkadaşları 2003 yılında 40 adet Wistar sıçanda meydana getirdikleri 40 tibial transvers osteotomi defekti üzerine diklofenak sodyumu 7 ve 21 gün süre ile uygulamışlardır. 21. günde yapılan sakrifikasyondan sonra alınan kemik örneklerinde diklofenak sodyum kırık iyileşmesine etkisini histolojik olarak incelemişlerdir.

İnceleme sonucu diklofenak sodyumun her iki dönemde (kısa ve uzun dönem kullanımı) kırık iyileşmesini geciktirdiğini saptamışlardır (6).

Krischak ve arkadaşları 2007 yılında 40 adet Wistar sıçan modelinde osteotomi iyileşmesinde periostal callus olgunlaşması üzerine diklofenak sodyumun etkisini incelemişlerdir. 7. ve 21. günlerde yapılan histomorfometrik incelemelerde, uzun dönem diklofenak sodyum ile tedavi olan hayvanlarda, özellikle periostal kallusun dış tabakasında fazla miktarda kırık ve daha az miktarda kemik ile birlikte önemli ölçüde gecikmiş kallus olgunlaşmasını saptamışlardır. Kısa dönem diklofenak uygulamasının kallus farklılaşmasında önemli ölçüde değişiklik göstermediğini gözlemlemişlerdir (69).

Yogashi ve arkadaşları 2002 yılında 42 adet sıçanda diş çekimi sonrası uygulanan diklofenak sodyumun çekim boşluğu iyileşmesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Diklofenak ile tedavi olan grupta kan pıhtısının azalmasından, ya da organizasyonun bozulmasından dolayı yeni kemik oluşumunda önemli derecede gecikmeye neden olduğunu saptamışlardır (127).

Da Silva ve arkadaşları 240 adet sıçan femuru üzerinde meydana getirdikleri 2mm çapındaki defektlere otojen kemik greftin ve devitalize sığır kemik matriksin entegrasyonuna antiinflamatuvar ilaçların etkilerini araştırmışlardır. Değerlendirme; 7, 14 ve 30. günlerde yapılmıştır. Diklofenak sodyum grubundaki hayvanlarda, greft uygulanmış kemik defektlerinde iyileşmenin geciktiğini görmüşlerdir (26).

Akman ve arkadaşları 2001 yılında 54 adet sıçan üzerinde meydana getirdikleri tibia kırıkları sonrası uygulanan diklofenak sodyumun 2., 4. ve 6. haftalardaki kırık iyileşmesi üzerine klinik, radyolojik ve histolojik olarak etkilerini araştırmışlardır. Kırık sonrası diklofenak sodyum uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında ikinci hafta sonunda klinik muayene ile subjektif olarak fark olduğu, kontrol grubunda kallus dokusunun diğer iki gruba göre daha stabil olduğu görülmüştür. Histolojik olarak kallus dokusunun değerlendirilmesinde, her üç grup arasında 2., 4. ve 6. haftalarda istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Klinik uygulamada yaygın kullanımı olan diklofenak sodyumun, kırık sonrası on günlük dönemde iyileşmeyi etkilemediği sonucuna varılmıştır (2).

Çalışmamızın 15.gününde kontrol grubunun defekt bölgesinde NSAİ grubuna göre anlamlı derecede artmış iltihabi hücre infiltrasyonu izlenirken, aynı zaman diliminde NSAİ grubunun defekt bölgesinde damardan zengin fibroz doku, fibrosit ve

fibroblastlar izlendi. Bu bulgular, NSAİ ilaç kullanımının iltihabı baskılayarak kronik proliferatif iltihaba yol açarak fibrozise sebep olduğunu düşündürmektedir.

Uzun yıllardan beri NSAİ ilaçların ve ayrıca vit. E'nin kemikteki etkilerini incelemek amacıyla pek çok histopatolojik incelemeler yapılmıştır (2, 3, 6, 31, 32, 66, 69, 95, 96, 111). Biz ise, hem histopatolojik, hem de biyokimyasal açıdan, kemik iyileşmesi sürecinde NSAİ ilaçların ve E vitamininin etkilerini inceledik.

Biz bu çalışmada, kemikte oluşturulan defektin iyileşmesi sürecinde gelişen oksidatif stresi, NSAİ uygulamasından sonra oluşan biyokimyasal değişiklikleri, E vitamininin ne derecede önleyebildiğini görmek amacıyla, plazmadaki lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ve artmış serbest radikal oluşumunun ve oksidatif zarara uğrayan proteinlerin iyi bir belirteci olan AOPP seviyelerinin tayinini gerçekleştirdik. Organizmada yaygın olarak bulunan, birçok hücre ve dokuda doğal olarak sentezlenen, inflamatuvar olaylarda önemli bir yeri bulunan ve serbest radikal belirteci olan NOx'in deneysel olarak oluşturulan yaranın iyileşmesindeki rolünü araştırdık. Ayrıca total antioksidan kapasitenin tespiti amacıyla FRAP değerlerini inceledik (8, 15, 19, 49, 88, 94, 104, 120, 125, 130)

Kırık iyileşmesi sırasında oksidatif stres değerlerindeki artışlar birçok çalışmada gösterilmiştir (19, 88 113, 125).

Göktürk ve arkadaşları, 30 adet erkek sıçana 100 mg/kg zimosan uygulayarak polimorfonükleer hücrelerde NADPH oksidazın stimülasyonu yoluyla serbest radikal oluşturarak kırık iyileşmesini inceledikleri çalışmada, 22 gün sonra yapılan histopatolojik incelenmede, kırık iyileşmesinin geciktiği gözlemlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak Göktürk ve arkadaşları serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesinde önemli rollerinin bulunduğu ve kırık iyileşmesini bozduğunu bildirmişlerdir (45).

Turgut ve arkadaşları 50 adet erkek sıçanda kırık iyileşmesi sırasında oksidatif stres seviyesinin artışı inceledikleri çalışmalarında, sağ tibiasında kırık oluşturulan sıçanlar, kırık sonrası 1, 3, 7, 14 ve 28. günlerde sakrifiye edildikten sonra kemik dokusunda MDA seviyesi incelenmiştir. Kemik MDA seviyeleri kırık sonrası 1. ve 2. haftada anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Kallus oluşumu sırasında, fibroblast ve kollajen hücrelerine ilaveten yeni kapiller damarlarla birlikte inflamatuvar hücrelerin ortaya çıkması sonucu, serbest oksijen radikallerinin arttığı ve kemik dokusunda oksidatif zarara yol açtıkları sonucuna varmışlardır (113).

Yeler ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada, sıçanların fibulasında kırık oluşturulduktan 5, 10, 20 ve 30 gün sonra serum MDA seviyelerini ölçmüşlerdir. Tüm zamanlarda MDA düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, en fazla artış inflamasyon fazında görülmüştür. Yeler ve arkadaşları, serum MDA seviyesindeki artışların, kırık alanına ulaşan ilk inflamatuvar hücreler olan polimorfonükleer lökositler, makrofajlar ve mast hücrelerinin serbest radikal oluşumunu artırmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (125).

Petrovich ve arkadaşları 2004 yılında yaptıkları deneysel çalışmada, sıçanlarda mandibula kırığı oluşturarak, serum MDA seviyelerini incelemişlerdir. Mandibula kırığından 1- 2 hafta sonra kan MDA seviyeleri artış gösterirken, 4. haftada yani primer kemik kallusu fazında azalarak, kontrol grubu seviyelerine geldiğini tespit etmişlerdir. (87). Bizim çalışmamız Turgut, Yeler ve Petrovich'in çalışmaları ile uyumludur. Araştırmamızda 15. günde hiçbir cerrahi işlem yapılmamış Sham grubu ile sadece defekt oluşturulmuş Kontrol grubu arasındaki MDA karşılaştırmasında, defekt yapılan kontrol grubunda MDA'nın istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunması, kırık iyileşmesi sırasında oksidatif stresin arttığını göstermektedir. NSAİ uygulanan gruplarda (NSAİ ve NSAİ+Vit.E), Sham grubuna kıyasla MDA düzeylerinde belirgin bir artış, sadece Vit. E uygulanan grupta ise NSAİ gruplarına (NSAİ ve NSAİ+Vit.E) kıyasla MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma görülmektedir. Bu vitamin E 'nin oksidatif stresi azaltarak ve NSAİ'lerin kırık iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkisini bertaraf ederek, kırık iyileşmesi sürecini olumlu etkilediğini göstermektedir. 30. günde ise MDA değerlerinde herhangi farklılık görmedik.

Kırık iyileşmesinde kemik hücrelerinin metabolizmasına ve kallus oluşumu üzerine etkisi olan NOx, difüzyona uğrayabilen serbest radikal niteliğinde bir gazdır (24, 116, 130).

Van't Hof ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, inflamasyona bağlı olarak artan NOx üretiminin osteoblastların proliferasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ederek, kemikte kayıplara neden olduğunu tespit etmişlerdir (116). Ayrıca NOx, superoksit anyonları gibi oksijen kaynaklı serbest radikaller ile tepkimeye girerek, peroksinitrit anyonu ve hidroksil radikali gibi reaktif türleri oluşturarak, çevredeki hücrelerde hasarı artırarak hücre membranlarında lipit ve DNA oksidasyonuna neden olup, primer yaralanma bölgesinde iyileşmede gecikmeye sebep olmaktadır (24, 90, 116, 131).

Prasad ve arkadaşları kırık sonrası ortaya çıkan oksidatif stresi araştırmak amacıyla 18-60 yaş aralığında, 80 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tek ve çoklu kırıklardan sonra plazmadaki NOx değerini incelemişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda kırıktan 2 hafta sonra NOx değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdiğini tespit etmişlerdir (88).

Cutando ve arkadaşları 2007 yılında 16 adet köpekte maksiler ve mandibular premolar ve molar dişlerin çekiminden sonra, plazmadaki oksidatif stres parametrelerini incelemişlerdir. Çekim öncesi ve çekimden 24 saat sonra alınan kan örneklerini kıyasladıklarında, çekim sonrası Lipit peroksidasyon ve NOx değerlerinde anlamlı derecede bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir ve bu artışın çekim sonrası gelişen oksidatif stresin bir belirteci olduğu sonucuna varmışlardır. Aynı araştırmacılar diş çekimi sonrası gelişen oksidatif stresin yarattığı zararlı etkilerini önlemek amacıyla bir antioksidan olan melatonin hormonunu lokal olarak çekim boşluğuna uygulamışlardır ve deney sonunda bu uygulama sayesinde artmış olan NOx değerlerinde, anlamlı derecede bir düşüş sağladıklarını rapor etmişlerdir (25).

Mikami ve arkadaşları tavşanlarda steroid kullanarak oluşturdukları osteonekroz sonrası 2 hafta boyunca İ.V. yolla 50mg/kg vitamin E uygulamışlardır. Deney sonunda kurban edilen hayvanların kan örneklerinde antioksidan savunma sisteminin üyesi olan glutatyonun parametre değerlerini incelemişlerdir. Ayrıca diseke edilen femurlar, H&E ile boyanarak ışık mikroskopunda incelemişlerdir. Vitamin E uygulamasının steroidler tarafından meydana getirilen oksidatif stresi önemli derecede baskıladığını bulmuşlardır (76).

Morsy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Sprague–Dawley cinsi sıçanda, spinal kortta iskemi sonucu meydana gelen yüksek oksidatif stresi ve zararlarını önlemek amacıyla, deneklere 6 hafta boyunca 600mg/kg vitamin E'yi İ.M. enjeksiyon yoluyla uygulamışlardır. Vitamin E uygulanan grupta, NOx ve AOPP değerlerinde anlamlı derecede azalma görülmüştür. Bu sonuçlarla vitamin E'nin oksidatif strese karşı koruyucu bir etkisi olabileceği sonucuna varmışlardır (77).

NOx'ın bir oksidatif stres parametresi olduğu kabul edilmektedir. Çalışmamızın 15. gününde anlamlı olmamakla birlikte, defekt oluşturulan ve NSAİ uygulanan (NSAİ ve NSAİ+Vit.E) gruplarında Sham grubuna göre NOx düzeylerinde bir artış, sadece vitamin E uygulanan grupta ise NSAİ gruplarına (NSAİ ve NSAİ+Vit.E) kıyasla bir azalma eğilimi vardır. Araştırmamızın 30. gününde ise Vit.E uygulanan gruptaki NOx

değerleri NSAİ grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Biz de Morsy ile uyumlu olarak, vitamin E'nin serbest radikallerin zararlı etkilerini istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını gördük.

AOPP, oksidatif modifikasyona uğrayan yüksek molekül ağırlığına sahip albüminin son çapraz bağlanma ürünüdür. Albüminin plazmada bol miktarda bulunmasından dolayı, AOPP ölçümleri artmış serbest radikal oluşumunun ve oksidatif zarara uğrayan proteinlerin iyi bir belirleyicisidir (129).

Varija ve arkadaşları, sıçanlarda deneysel olarak siyatik sinirde oluşturdukları hasardan sonra meydana gelen oksidatif stresi incelemeyi amaçlamışlardır. Deneyin 30. gününde MDA ve AOPP gibi oksidatif stres belirteçlerinin ölçümlerini yapmışlardır ve deney grubundaki AOPP değerlerinin önemli derecede arttığını saptamışlardır. Oksidasyona uğramış protein ürünlerinin artışının, serbest radikallerinin miktarı ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (117).

Zhong ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları in vitro çalışmalarında, yeni doğmuş sıçanların kalvarialarından elde ettikleri osteoblast benzeri hücrelerde AOPP'nin etkilerini araştırmışlardır. Deney sonunda AOPP'nin, osteoblast benzeri hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını önemli derecede baskıladığını bulmuşlardır (129).

You ve arkadaşları 2009 yılında in vitro şartlarda damar düz kas hücrelerinin osteoblastik hücrelere farklılaşmasında ve kireçlenmesinde AOPP'nin rolünü araştırmışlardır. İnsan aort düz kas hücrelerinde AOPP ile indüklenen kalsifikasyon ve osteoblast farklılaşması, vitamin E ile baskılanmıştır. AOPP ile artan hücre içi oksidatif stresin vitamin E ile nötralize edilebileceği saptanmıştır (126).

Jolitha ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Wistar sıçanlarda, yaşa bağlı beyin dokusunda meydana gelen lipit ve protein oksidasyon ürünlerinin artışını ve bu artışa karşı vitamin E'nin etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda tüm yaş gruplarında vitamin E'nin beyindeki AOPP değerlerini düşürdüğü sonucuna varmışlardır. Ayrıca vitamin E eksikliği sonucunda MDA ve AOPP değerlerinde artış gözlenebileceğini ileri sürmüşlerdir (56).

Çalışmamızın 15. gününde, MDA ve NOx parametrelerinde olduğu gibi AOPP düzeylerinde de defekt oluşturulan NSAİ (NSAİ ve NSAİ+Vit.E) gruplarında Sham grubuna göre bir artış, sadece vitamin E uygulanan grupta ise NSAİ gruplarına (NSAİ ve NSAİ+ Vit.E) kıyasla, anlamlı olmamakla birlikte, bir azalma eğilimi vardır.

Çalışmamızın 30. günü sonuçlarına bakacak olursak, defekt oluşturulan ve NSAİ uygulanan grupta Sham grubuna göre, AOPP değerleri anlamlı olarak artmaktadır. Vitamin E uygulanması ise, AOPP düzeylerini anlamlı derecede azaltmaktadır. Biz de Morsy, You ve Jolitha ile uyumlu olarak, vitamin E'nin oksidatif strese karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşünmekteyiz.

Smith ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda fonksiyonsuzluğa bağlı kemik kaybını önlemek amacıyla, vitamin E'nin etkinliğini incelemeyi amaçlamışlardır. Bunun için 13 hafta boyunca 3 farklı dozda (düşük, normal ve yüksek) vitamin E ile diyet uygulanan sıçanların plazma FRAP değerlerini incelemiştir. Araştırmacılar, E vitamininin, kemik metabolizması üzerine olumlu etkileri olduğunu, bu etkilerin de, oksidatif strese karşı, antioksidan özelliklerinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (110).

Prasad ve arkadaşları kırık sonrası ortaya çıkan oksidatif stresi araştırmak amacıyla 18-60 yaş aralığında, 80 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tek ve çoklu kırıklardan sonra plazmadaki FRAP değerini araştırmışlardır. Yapılan incelemeler sonucunda kırıktan 2 hafta sonra FRAP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdiğini ve 4. haftanın sonunda normal değerlere düştüğünü tespit etmişlerdir (88).

Araştırmamızın 15. gününde, total antioksidan kapasiteyi belirleyen plazma FRAP düzeylerinde vitamin E uygulanması sonucu (Vit.E ve NSAİ+Vit.E gruplar) anlamlı artışa neden olduğunu görmekteyiz.

Araştırmamızın 30. gününde ise, NSAİ grubunda Sham ve sadece defekt oluşturulan Kontrol gruplarına kıyasla, FRAP düzeyleri anlamlı olarak azalmaktadır. Vitamin E uygulanması ise NSAİ grubunda azalan FRAP düzeylerinin artışına neden olmaktadır. Bu sonuçlar, E vitamininin vücudun antioksidan savunmasını güçlendirerek kırık iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

Biz, araştırmamıza defekt yapılmış Kontrol grubunun yanında hiçbir işlem yapılmamış Sham grubunu da dahil ettik. Amacımız, Sham grubunda biyokimyasal baz değerlerini tespit etmek, sadece defekt yapılmış Kontrol grubunda ise, travmaya bağlı meydana gelebilecek biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikleri belirlemektir. Çalışmamızda defekt oluşturulup NSAİ ilaç verilen gruptaki AOPP değerlerinin Sham grubuna göre arttığını tespit ettik. Biz bunu, Sham grubunda hiçbir işlem yapılmamasına, deney gruplarında ise kemik defekti oluşturulmasına bağlıyoruz. Aynı

şekilde Sham grubu ile sadece defekt yapılmış Kontrol grubu arasında 15. günde MDA değerlerinin artması da bu düşüncüyü destekler niteliktedir.

90'lı yıllarda yapılan çalışmalarda, NSAİ ilaçların kemik metabolizması üzerine negatif etkilerinin; endosteal kemik yüzeyindeki hücrelerin inhibisyonu, lokal kan akımının, immun ve inflamatuvar cevabın azalması ve prostaglandin sentezinin inhibisyonu yollarıyla olduğu ileri sürülmüştür (27, 52, 65)

Nilson ve arkadaşları kemik ve kırıkta üretimindeki azalmanın, NSAİ ilaçlarının mezenkimal kökenli hücrelerin proliferasyonu üzerine uyguladıkları baskılayıcı etki ile ilgili olduğunu düşünmektedirler (80).

Bazı araştırmacılar osteoblast kültüründe yaptıkları çalışmalarında, NSAİ ilaçların osteoblastlar üzerine inhibitör etkileri olduğunu göstermişlerdir (51, 71, 118).

Chang ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada NSAİ ilaçların klinik uygulama dozunda kullandıklarında, kondrositlerde proliferasyonun baskılanmasına sebep olduklarını bulmuşlardır. Bu da NSAİ ilaçların kemik onarımı sürecinde encondral kemikleşmede gecikmeye neden olabileceğini göstermektedir (20).

Seidenberg ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, NSAİ ilaçların kemik remodelingini baskıladıklarını ve demineralize kemik matriks greftlerin mineralizasyonunda azalmaya neden olduklarını ileri sürmüşlerdir (99).

Kırık sonrası oluşan enflamasyon, kırık iyileşmesinde önemli bir evredir (6). Stabil olmayan kırıklarda ilk günler inflamatuvar cevabın baskın olduğu, ölü dokuların primitif kemik hücreleriyle yer değiştirdiği dönemdir. Bu dönemde kırık bölgesinde lokal olarak salınan PG'ler, uygun kemik iyileşmesi için gerekli olan enflamasyonu, osteoblastların ve osteoklastların etkinliğini arttırmaktadır (13).

Reikeraas ve Hogevol yaptıkları çalışmalar sonucu, NSAİ ilaçların kırık sonrası kullandıklarında, inflamasyonu azaltarak kallus dokusunun gelişimini negatif yönde etkilediklerini tespit etmişlerdir (52, 91).

Diklofenak sodyumun osteoblast farklılaşması ve olgunlaşması üzerine olumsuz etkileri vardır, bu da kemik oluşumunu geciktirmektedir (13). Beck ve arkadaşları yaptıkları hayvan deneyi çalışmalarında, sıçanlarda diklofenak sodyumun oral yolla uygulanmasının kırık iyileşmesini anlamlı derecede geciktirdiğini bulmuşlardır (6).

NSAİ ve Kontrol grupları arasında 30. gün (>%60) yeni kemik oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemesine rağmen, Kontrol grubunda 30. günde 5 denekte (>%60) yeni kemik oluşumu görülürken, NSAİ grubunda 30.

günde sadece 2 denekte (>%60) yeni kemik oluşumu görüldü. Bu bulgulara paralel, biz de diğer araştırmacılarla uyumlu olarak diklofenak sodyumun kemik oluşumu üzerine baskılayıcı etkisinin olduğu düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda 15. gün serum MDA değerlerinde Kontrol grubunda Sham grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğunu izledik. 15. ve 30. günlerde ise, Sham ve Kontrol grupları arasında diğer biyokimyasal parametrelerde (NO_x, AOPP, FRAP), Kontrol grubundaki ölçüm değerlerinde anlamlı olmamakla birlikte bir artış gözlemledik. Biz bunu kırık iyileşmesi sırasında oksidatif stres değerlerinin artışına bağlamaktayız.

Sonuç olarak NSAİ ilaçlar kırık iyileşme dönemindeki artmış oksidatif stres durumunu, antioksidan kapasiteyi (FRAP) baskılayarak belirgin hale getirmektedir. Çalışmamızda, NSAİ grubundaki FRAP düzeyinde meydana gelen azalma bu görüşü destekler niteliktedir. Vitamin E uygulaması oksidatif stres parametrelerinde (MDA, NO_x ve AOPP) azalmaya neden olup, antioksidan savunma kapasitesini artırır. Çalışmamızda, E vitamininin, NSAİ uygulanan sıçanlarda kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin olduğunu gözlemlemekle birlikte, etki mekanizmalarını açıklığa kavuşturabilmek için, farklı doz ve sürelerde klinik ve hayvan çalışması yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

SONUÇ

1) Çalışmamızın histopatolojik bulguları, NSAİ ilaçların kırık iyileşmesini geciktirdiğini göstermektedir. Kontrol grubunda 30. günde beş denekte (>%60) yeni kemik oluşumu görülürken, NSAİ grubunda 30. günde sadece iki denekte (>%60) yeni kemik oluşumu görüldü. Yaptığımız çalışmada vitamin E grubunun 30. gün (>%60) yeni kemik oluşumu varlığı dağılımlarının, NSAİ grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu bulduk.

2) Araştırmamızda 15. günde hiçbir cerrahi işlem yapılmamış Sham grubu ile sadece defekt oluşturulmuş Kontrol grubu arasındaki MDA karşılaştırmasında, defekt yapılan kontrol grubunda MDA'nın istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunması, kırık iyileşmesi sırasında oksidatif stresin arttığını göstermektedir. NSAİ uygulanan gruplarda, Sham grubuna kıyasla MDA düzeylerinde belirgin bir artış, sadece Vitamin E uygulanan grupta ise NSAİ gruplarına kıyasla MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma görülmektedir. Bu vitamin E 'nin oksidatif stresi azaltarak, kırık iyileşmesi sürecini olumlu etkilediğini göstermektedir.

3) Araştırmamızın 30. gününde Vitamin E uygulanan gruptaki NOx değerlerinin NSAİ grubuna göre anlamlı olarak azaldığını ve vitamin E'nin serbest radikallerin zararlı etkilerini istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını gördük. Aynı zaman diliminde, oksidatif zarara uğrayan proteinlerin iyi bir belirteci olan AOPP düzeylerinde de defekt oluşturulan ve NSAİ uygulanan grupta Sham grubuna göre, anlamlı bir artış görülmektedir. Vitamin E'nin AOPP düzeylerini anlamlı derecede azaltması oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

4) Biyokimyasal bulgular NSAİ ilaçların FRAP'ı yani antioksidan kapasiteyi azalttığını göstermektedir. Araştırmamızın 30. gününde NSAİ grubunda, Sham ve sadece defekt oluşturulan Kontrol gruplarına kıyasla, FRAP düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü.

Sonuç olarak çalışmamızda NSAİ ilaç uygulanan sıçanların kırık iyileşme dönemindeki artmış oksidatif stresinin azaltılmasına yönelik Vitamin E uygulamasının faydalı olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Akkuş İ. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Konya. Mimoza Yayınları:1995.
2. Akman S, Gögüs A, Sener N, Bilgiç B, Aksoy B, Seçkin F. Effect of diclofenac sodium on union of tibial fractures in rats. *Adv Ther*. 2002 May-Jun; **19(3)**: 119-25.
3. Asman B, Wijkander P, Hjerpe A. Reduction of collagen degradation in experimental granulation tissue by vitamin E and selenium. *J Clin Periodontol*. 1994 Jan; **21(1)**: 45-7.
4. Bartl R, Frisch B, von Tresckow E, Bartl C. *Bisphosphonates in Medical Practice*. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg: 2007.
5. Basu S, Michaelsson K, Olofsson H, Johansson S, Melhus H. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001; **288**: 275-279.
6. Beck A, Krischak G, Sorg T, Augat P, Farker K, Merkel U, Kinzl L, Claes L. Influence of diclofenac (group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) on fracture healing. *Arch Orthop Trauma Surg* 2003; **123**: 327–332.
7. Beharka AA, Wu D, Serafini M, Meydan SM. Mechanism of vitamin E inhibition of cyclooxygenase activity in macrophages from old mice: role of peroxynitrite. *Free Radical Biology & Medicine*. 2002; **32(6)**: 503–511.
8. Benzie IFF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*. 1989; **299**: 15-27.
9. Bergström S, Samuelsson B. Isolation of prostaglandin E₁ from human seminal plasma. *The Journal of Biological Chemistry*. 1962 September; **237(9)**
10. Bergström S, Ryhage R, Samuelsson B, Sjövall J. Prostaglandins and related factors.15. The structures of prostaglandin E₁, F_{1α} and F_{1β}. *The Journal of Biological Chemistry*. 1963 November; **238(11)**: 3555-3564.
11. Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am* 1991; **35**: 469-477.
12. Blackwell KA, Raisz LG, Pilbeam CC. Prostaglandins in bone: bad cop, good cop? *Trends Endocrinol Metab*. 2010 May; **21(5)**: 294-301.

13. Boursinos LA, Karachalios T, Poultsides L, Malizos KN. Do steroids, conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective Cox-2 inhibitors adversely affect fracture healing? Review Article. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2009; **9(1)**: 44-52.
14. Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J*. 1999 Jul; **13(10)**: 1145-1155.
15. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978; **52**: 302-310.
16. Calmar EA, Vinci RJ. The anatomy and physiology of bone fracture and healing. *Clin Ped Emerg Med*. 2002; **3**: 85-93.
17. Canter PH, Wider B, Ernst E. The antioxidant vitamins A, C, E and selenium in the treatment of arthritis: a systematic review of randomized clinical trials. *Rheumatology*. 2007; **46**: 1223–1233
18. Carranza F, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. Carranza's *Clinical Periodontology*. 10th ed. 2006; 80-83
19. Cetinus E, Kılınc M, Uzel M, Inanç F, Kurutaş EB, Bilgic E, Karaoguz A. Does long-term ischemia affect the oxidant status during fracture healing? *Arch Orthop Trauma Surg*. 2005 Jul; **125**: 376-80.
20. Chang JK, Wu SC, Wang GJ, Cho MH, Ho ML. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cell proliferation and death in cultured epiphyseal-articular chondrocytes of fetal rats. *Toxicology*. 2006 Aug; **228**: 111-123.
21. Clark CA, Li TF, Kim KO, Drissi H, Zuscik MJ, Zhang X, O'Keefe RJ. Prostaglandin E2 inhibits BMP signaling and delays chondrocyte maturation. *J Orthop Res*. 2009 Jun; **27**: 785-792.
22. Cockrill JR, Miller EG, Kurzrok R. The substance in human seminal fluid affecting uterine muscle. *Am J Physiol*. 1935 Apr; **112**: 577-580.
23. Cohen ME, Meyer DM. Effects of dietary vitamin E supplementation and rotational stress on alveolar bone loss in rice rats. *Arch Oral Biol*. 1993; **38**: 601-606.
24. Corbett SA, Hukkanen M, Batten J, McCarthy ID, Polak JM, Hughes SP. Nitric oxide in fracture repair. Differential localisation, expression and activity of nitric oxide synthases. *J Bone Joint Surg Br*. 1999 May; **81(3)**: 531-537.
25. Cutando A, Arana C, Gómez-Moreno G, Escames G, López A, Ferrera MJ, Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D. Local application of melatonin into alveolar sockets of beagle dogs reduces tooth removal-induced oxidative stress. *J Periodontol*. 2007 Mar; **78(3)**: 576-583.

26. Da Silva RA, Fagundes DJ, Antonioli Silva AC, Sisti KE, Brochado de Carvalho TM, e Silva DN. Effect of anti-inflammatory agents on the integration of autogenous bone graft and bovine bone devitalized matrix in rats. *Acta Cir Bras.* 2008 Mar-Apr; **23(2)**: 140-148.
27. Dimar JR, Antea WA, Zhang YP, Glassman SD. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on posterior spinal fusions in the rat. *Spine* 1996; **21(16)**: 1870-1876.
28. Diwan AD, Wang MX, Jang D, Zhu W, Murrell GAC. Nitric oxide modulates fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2000 ; **15**: 342–351.
29. Diwan AD, Khan SN, Cammisa Jr FP, Sandhu HS, Lane JM. Nitric oxide modulates recombinant human bone morphogenetic protein-2-induced corticocancellous autograft incorporation: a study in rat intertransverse fusion. *Eur Spine J.* 2010; **19**: 931–939.
30. Duman EN. NSAİ ilaçların kronik ağrı tedavisinde yeri. *Klinik gelişim.* 2007; **141-216**: 145-149.
31. Durak K, Bilgen OF, Kaleli T, Tuncel P, Ozbek R, Turan K. Antioxidant effect of alpha-tocopherol on fracture haematoma in rabbits. *J Int Med Res.* 1996 Sep-Oct; **24(5)**: 419-24.
32. Durak K, Sonmez G, Sariozen B, Ozkan S, Kaya M, Ozturk C. Histological assessment of the effect of alpha-tocopherol on fracture healing in rabbits. *The Journal of International Medical Research.* 2003; **31**: 26–30.
33. Dural E. *Farmakoloji* .İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri; 3. Baskı. 2002
34. Dutta A, Dutta SK. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis: A Review. *J Am Coll Nutr.* 2003 Aug; **22(4)**: 258–268.
35. Duygulu F, Yakan B, Karaoglu S, Kutlubay R, Karahan OI, Ozturk A. The effect of zymosan and the protective effect of various antioxidants on fracture healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2007; **127**: 493–501.
36. Endo K, Sairyō K, Komatsubara S, Sasa T, Egawa H, Yonekura D, Adachi K, Ogawa T, Murakami R and Yasui N. Cyclooxygenase-2 inhibitor inhibits the fracture healing. *J Physiol Anthropol.* 2002; **21(5)**: 235–38.
37. Endo K, Sairyō K, Komatsubara S, Sasa T, Egawa H, Ogawa T, Yonekura D, Murakami R and Yasui N. Cyclooxygenase-2 inhibitor delays fracture healing in rats. *Acta Orthopaedica.* 2005; **76 (4)**: 470–474.
38. Fleisch, H. *Bisphosphonates in Bone Diseases.* From the Laboratory to the Patient. 3rd ed, Parthenon Publishing Group, New York, 1997, chap 1.

39. Fracon RN, Teofilo JM, Stain RB, Lamano T. Prostaglandins and bone: potential risks and benefits related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in clinical dentistry. *J Oral Sci.* 2008; **50(3)**: 247-252.
40. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat Rec* 1990; **226**: 414-22.
41. Gajraj NM. The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on bone healing. *Reg Anesth Pain Med.* 2003 Sep-Oct; **28(5)**: 456-65.
42. Garant, PR. Oral Cells and Tissues. *Quintessence Publishing Co.Inc.Illinois.* 2003; Chaps 7-8.
43. Garrett IR, Boyce BF, Oreffo ROC, Bonewald R, Poser J, Mundy GR. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J. Clin. Invest.* 1990 Mar; **85**: 632-639.
44. Gorski JP. Is all bone the same? Distinctive distributions and properties of noncollagenous matrix proteins in lamellar vs. woven bone imply the existence of different underlying osteogenic mechanisms. *Crit Rev. Oral Biol Med* 1998; **9**: 201-223.
45. Göktürk E, Turgut A, Bayp C, Gunall I, Seber S, Gulbas Z. Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acfa Orthop Scand* 1995; **66 (5)**: 473-475.
46. Grisham MB, Johnson GG, Lancaster JR. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. *Methods Enzymol.* 1996; **268**: 237-246.
47. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology.* 11th ed. 2006; 980-983.
48. Harris A, Devaraj S, Jialal I. Oxidative stress, alpha-tocopherol therapy, and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2002 Sep; **4(5)**: 373-380.
49. Hermizi H, Faizah O, Ima-Nirwana S, Nazrun SA, Norazlina M. Beneficial effects of tocotrienol and tocopherol on bone histomorphometric parameters in Sprague–Dawley male rats after nicotine cessation. *Calcif Tissue Int.* 2009; **84**: 65–74.
50. Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem.* 2001 Mar; **57(2)**: 43-56.
51. Ho ML, Chang JK, Chuang LY, Hsu HK, Wang GJ. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandins on osteoblastic functions. *Biochem Pharmacol.* 1999; **58(6)**: 983–990.
52. Høgevold HE, Grøgaard B, Reikerås O. Effects of short-term treatment with corticosteroids and indomethacin on bone healing. *Acta Orthop Scand.* 1992; **63(6)**: 607-611.

53. Ima-Nirwana S, Kiftiah A, Sariza T, Gapor MT, Khalid BA. Palm vitamin E improves bone metabolism and survival rate in thyrotoxic rats. *General Pharmacology*. 1999; **32(5)**: 621-626.
54. Jee WSS. *Integrated Bone Tissue Physiology: Anatomy and Physiology*. In: Cowin SC (ed). *Bone Mechanics Handbook*. 2. ed. CRC Press, Florida, 2001; 1- 68.
55. Jiang Q, Yin X, Lill MA, Danielson ML, Freisera H, Huang J. Long-chain carboxychromanols, metabolites of vitamin E, are potent inhibitors of cyclooxygenases. *PNAS*. 2008 Dec; **105(51)**: 20464-20469.
56. Jolitha AB, Subramanyam MV, Asha Devi S. Modification by vitamin E and exercise of oxidative stress in regions of aging rat brain: studies on superoxide dismutase isoenzymes and protein oxidation status. *Exp Gerontol*. 2006 Aug; **41(8)**: 753-763.
57. Jung JY, Lin AC, Ramos LM, Faddis BT, Chole RA. Nitric oxide synthase I mediates osteoclast activity in vitro and in vivo. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2003; **89**: 613–621.
58. Junguera LC, Carneiro J, Kelly RO. *Temel Histoloji* 9. Baskı İstanbul: Barış Kitabevi Ltd. Şti. 1998; 132-151.
59. Kabaca G., Diabetik sıçanlarda selenyumun kemik iyileşmesi üzerine etkileri.-Tez (Doktora). I.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul; 2007
60. Kalfas HI. Principles of Bone Healing. *Neurosurg Focus*. 2001; **10(4)**: 1-4.
61. Karakawa A, Fukawa Y, Okazaki M, Takahashi K, Sano T, Amano H, Yamamoto M, Yamada S. Diclofenac sodium inhibits NFκB transcription in osteoclasts. *J Dent Res*. 2009; **88(11)**: 1042-1047.
62. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji. Ankara: Hacettepe kitapçılık: 2000.
63. Kayden HJ, Traber MG. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J Lipid Res*. 1993 Mar; **34(3)**:343-358.
64. Kazanç MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom*. 1987; **9(7)**: 14-23.
65. Keller J, Bünger C, Andreassen TT, Bak B, Lucht U. Bone repair inhibited by indomethacin. Effects on bone metabolism and strength of rabbit osteotomies. *Acta Orthop Scand* 1987; **58**: 379-383.
66. Keskin D, Karsan O, Ezirmik N, Çiftçioğlu A. Tavşanlarda kırık iyileşmesi üzerine alfa-tokoferolün etkisi (Deneyisel araştırma). *Turkish journal of arthroplasty and arthroscopic surgery*. 1999; **10(2)**: 207-210.

67. Key LL, Ries WL, Taylor RG, Hays BD, Pitzer BL. Oxygen-derived free radicals in osteoclasts: the specificity and location of the nitroblue tetrazolium reaction. *Bone*. 1990; **11**: 115-119.
68. Kılıçoğlu, SS. Mikroskopik düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2002; **55**: 143-150.
69. Krischak GD, Augat P, Sorg T, Blakytyn R, Kinzl L, Claes L, Beck A. Effects of diclofenac on periosteal callus maturation in osteotomy healing in an animal model. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007 Jan; **127**(1): 3-9.
70. Krischak GD, Augat P, Blakytyn R, Claes L, Kinzl L, Beck A. The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac reduces appearance of osteoblasts in bone defect healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007 Aug; **127**(6): 453-458.
71. Leunig M, Yuan F, Gerweck LE, Berk DA, Jain, RK. Quantitative analysis of angiogenesis and growth of bone: effect of indomethacin exposure in a combined in vitro-in vivo approach. *Res Exp Med*. 1995; **195**: 275–288.
72. Leveille SG, La Croix AZ, Koepsell TD, Beresford S, Belle GV, Buchner DM. Do dietary antioxidants prevent postmenopausal bone loss? *Nutrition Research*. 1997; **17**(8): 1261-1269.
73. Li M, Thompson DD, Paralkar VM. Prostaglandin E(2) receptors in bone formation. *Int Orthop*. 2007 Dec; **31**(6): 767-772.
74. Lin SK, Kok SH, Kuo MY, Lee MS, Wang CC, Lan WH, Hsiao M, Goldring SR, Hong CY. Nitric oxide promotes infectious bone resorption by enhancing cytokine-stimulated interstitial collagenase synthesis in osteoblasts. *J Bone Miner Res*. 2003; **1**(18): 39–46.
75. Meydani M. Vitamin E. *Lancet*. 1995 Jan; **345**(8943): 170-175.
76. Mikami T, Ichiseki T, Kaneuji A, Ueda Y, Sugimori T, Fukui K, Matsumoto T. Prevention of steroid-induced osteonecrosis by intravenous administration of vitamin E in a rabbit model. *J Orthop Sci*. 2010 Sep; **15**(5): 674-677.
77. Morsy MD, Mostafa OA, Hassan WN. A potential protective effect of α -tocopherol on vascular complication in spinal cord reperfusion injury in rats. *Journal of Biomedical Science* 2010; **17**: 55.
78. Mullis BH, Copland ST, Weinhold PS, Miclau T, Lester GE, Bos GD. Effect of COX-2 inhibitors and non-steroidal anti-inflammatory drugs on a mouse fracture model. *J Injury* 2006 Sep; **37**(9): 827-37.
79. Naik AA, Xie C, Zuscik MJ, Kingsley P, Schwarz EM, Awad H, Guldborg R, Drissi H, Puzas JE, Boyce B, Zhang X, O'Keefe RJ. Reduced COX-2 expression in aged mice is associated with impaired fracture healing. *J Bone Miner Res*. 2009; **24**: 251-264.

80. Nilsson OS, Bauer HC, Brosjo O, Tornkvist H. Influence of indomethacin on induced heterotopic bone formation in rats. Importance of length of treatment and of age. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1986; **207**: 239-245.
81. Norazlina M, Ima-Nirwana S, Gapor MT, Khalid BAK. Palm vitamin E is comparable to α -tocopherol in maintaining bone mineral density in ovariectomised female rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000; **108**: 305-310.
82. Norazlina M, Ima-Nirwana S, Abul Gapor MT, Abdul Kadir Khalid B. Tocotrienols are needed for normal bone calcification in growing female rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2002; **11(3)**: 194-199.
83. Norazlina M, Chua CW, Ima-Nirwana S. Vitamin E deficiency reduced lumbar bone calcium content in female rats. *Med J Malaysia.* 2004 Dec; **59(5)**: 623-630.
84. Norazlina M, Lee P L, Lukman H I, Nazrun A S, Ima-Nirwana S. Effects of vitamin E supplementation on bone metabolism in nicotinetreated rats. *Singapore Med J* 2007; **48(3)**: 195-199.
85. Pablos AB, Ramalho SA, König B Jr, Furuse C, de Araújo VC, Cury PR. Effect of meloxicam and diclofenac sodium on peri-implant bone healing in rats. *J Periodontol.* 2008 Feb; **79(2)**: 300-306.
86. Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 1991; **53**: 1050-1055.
87. Petrovich YA, Podorozhnaya RP, Kichenko SM, Kozlova MV. Effects of selenium-containing compounds and their metabolism in intact rats and in animals with bone fractures. *Bull Exp Biol Med.* 2004 Jan; **137(1)**: 74-77.
88. Prasad G, Dhillon MS, Khullar M, Nagi ON. Evaluation of oxidative stress after fractures. A preliminary study. *Acta Orthop Belg.* 2003 Dec; **69(6)**: 546-51.
89. Radi ZA, Khan NK. Effects of cyclooxygenase inhibition on bone, tendon, and ligament healing. *Inflamm res.* 2005 Sep; **54(9)**: 358-66.
90. Ralston SH. Nitric Oxide and bone: What a gas! *British Journal of Rheumatology.* 1997; **36**: 831-838.
91. Reikeraas O, Engebretsen L. Effects of ketoralac tromethamine and indomethacin on primary and secondary bone healing. An experimental study in rats. *Acta OrthopTrauma Surg* 1998; **118**: 50-52.
92. Ricciarelli R, Maroni P, Ozer N, Zingg JM, Azzi A. Age-dependent increase of collagenase expression can be reduced by alpha-tocopherol via protein kinase C inhibition. *Free Radic Biol Med.* 1999; **27**: 729-737.

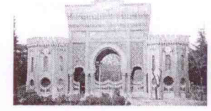
93. Riggs BL, Parfitt AM. Drugs used to treat osteoporosis: The critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling. *J Bone Miner Res.* 2005 Feb; **20(2)**: 177-184.
94. Sandukji A, Al-Sawaf H, Mohamadin A, Alrashidi Y, Sheweita SA. Oxidative stress and bone markers in plasma of patients with long-bone fixative surgery: Role of antioxidants. *Hum Exp Toxicol.* 2010 Jun. <http://het.sagepub.com/>.
95. Sarisözen B, Durak K, Dinçer G, Bilgen OF. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. *J Int Med Res.* 2002 May-Jun; **30(3)**: 309-313.
96. Sassioto MCP, Inouye CM, Aydos RD, Figueiredo AS. Bone repair in rats treated with sodic diclofenac and calcitonin. *Acta Cir Bras.* 2006; **21**: 40-44.
97. Schenk RK. Histophysiology of Bone Remodeling and Bone Repair. In Lin OCC, Chao EVS (Eds) *Perspective on Biomaterials.* Amsterdam, Elsevier Science Publisher, 1994.
98. Schneider C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res.* 2005 Jan; **49(1)**: 7-30.
99. Seidenberg AB, An YH. Is there an inhibitory effect of COX-2 inhibitors on bone healing? *Pharmacol Res.* 2004 Aug; **50(2)**: 151-156.
100. Seifert MF, Watkins BA. Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. *Nutrition Research.* 1997; **17(7)**: 1209-1228.
101. Sen C, Erdem M, Gunes T, Koseoglu D, Filiz NO. Effects of diclofenac and tenoxicam on distraction. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007; **127**: 153–159.
102. Sergeev IN, Kha KP, Blazheevich NV, Spirichev VB. Effect of combined vitamin D and E deficiencies on calcium metabolism and bone tissue of the rat. *Vopr Pitan.* 1987 Jan-Feb; **1**: 39-43.
103. Sergeev IN, Arkhapchev IP, Spirichev VB. The role of vitamin E in metabolism and reception of vitamin D. *Biokhimiya.* 1990 Nov; **55**: 1989-1995.
104. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa J Med.* 1986; **27**: 41-50.
105. Seyama A. The role of oxygen-derived free radicals and the effect of free radical scavengers on skeletal ischemia/reperfusion injury. *Jpn. J. Surg.* 1993; **23(12)**: 1060-1067.
106. Shetty V, Bertolami CN. Chapter 1, Part 1: Principles of Medicine, Surgery, and Anesthesia. Wound Healing.
107. Shuid AN, Mehat Z, Mohamed N, Soelaiman IN. Vitamin E exhibits bone anabolic actions in normal male rats. *J Bone Miner Metab.* 2010; **28**: 149–156.

108. Sikavitsas VI, Temenoff JS, Mikos AG. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials* 2001; **22**: 2581-2593.
109. Simon AM, Manigrasso MB, O'connor JP. Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2002 Jun; **17(6)**: 963-976.
110. Smith BJ, Lucas EA, Turner RT, Evans GL, Lerner MR, Brackett DJ, Stoecker BJ, Arjmandi BH. Vitamin E provides protection for bone in mature hindlimb unloaded male rats. *Calcif Tissue Int.* 2005 Apr; **76(4)** :272-279.
111. Tiseo BC, Namur GN, de Paula E JL, Mattar Junior R, de Oliveira CRGCM. Experimental study of the action of COX-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and traditional anti-inflammatory drugs in bone regeneration. *Clinics.* 2006; **61(3)**: 223-230.
112. Toklu E, Akalın FA, Renda N. The effect of Ibuprofen treatment on superoxide dismutase activity in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 2006; **30(3)**: 91-101.
113. Turgut A, Göktürk E, Köse N, Kaçmaz M, Oztürk HS, Seber S, Acar S. Oxidant status increased during fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand.* 1999 Oct; **70(5)**: 487-490.
114. Turk C, Halici M, Guney A, Akgun H, Sahin V, Muhtaroglu S. Promotion of fracture healing by vitamin E in rats. *J Int Med Res.* 2004 Sep-Oct; **32(5)**: 507-512.
115. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006 Mar 10; **160(1)**: 1-40.
116. Van't Hof RJ, Ralston SH. Nitric oxide and bone. Review Article. *Immunology* 2001; **103**: 255-261.
117. Varija D, Kumar KP, Reddy KP, Reddy VK. Prolonged constriction of sciatic nerve affecting oxidative stressors & antioxidant enzymes in rat. *Indian J Med Res.* 2009 May; **129(5)**: 587-592.
118. Wechter WJ. The effects of NSAIDs and E-prostaglandins on bone: a two signal hypothesis for the maintenance of skeletal bone. *Prog Drug Res.* 1992; **39**: 351-364.
119. Wheeler P, M E Batt. Do non-steroidal anti-inflammatory drugs adversely affect stress fracture healing? A short review. *Br J Sports Med.* 2005; **39**: 65-69.
120. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, Capeillere-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, Dayer JM, Jungers P, Drueke T, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol.* 1998 Sep; **161(5)**: 2524-2532.

121. Wu D, Hayek MG, Meydani SN. Symposium: Molecular Mechanisms of Protective Effects of Vitamin E in Atherosclerosis. Vitamin E and Macrophage Cyclooxygenase Regulation in the Aged. *J. Nutr.* 2001; **131**: 382–388.
122. Xie C, Liang B, Xue M, Lin AS, Loisel A, Schwarz EM, Guldberg RE, O'Keefe RJ, Zhang X. Rescue of impaired fracture healing in COX-2-/- mice via activation of prostaglandin E2 receptor subtype 4. *Am J Pathol.* 2009 Aug; **175**(2): 772-785.
123. Xu H, Watkins BA, Seifert MF. Vitamin E stimulates trabecular bone formation and alters epiphyseal cartilage morphometry. *Calcif Tissue Int.* 1995 Oct; **57**(4): 293-300.
124. Yee JK, Ima-Nirwana S. Palm vitamin E protects against ferric-nitrilotriacetate-induced impairment of bone calcification. *Asia Pacific J Pharmacol.* 1998; **13**: 1-7.
125. Yeler H, Tahtabas F, Candan F. Investigation of oxidative stress during fracture healing in the rats. *Cell Biochem Funct.* 2005 Mar-Apr; **23**(2): 137-139.
126. You H, Yang H, Zhu Q, Li M, Xue J, Gu Y, Lin S, Ding F. Advanced oxidation protein products induce vascular calcification by promoting osteoblastic trans-differentiation of smooth muscle cells via oxidative stress and ERK pathway. *Ren Fail.* 2009; **31**(4): 313-9.
127. Yougoshi LI, Sala MA, Brentegani LG, Lamano Carvalho TL Histometric study of socket healing after tooth extraction in rats treated with diclofenac. *Braz Dent J.* 2002; **13**(2): 92-96.
128. Young B, Heath JW. *Wheather's Functional Histology.* 4.ed. Edinburg: Churchill Livingstone; 2000: 142-151.
129. Zhong ZM, Bai L, Chen JT. Advanced oxidation protein products inhibit proliferation and differentiation of rat osteoblast-like cells via NF-kappaB pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2009; **24**(1-2): 105-14.
130. Zhu W, Diwan AD, Lin JH, Murrel GAC. Nitric oxide synthase isoforms during fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2001;**16**(3): 535-540.
131. Zhu W, Murrel GAC, Lin JH, Gardiner EM, Diwan AD. Localization of nitric oxide synthases during fracture healing, *J Bone Miner Res.*2002; **17**(8): 1470-1477.

ETİK KURUL KARARI

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



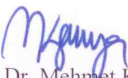
Sayı: 85


28.05.2008

Sn. Prof. Dr. Refia Deniz Fırat
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi


Karar No: 63
Başvuru Tarihi: 14.05.2008

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Doktora Öğrencisi Sevintch Iusseanova'ya ait "E vitamini ve antienflamatuvar kullanımının kemik iyileşmesi üzerine etkileri" isimli proje Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

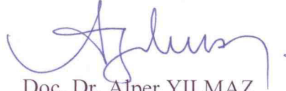

Prof. Dr. Mehmet KAYA
İ. Ü. HADYЕК Başkanı



Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

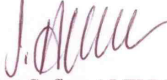

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye



Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye


Prof. Dr. Cüneyt K. ORAL
Üye


Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye


Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye


Avukat Safiye ALTUN
Üye


Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

İstanbul Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Vakıf Güreba Caddesi 34280 Şehremini-İSTANBUL
TEL : (0 212) 414 20 00/33375
E mail : deneyhyv@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sevinch	Soyadı	Shen
Doğ.Yeri	Bulgaristan	Doğ.Tar.	06.08.1979
Uyruğu	Türk	TC Kim No	-
Email	sevintch79@gmail.com	Tel	05412319514

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü.D.H.F. Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.B.D.	2011
Yük.Lis.	Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2006
Lisans		
Lise	Nedka İvan Lazarova Lisesi	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Doktora Öğrencisi	İ.Ü.D.H.F. Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.B.D.	2006-2011-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
Bulgarca	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
İngilizce	İyi	Orta	Orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	İyi
Exell	İyi
Powerpoint	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):