

**Ratlarda Deneysel Olarak Açık Femur Kırığı
Zemininde Oluşturulan Osteomyelit Modelinde
Farklı Oranlardaki Hidroksiapatit Ve/Veya Bor
Nitrür'ün Etkilerinin Araştırılması**

Uzm. Ecz. Irmak FERAH

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zekai HALICI**

Doktora Tezi-2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK AÇIK FEMUR KIRIĞI
ZEMİNİNDE OLUŞTURULAN OSTEOMİYELİT
MODELİNDE FARKLI ORANLARDAKİ
HİDROKSİAPATİT VE/VEYA BOR NİTRÜR'ÜN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Ecz. Irmak FERAH

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Zekai HALICI**

**ERZURUM
2015**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK AÇIK FEMUR KIRIĞI
ZEMİNİNDE OLUŞTURULAN OSTEOMİYELİT MODELİNDE
FARKLI ORANLARDAKİ HİDROKSİAPATİT VE/VEYA BOR
NİTRÜR'ÜN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Ecz. Irmak FERAH

Tez Savunma Tarihi: 05.06.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.M.Erdem Sağsöz (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Durdu ALTUNER (Erzincan Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Semih KUNAK (Ordu Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi
ERZURUM 2015**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kemik ve Yapısı	5
2.2. Kemik Matriksi	6
2.3. Kemik Hücreleri	6
2.4. Kemik Oluşumu	7
2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme	8
2.4.2. Enkondral Kemikleşme	8
2.5. Kırık İyileşmesi	8
2.5.1. Enflamasyon Evresi	8
2.5.2. Onarım Evresi	9
2.5.3. Yeniden Şekillenme Evresi	9
2.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	10
2.7. Osteomyelit Tanımı	11
2.8. Osteomyelit Patogenezi	11
2.9. Osteomyelit Mikrobiyolojisi	13
2.10. Osteomyelit Tanısı	14
2.10.1. Fizik Muayene	14
2.10.2. Laboratuvar	15
2.10.3. Görüntüleme Yöntemleri	16
2.11. Osteomyelit Tedavisi	17
2.11.1. Medikal Tedavi	18
2.11.2. Cerrahi Tedavi	19
2.12. Komplikasyonlar	20
2.13. Prognoz	20

2.14. Osteomyelit Risk Faktörleri.....	20
2.15. Bor... ..	21
2.15.1. Bor Mineralleri	21
2.15.2. Bor Ürünlerinin Sağlık Alanında Kullanılmaları.....	22
2.15.3. Bor Nitür.....	23
3. MATERYAL VE METOT.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Deney Hayvanları	24
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	25
3.2. Metot.....	27
3.2.1. Deney Planı.....	27
3.2.2. K Teli Kaplanması	28
3.2.3. Histopatolojik Analizler.....	34
3.2.4. Moleküler Analizler.....	35
3.2.4.1. RNA İzolasyonu	35
3.2.4.2. Reverse Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi	36
3.2.5. Radyolojik Analizler.....	38
3.2.6. Mikrobiyolojik Analizler	38
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	42
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	51
4.3. Moleküler Bulgular.....	55
4.4. Direkt Radyografi Bulguları	58
4.5. Mikrobiyolojik Bulgular	62
5. TARTIŞMA.....	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72
KAYNAKLAR	73
EKLER	94
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	94
EK-2. ETİK KURUL ONAYI FORMU	95

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, beni ileriki meslek yaşantıma eksiksiz olarak hazırlamak için büyük uğraş veren, bilgi, deneyim ve enerjisi ile her zaman yanımda olan danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Zekai HALICI'ya tez çalışmam boyunca sağladığı destek için teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora eğitimim boyunca bilgilerinden yararlandığım, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet Hacımüftüoğlu'na teşekkür ederim. Tezimin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ali AYDIN'a, Doç. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK'a ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Cemal GÜNDOĞDU'ya, Doç. Dr. M.Hamidullah UYANIK'a, Yrd. Doç. Dr. Adem KARAMAN'a, Prof. Dr. Nuran AY'a ve Dr. Feray BAKAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen Eczacılık Fakültesi Dekanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Zühal GÜVENALP'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı 112M495 proje numarası ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a ve tez çalışmalarım esnasında yanımda olan tüm asistan arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana her zaman destek olan, beni bugünlere getiren, haklarını asla ödeyemeyeceğim canım annem Ayşe FERAH'a, canım babam Seyfullah FERAH'a ve çalışmamın ilk aşamasından itibaren sürekli yanımda olan desteğini esirgemeyen ve sonsuz özveri gösteren sevgili nişanlım Ufuk OKKAY'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Uzm. Ecz. Irmak FERAH

ÖZET

Ratlarda Deneysel Olarak Açık Femur Kırığı Zemininde Oluşturulan Osteomyelit Modelinde Farklı Oranlardaki Hidroksiapatit ve/veya Bor Nitrür'ün Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Ratlarda açık kırık zemininde oluşturulan osteomyelitte farklı oranlarda BN ile kaplanmış K teli implante edilerek BN'nin tek başına ya da antibiyotikle birlikte etkisinin araştırılması.

Materyal ve Metot: Her bir grupta 10 adet rat olmak üzere 110 adet dişi rat kullanıldı. Deney grupları oluşturulduktan sonra rat femurlarında açık kırık oluşturarak medüller kanal içine 10^7 CFU/ml S.aureus içeren 10 µl bakteri enjeksiyonu yapıldı ve her grup için belirtilen dozlarda borla kaplı K telleri yerleştirildi. Sistemik antibiyotik gruplarına deney süresince günde iki kez 40 mg/kg dozunda sefazolin verildi.

Deney grupları; 1.Sağlıklı, 2.Kırık+OM, 3. Kırık+OM+ANT, 4.Kırık+OM+0BN, 5.Kırık+OM+0BN+ANT, 6.Kırık+OM+2BN, 7.Kırık+OM+2BN+ANT, 8.Kırık+OM+10BN, 9.Kırık+OM+10BN+ANT, 10.Kırık+OM+25BN, 11.Kırık+OM+25BN+ANT olmak üzere belirlendi. Deney süresince ratlara 10., 20., 30. ve 40. günlerde direkt grafi çekildi.

Bulgular: Histopatolojik bulgularımıza göre reaktif kemik oluşumu ve ona paralellik gösteren kollajenizasyon sonuçlarımızda Kırık+OM grubunda bu değerlerin sağlıklı gruba göre anlamlı olarak artmış olduğu ve bu değerdeki en fazla yükselişin Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+25BN ve bu grupların sistemik antibiyotik tedavi eklenen gruplarında olduğu gözlenmiştir. Birbirine paralel sonuçlar elde ettiğimiz, TNF- α boyama, TNF- α mRNA ekspresyonu ve mononükleer hücre infiltrasyonu bulgularımız Kırık+OM grubunda sağlıklı gruba kıyasla anlamlı bir artış göstermiş olup Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+25BN ve bu grupların sistemik antibiyotik tedavi eklenen gruplarında bu artışın anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. BMP-2 seviyeleri Kırık+OM+2BN grubunda daha az olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde bütün gruplarda artmıştır. ALP seviyelerine baktığımızda neredeyse tüm gruplarda ALP ekspresyonları BMP-2 ekspresyonları ile paralellik göstermektedir.

Sonuç: Bu çalışma bize BN ve sistemik antibiyotik uygulamasının tek başlarına veya beraber kullanıldıklarında açık kırık zemininde gelişen osteomyelit önlenmesi veya tedavisinde iyi bir alternatif olabileceklerini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Bor nitrür, hidroksiapatit, osteomyelit, rat, stafilokokus aureus.

ABSTRACT

The Effects of Boron Nitride and/or Hydroxyapatite Compounds on Experimentally Induced Osteomyelitis Following Open Femoral Fracture in Rats

Aim: To investigate the role of BN with or without antibiotic supplementation on experimentally induced osteomyelitis after open fracture in rats by implanting K wires coated with different ratios of BN.

Material and method: 110 female rats were divided into eleven treatment groups, each containing 10 rats. After designing groups, open fracture was created in the rat femur and 10 µl *S.aureus* (10^7 CFU/ml) was injected into the medullary cavity then BN coated K-wires were implanted. Antibiotic groups were given 40 mg/kg cefazolin two times in a day during the experiment.

Experimental groups were; 1.Healthy, 2.Fracture+OM, 3.Fracture+OM+ANT, 4.Fracture+OM+0BN, 5.Fracture+OM+0BN+ANT, 6.Fracture+OM+2BN, 7.Fracture+OM+2BN+ANT, 8.Fracture+OM+10BN, 9.Fracture+OM+10BN+ANT, 10.Fracture+OM+25BN, 11.Fracture+OM+25BN+ANT. During the experiment, radiographs were taken from rats at 10th, 20th, 30th and 40th days.

Results: According to our histopathological results, both reactive bone formation and collagenization were significantly increased in Fracture+OM group when compared to healthy group. Maximum increase was observed in Fracture+OM+10BN, Fracture+OM+10BN+ANT, Fracture+OM+25BN and Fracture+OM+25BN+ANT groups. TNF- α staining, TNF- α mRNA expression and mononuclear cell infiltration results were all in line with each other and showing a significant increase in Fracture+OM group whereas Fracture+OM+10BN, Fracture+OM+10BN+ANT, Fracture+OM+25BN and Fracture +OM+25BN+ANT groups showed significant decrease when compared to Fracture+OM group. BMP-2 levels were increased in all groups. ALP expressions were in consistent with BMP-2 results almost in all groups.

Conclusion: This study shows that with or without systemic antibiotic BN application would be a good alternative in prevention and treatment of open fracture related osteomyelitis.

Keywords: Boron nitride, hydroxyapatite, osteomyelitis, rat, staphylococcus aureus.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalen fosfataz
ANT	: Antibiyotik
BMP-2	: Kemik morfojenik protein (Bone morphogenetic protein)
BN	: Bor nitrür
CRP	: C-reaktif protein
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
EDS	: Enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi
ESH	: Eritrosit sedimentasyon hızı
HA	: Hidroksiapatit
H&E	: Hematoksilen-Eozin
IL	: İnterlökin
OM	: Osteomiyelit
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TNF	: Tümör nekroz faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1.	%0 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri.....	30
Şekil 3.2	%0 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu.....	31
Şekil 3.3	% 2 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri.....	31
Şekil 3.4.	%2 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu.....	32
Şekil 3.5.	%10 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri.....	32
Şekil 3.6.	%10 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu.....	33
Şekil 3.7.	%25 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM Görüntüleri.....	33
Şekil 3.8.	%25 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu.....	34
Şekil 3.9	Termal siklüs koşulları.....	37
Şekil 3.10.	Gerçek Zamanlı PCR Reaksiyon Isı ve Süreleri.....	38
Şekil 4.1.	%0 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu.....	40
Şekil 4.2.	%2 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu.....	41
Şekil 4.3.	%10 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu.....	41
Şekil 4.4.	%25 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu.....	42
Şekil 4.5.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Hematoksilen-Eozin (H&E). A: Sağlıklı B: Kırık+OM C: Kırık+OM+ANT D: Kırık+OM+0BN.....	43
Şekil 4.6.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Hematoksilen-Eozin (H&E). A: Kırık+OM+0BN+ANT B: Kırık+OM+2BN C: Kırık+OM+2BN+ANT D: Kırık+OM+10BN.....	44
Şekil 4.7.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Hematoksilen-Eozin (H&E). A: Kırık+OM+10BN+ANT B: Kırık+OM+25BN C: Kırık+OM+25BN+ANT	45
Şekil 4.8.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Masson Trikrom A: Sağlıklı B: Kırık+OM C: Kırık+OM+ANT D: Kırık+OM+0BN.....	46
Şekil 4.9.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Masson Trikrom A: Kırık+OM+0BN+ANT B: Kırık+OM+2BN C: Kırık+OM+2BN+ANT D: Kırık+OM+10BN.....	47
Şekil 4.10.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Masson Trikrom.	

	A: Kırık+OM+10BN+ANT B: Kırık+OM+25BN C: Kırık+OM+25BN+ANT	48
Şekil 4.11.	Tüm grupların mononükleer hücre infiltrasyon skorlama bulguları.....	49
Şekil 4.12.	Tüm grupların reaktif kemik oluşumu skorlama bulguları.....	50
Şekil 4.13.	Tüm grupların kollajenizasyon skorlama bulguları.....	51
Şekil 4.14.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: TNF A: Sağlıklı B: Kırık+OM C: Kırık+OM+ANT D:Kırık+OM+0BN.....	52
Şekil 4.15.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: TNF A: Kırık+OM+0BN+ANT B: Kırık+OM+2BN C: Kırık+OM+2BN+ANT D: Kırık+OM+10BN.....	53
Şekil 4.16.	Rat femur kesit görüntüleri. Boya: TNF A: Kırık+OM+10BN+ANT B: Kırık+OM+25BN C: Kırık+OM+25BN+ANT.....	54
Şekil 4.17.	İmünohistokimyasal TNF- α boyama skorlama sonucu.....	55
Şekil 4.18.	Ratların femur dokusundaki TNF- α mRNA ekspresyonları.....	56
Şekil 4.19.	Ratların femur dokusundaki BMP-2 mRNA ekspresyonları.....	57
Şekil 4.20.	Ratların femur dokusundaki ALP mRNA ekspresyonları.....	58
Şekil 4.21.	Tüm grupların 10.gün direkt grafi görüntüleri.....	59
Şekil 4.22.	Tüm grupların 20.gün direkt grafi görüntüleri.....	60
Şekil 4.23.	Tüm grupların 30.gün direkt grafi görüntüleri.....	61
Şekil 4.24.	Tüm grupların 40.gün direkt grafi görüntüleri.....	62

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1.	Kullanılan alet ve cihazlar.....	26
Tablo 3.2.	cDNA sentezi için kullanılan miks içeriği.....	36
Tablo 3.3.	Rölatif gen ekspresyonu primer/prob dizilimleri	37
Tablo 4.1.	Mikrobiyolojik koloni sayımları (CFU/g).....	63

1. GİRİŞ

Günümüzde enfeksiyonlara karşı yeni tedavi modaliteleri geliştirilmiş olmasına rağmen eklem yenileme cerrahisi ve kırıkların fiksasyonunu takiben gelişebilen kronik osteomyelitlerin tedavisi, çözüm bekleyen çok önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Aynı zamanda travma sonrası gelişen açık kırık komplikasyonu olarak oluşabilecek osteomyelit önemli bir sağlık sorunudur. Kemik ve kemik iliğinin enfeksiyonu olan osteomyelit çeşitli mikroorganizmalara bağlı olarak gelişmektedir. Osteomyelit çeşitli mikroorganizmaların kemik dokusunda enflamasyona neden olmasıdır.¹ Osteomyelitinin nedenleri henüz kesin olarak aydınlatılamamış olmakla beraber, sosyoekonomik ve çevresel koşullar, bireyin biyolojik ve kalıtsal özellikleri hastalığın başlamasında etkilidir. Günümüzde, kronik osteomyelitinin etiolojisinde, travmatik nedenler ve cerrahi girişimler daha sık yer almakta ve hematogen yayılıma göre daha ön plana çıkmaktadır.^{2,3} Ortopedik bir implantın operasyon sonrası enfeksiyonu ve implant yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası çok yıkıcı sonuçlar ortaya çıkarabilir.⁴ Bu materyallerin sık kullanımıyla beraber, görülme sıklığı son yıllarda ciddi olarak azalsa da erken ya da geç cerrahi komplikasyonlarla da karşılaşmaktadır.⁴ Tüm profilaktik yöntemlere karşın protez operasyonlarından sonra %1-2 oranında enfeksiyon saptanmaktadır.⁵ Yapılan çeşitli çalışmalarda gram pozitif salgı oluşturan bakterilerin özellikle Stafilokokus Aureus'un (S. aureus) bu tarz enfeksiyonların %71-84'ünde etken patojen olduğunu ortaya koymaktadır.⁶ Bakteri gerek kan akımı yoluyla gerekse kemik defekti ile direkt kontakt yoluyla kemiği enfekte eder.⁷

Kemik biyopsisi ile tanı konulduktan sonra kronik osteomyelitinin yaygın tedavisi; etkilenmiş kemik ve yumuşak dokunun eksizyonu, kemiğin stabilize edilmesi, uygun antibiyotik kullanımı ve neden olan problemin ortadan kaldırılmasıdır.⁸ Fakat osteomyelit tedavisinde sistemik yoldan verilen antibiyotikler özellikle uzun kemiklerde

daha sık görülen ölü kemik ve nekrotik içerikle dolu kavitelere iyi geçiş yapamadıklarından sınırlı etkiye sahiptirler.⁹ Bu nedenle son yıllarda osteomyelit tedavisinde bölgesel tedavi uygulamaları gündeme gelmiş ve bu konuda araştırmalar hız kazanmıştır.^{10, 11} Medikal teknolojideki ilerlemeler sayesinde üretilen son kuşak ilaçlar, yeni cerrahi tedavi modaliteleri ve basınçlı oksijen tedavileri kullanılarak osteomyelite karşı yeni tedavi uygulamaları yapılmaktadır.¹² En sık kullanılan terapötik yöntemler antibiyotiklerin kemiğin revaskülarizasyona olanak sağlamak amacıyla nekrotik kemiğin cerrahi debridmanla veya cerrahi debridman olmadan kullanılmasıdır.⁷ Bol alternatiflerin farklı kombinasyonlarla uygulandığı birçok in vivo ve in vitro raporların varlığına rağmen, bugüne kadar kesin ve kabul gören bir protokol yoktur ve osteomyelit tedavisinde hala %100 başarı sağlanabilmiş değildir. Tüm bu faktörler yeni tedavi arayışlarına sebep olmaktadır.¹²

Klinik çalışmalar, cerrahi sonrası ortamda biyomateryal varlığının, hastayı hem erken hem de geç dönemde cerrahi bölgesinde lokal enfeksiyonlara duyarlı hale getirdiğini göstermiştir.¹³ Cerrahi tedavilerde alışılmış çelik implantların yanı sıra metalürjideki gelişmeler paralelinde farklı tasarımların ve alaşımların da giderek artan kullanım alanları bulduğu gözlenmektedir.¹⁴

21. yüzyılda başta bilişim teknolojileri ve ilaç sanayi olmak üzere yeni malzeme teknolojileri, biyoteknoloji ve nanoteknoloji gibi çağın ileri teknolojileri konusunda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Dünya üzerinde nano malzemelerle ilgili gelişmelere bakıldığında insan sağlığıyla ilgili olanlar çok daha büyük önem taşımaktadır. Bor nitrid (BN) de kendine has fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip oluşu nedeni ile biyomalzeme uygulamalarında tercih edilen bir malzemedir. Bor bileşikleri günümüzde çok çeşitli sektörlerde nihai ürün olarak kendine önemli yerler kazanmış olup Türkiye'nin stratejik geleceğidir. Bor en büyük rezerve sahip olan Türkiye'nin elinde bulundurduğu çok

değerli ve stratejik bir madendir. Türkiye'nin zenginliği olan borun uç ürünlerinden olan BN'nin sanayide yaygın şekilde kullanılmasını sağlamak üzere BN kaplamalar ön plana çıkmaktadır.¹⁵ BN, bor ve azot elementlerinin oluşturduğu, kimyasal yöntemlerle üretilen bir bileşiktir.¹⁶ Genellikle bor oksit, karbon ve azot'un 1450-1600 °C'de kimyasal reaksiyona sokulmasıyla elde edilmektedir.¹⁷ Yapısal olarak grafitte benzer hegzagonal yapıda olup düşük yoğunluklu olması, yüksek ısı iletkenliğinin olması, kimyasal kararlılığa sahip olması, kolay işlenebilir olması ve toksik olmaması gibi özelliklere sahiptir.

Borik asit bileşiklerinin antibakteriyel ve antiinflamatuvar etkisi daha önce bildirilmiştir.^{18,19} Bor içeren birçok bileşik hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda güçlü antibakteriyel aktivite göstermişlerdir.^{18, 20, 21} Çeşitli bor türleri gram pozitif ve gram negatif antibakteriyel etki göstermektedir.²²⁻²⁹ Heterosiklik borik asit bazı stafilokok suşlarına karşı antibakteriyel mekanizmaya sahiptir. Bor türlerinin inhibitör potansiyelleri bu bileşiklerin *S. aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* 119B suşlarına karşı minimum inhibitör konsantrasyonlarının tespit edilmesiyle test edilmiştir.³⁰ Literatür araştırmalarımız sonucunda, osteomyelitli kemik dokusu üzerine BN'nin etkisini araştıran in vivo bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Biz de bor madeni gibi nanoteknolojik alanlarda kendine gerçekten önemli yerler kazanmış bir elementin sağlık alanındaki kullanılabilirliğini incelemeyi amaçladık. Toplum sağlığını tehdit eden kemik dokusu ile ilgili enfeksiyonların tedavisi ve mevcut tedavilerdeki komplikasyonların önüne geçilebilmesi için yeni bir tedavi protokolü sağlamak amacıyla; açık kırık zemininde gelişebilecek osteomyelitin tedavisine veya önlenmesine ayrıca implant kaynaklı osteomyelit gelişiminin de önlenmesine ciddi katkı sağlayacağı ve bu elementin önemli bir problemin çözümüne ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

Tüm bu bilgiler ışığında biz bu çalışmada deneysel olarak açık kırık zemininde osteomyelit oluşturduğumuz ratlara BN ile kaplanmış K teli implante ederek BN'nin tek başına ya da antibiyotik tedavisi eklenerek osteomyelit tedavisindeki etkinliğini histopatolojik, moleküler, radyografik, immünohistokimyasal ve mikrobiyolojik teknikler kullanarak incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik ve Yapısı

Erişkin bir insanda iskelet sistemi 206 kemikten oluşmaktadır. İskelet sistemi vücudu desteklemekle birlikte vücudu dış uyaranlara karşı koruyan dokular bütünüdür. Birçok fonksiyonu olan kemik dokusu bu koruma görevini merkezi sinir sistemi ve organların etrafını sarak, ligament ve tendonlar için bağlantı sağlayarak gerçekleştirmektedir. Ayrıca vücudumuz için hayati önemi olan kalsiyum, fosfat ve magnezyum gibi birçok mineralin depo görevini gerçekleştirmektedir. Dinamik bir yapıya sahip olan kemik dokusu remodeling olarak adlandırılan internal ve eksternal strese karşı kemiğin yeniden şekillendirilmesi kabiliyetine sahiptir.³¹ Kemik yapımı ve yıkımı arasında hassas bir denge üzerine kurulmuş olan bu süreç esas olarak osteoblast ve osteoklast olarak isimlendirilen fonksiyonel olarak birbirlerine zıt iki hücre grubu tarafından gerçekleştirilmektedir.³² Kemik spongiyoz ve kompakt olmak üzere iki formdan oluşmaktadır.³³ Kompakt form sıkı tertiplenmiş ve boşluk içermeyen bir doku yapısına sahipken spongiyoz kemik, gevşek ve bol boşluklu bir yapıya sahiptir. Kemik iliği bu boşlukları doldurmaktadır. Kemiğin oluşumunda rol oynayan başka bir bölge spongiyoz yapıya sahip olan ince kompakt kemikle kaplı epifiz bölgesidir.³⁴ Diğer bir bölüm olan diyafiz ise kompakt kemik dokusundan oluşur. Diyafizin tam ortasında da kemik iliği yer almaktadır. Kemik korteksinin dış yüzeyini periosteum iç yüzeyini ise endosteum olarak isimlendirilen zarlar oluşturur.³⁵ Periosteum osteoblast, osteoklast, sinir lifleri ve kan damarlarını içeren fibröz bir dokudur.³⁵ Kemiğin beslenmesinde rol oynayan bu yapı aynı zamanda kemik kırıklarının yeniden tamirine de olanak sağlar.³⁶ Kan damarlarını ihtiva eden membranöz bir tabaka olan endosteum, kemiğin trabeküler alanını besler ve remodeling sürecinin osteojenik bölümünde önemli rol oynar.³⁶ Kemik dokusu bol damarlı olmasına rağmen matriksinin sert olması sebebiyle difüzyona elverişli

değildir.³⁷ Bu nedenle dokunun beslenmesi kanaliküller vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Bu kanaliküllerin içinde kemik hücreleri sitoplazmik uzantılarıyla birbirleri ve komşu damarlarla ilişki kurarak kemik dokusunun fonksiyonu sağlıklı bir şekilde sürdürülür.³⁷

2.2. Kemik Matriksi

Kemik matriksi kemiğe şeklini veren organik kısım ve kemiğin dayanıklılığını sağlayan inorganik kısım olmak üzere iki esas kısımdan oluşmuştur. Başlıca kollajenden oluşmuş olan organik madde kemiğe şeklini verip gerilmeye karşı dayancını sağlarken inorganik madde ise kemiğin baskıya karşı direncini sağlar. Kemik matriksinin organik kısmı %99 oranda tip 1 kollajenden oluşmuştur. Organik matriksin kalan kısmı ise çoğunlukla glikozaminoglikanlar (kondroitin sulfat, keratan sulfat, hyaluronik asit), glikoproteinler (osteonektin, osteopontin, sialoprotein), kemiğe özgü K vitamini bağımlı proteinler (osteokalsin, matriks Gla-protein, protein S) tarafından oluşturulur.³⁸ Matriksin inorganik kısmını ise büyük oranda kalsiyum ve fosfatın birleşmesi ile oluşan kalsiyum hidroksiapatit (HA) ve osteokalsiyum fosfat tuzları oluşturur. Kalsiyum karbonat, kalsiyum florid, magnezyum florid, magnezyum hidroksit ve magnezyum sülfat kemik matriksinin inorganik kısmını oluşturan diğer minerallerdir.³⁹ Kemiğin gücü ve sertliği kollajen ve HA kristallerinin arasındaki ilişki sayesinde belirlenir. Ayrıca osteokalsin ve osteopontinde HA'lara bağlanarak osteoblast ve osteositlerin ilişkisinde rol oynarlar.

2.3. Kemik Hücreleri

Kemik dokusu osteoprogenitör hücre, osteoblast, osteosit ve osteoklast olmak üzere dört tip hücreden oluşmaktadır. Kemiğin ana hücreleri olan osteoprogenitör hücreler mezenşimden kaynaklanırlar. Bu hücreler farklılaşarak mitozla olgun kemik hücrelerine dönüşebilmekte olup kemik büyümesi veya zedelenmesi gibi durumlarda aktif hale gelerek osteoblast hücrelerine dönüşebilirler.³⁷ Osteoblastlar kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir. Bu hücreler kollajen fibriller, proteoglikanlar,

glikozaminoglikan ve glikoproteinler gibi kemik matriksinin bazı organik kısımlarının sentezinden sorumludur.³⁸ Bu hücrelerin matriks sentezlemeye başlamaları aktif kemik şekillenmesinde önemli görev üstlenen alkalen fosfataz (ALP) aktivitesini artırırken sentezleri azaldıkça bu enzimin aktivitesi azalır. Ayrıca kalsiyum ve fosfat gibi inorganik kısımların kemiğe çökebilmesi için de bu hücrelerin varlığı gereklidir.⁴⁰ Osteoblastlar tarafından sentezlenen ve kemik oluşumunda rol oynayan başka bir önemli faktör ise insülin benzeri büyüme faktörü-1'dir.⁴¹ Kemik dokusunun esas hücreleri olan osteositler oluşumunu tamamlamışlardır ve olgun kemik hücreleridir. Bu hücreler uzantıları sayesinde kemik matriksi içindeki diğer osteositlerle bağlantı kurarak tüm mineralize matriks yüzeyine ulaşabilirler. Bu sayede kemik sıvılarıyla kan arasındaki mineral alışverişine katkıda bulunurlar. Böylece vücut mineral dengesi ve kemik sıvı kompozisyonunu dengede tutmaya yardım ederek homeostatik mekanizmayı düzenleyebilirler.³⁷ Ayrıca diğer hücelere dönüşebilme özellikleri olup özellikle kemik yıkımı sırasında osteoblastlara dönüşmeleri bu hücrelerin değerini gösteren önemli bir özelliktir. Osteoklastlar ise kemikte yıkımı ve kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren hücrelerdir. Bu hücreler kemik matriksini yıkan asit, kollajenaz ve diğer bazı proteolitik enzimleri salgırlar.³⁹ Bu vasıtayla hormonal ve hücrel mekanizmaların kontrolü altında kalsiyumun kemikten kana geçişine olanak vererek kalsiyum derişiminin homeostatik olarak düzenlenmesinde rol oynarlar.⁴²

2.4. Kemik Oluşumu

Kemik oluşumu birinci olarak osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile (intramembranöz kemikleşme) ikinci olarak ise mevcut kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çökmesi olmak üzere (enkondral kemikleşme) gerçekleşir. Her iki kemik oluşum sürecinde de ilk ortaya çıkan doku

birincil kemik dokusudur ve bu doku bir süre sonra yerini ikincil kemik dokusuna bırakır.³⁹

2.4.1. İntramembranöz Kemikleşme

Bu tip kemikleşmede farklılaşmamış mezenşim hücreleri yoğunlaşarak ve katmanlar halinde birikerek birbirleriyle bağlantı kurarlar. Daha sonra osteoblastlara dönüşen bu hücreler organik matriks üreterek mineralizasyonu başlatıp kemik oluşmasını sağlar. Bu şekilde kemik yapımına frontal, parietal, oksipital, temporal kemikler ile maksilla ve mandibulanın bazı bölümleri örnek olarak verilebilirler.^{43, 44}

2.4.2. Enkondral Kemikleşme

Bu süreçte mineralize kıkırdak kemik dokuya dönüşür. Embriyonik uzun kemik oluşumu, uzunlamasına büyüme, kırık kallus oluşumu ve demineralize kemik matriksi kullanımındaki kemik oluşumunda kemik yapımı bu şekilde gerçekleşmektedir.^{45, 46}

2.5. Kırık İyileşmesi

Zarar görmüş bir kemik dokusunun bu hasara cevap verme ve yenilenme süreci olan kırık iyileşmesi sürecinde kemik dokusunun rejenerasyonla aslına en yakın şekilde skar doku oluşturmaksızın iyileşmesi diğer birçok dokuyla farklılığını ortaya koymaktadır.⁴⁷ Kemik dokusunun iyileşme süreci oldukça karmaşık fakat bir o kadar da düzenli basamaklardan oluşmaktadır. Bu süreç kırığın olduğu andan itibaren başlayıp kırık uçları düzenli kemik dokusu ile birleşip eski halini alana kadar devam eder.⁴⁷ Kırık iyileşmesi enflamasyon evresi, onarım evresi ve yeniden şekillenme evresi olmak üzere birbirini tamamlayan üç farklı evreden oluşur.

2.5.1. Enflamasyon Evresi

Bu evre ilk üç veya dört günlük zaman dilimini kapsayan kırık hematomunun ilk oluşumunun ve organizasyonunun başladığı dönemdir.⁴⁸ Kırık iyileşmesi yumuşak dokudaki yara iyileşmesinde görülen süreçlere benzer. Kemiğin kırılması ile kemik içinde

ve damarlarda kopmalarla birlikte kas ve periosteumu da içine alan çevredeki yumuşak dokularda da hasar oluşur.⁴⁹ Bununla birlikte; kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında kırık iyileşmesinde son derece önemli rol oynayan hematoma görülür.³⁹ Bu hematoma enflamasyon sürecini başlatarak içerisindeki trombositlerden ve zarar görmüş kemik ve yumuşak dokulardan salgılanan enflamatuvar mediatörler vasıtasıyla kan damarlarında vazodilatasyona, plazmanın damar dışına sızmasına ve kırık bölgesinde ödem oluşmasına sebep olur.⁵⁰⁻⁵³ Ortamdaki makrofaj, lenfosit ve lökositler salgıladıkları çeşitli mediatörlerle anjiogenezi uyarırlar. Enflamatuvar hücreler nekrotik doku ve eksudayı rezorbe ederken bölgeye göç eden fibroblastlar yeni matriks oluşturmaya başlar. Kırık hattındaki fibroblastlar, mezenşimal hücreler ve kemik progenitör hücreleri granülasyon dokusu oluşturarak onarım akışını başlatır ve kemik uçlarını şekillendirir.^{47, 51-54}

2.5.2. Onarım Evresi

Kırık iyileşmesinin en önemli basamağını oluşturan bu evrede görev alan hücreler mezenşimal kökenli pluripotent hücrelerdir. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. İlk farklılaşan hücre grubu olan fibroblastlardan kollajen, daha sonra kondroblastlardan ise kollajen ve glikozaminoglikan sentezlenir.⁵⁵ Böylece kırıkta ve fibröz doku yumuşak kallus denilen yapıyı oluştururken osteoblastlar ise osteoidin yapımına başlar ve dış tarafta sert kallusu oluşturur. İç taraftaki yumuşak kallus bölgesinde de endokondral kemikleşme süreci başlar ve sert kallus büyür böylece kırık hattı gittikçe stabilleşir ve klinik kaynama meydana gelir. Daha sonra yeniden şekillenme evresine geçecek olan bu oluşum normal kemiğe göre daha zayıftır.⁵⁶

2.5.3. Yeniden Şekillenme Evresi

Kemiğin yeniden şekillenme evresi kemik iyileşme sürecinin en uzun evresidir. Bu dönemde güçlü ama düzensiz fazla kallus dokusu rezorbe edilerek yeni lameller kemik

gelişir ve kemik yavaş yavaş orijinal şeklini almaya başlar.⁴⁸ Yeniden şekillenme evresinde öncelikle kalsifiye kırık dokusu osteoid dokuya dönüşerek birincil kemik dokusunu oluşturur ve bunu takip eden süreçte kırık kallusu, ikincil osteonlara dönüşür ve havers sistemi oluşur yani birincil kemik dokusunun yerini ikincil kemik dokusu alır. Kemik iliği kanalı içindeki kallus osteoklastlar tarafından yıkılarak boşluklar yeniden düzenlenir. Bu evrede tip 1 kollajen üretimi baskın olup tip 10 kollajen de encondral ossifikasyon boyunca bir miktar bulunur. Ayrıca kırık iyileşmesinin her evresinde bulunan osteonektin yeniden şekillenme evresinde en yüksek seviyesine ulaşır.⁵⁷

2.6. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Uzun ve kompleks bir fizyolojik süreç olan iyileşme süreci birçok hücre türünün organize hareket etmesiyle oluşan birçok faktörün etkili olduğu bir süreçtir. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler esas olarak; kırığın lokalizasyonu, vaskülarizasyon özellikleri, kırığın açık veya kapalı oluşu, hastanın eşlik eden hastalıkları ve kullanılan ilaçlar şeklinde sıralanabilir. Ayrıca hormonal faktörler de kırık iyileşmesi sürecinde etkilidir. Kortikosteroidler kallus üretimini azaltarak kırık iyileşmesini yavaşlatırken, kalsitonin, tiroid hormonları, paratiroid hormon, vitamin D₃, büyüme hormonu ve fibroblast büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi faktörlerin kırık iyileşmesi üzerinde hızlandırıcı etkisi vardır.⁵⁸⁻⁶³ Bunlara ek olarak diyabet, anemi, rikets gibi bazı sistemik hastalıkların kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği gösterilmiştir.⁶³ Kırık iyileşmesini yavaşlatan başka bir faktör de ileriki yaşlarda östrojen eksikliğine bağlı olarak gelişen osteoporozdur.^{62, 64} Çocukluk çağında progenitör hücrelerin mezenşimal hücrelerden daha hızlı farklılaşabilmesi ve yüksek mitoz hızı kırık iyileşmesini hızlandıran faktörlerdir.⁶³ Ayrıca yine yaşa bağlı olarak periosteumun kalınlığı ve kanlanması da azalması sonucu yaşlılıkta kırık iyileşmesi uzar.⁶⁵ Kırık yerinde enfeksiyon gelişerek osteomyelit oluşması veya enfeksiyon olan

yerde kırık oluşması iyileşme sürecini uzatmaktadır çünkü enfeksiyon varlığı vasküler tromboz oluşturarak kan dolaşımını bozmakta ve ödem ve nekroza yol açarak kırık iyileşmesini yavaşlatmaktadır.⁶³

2.7. Osteomyelit Tanımı

Kemiğin enfeksiyonu olarak tanımlanan osteomyelit, bir mikroorganizmanın enflamatuvar süreçler ile kemik dokusunda ve bazen periost, korteks ve çevre yumuşak dokuları da kapsayacak şekilde hasar oluşturması sonucu ortaya çıkan ilerleyici karakterde bir hastalıktır.^{1, 66, 67} Yapılan araştırmalarda kırık vakalarında %5-50 gibi bir oranda osteomyelit geliştiği gösterilmiştir.⁶⁸ Travma derecesine ve uygulanan tedaviye göre değişmekle birlikte açık kırıkları takiben osteomyelit görülme oranının, %2-16 arasında olduğu bildirilmiştir. Özellikle erkeklerde insidansının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.⁶⁹ Günümüzde tedavi yöntemlerinin çeşitliliğine ve giderek artan etkinliğine rağmen hastanın hayat kalitesini önemli oranda etkileyen osteomyelit, gerek cerrahi, gerek medikal tedavinin kombinasyonu ile dahi tedavisi zor olan, klinik seyri nedeniyle kronikleşme ve rekürrens eğilimi olan bir hastalık olarak ciddi bir enfeksiyon olma özelliğini günümüzde de sürdürmektedir.^{12, 70}

2.8. Osteomyelit Patogenezi

Osteomyelit, vücudun başka yerindeki bir enfeksiyon odağından kaynaklanan bakteriyemiye bağlı olarak ya da sepsis kaynaklı hematogen yolla, komşuluğundaki yumuşak dokulardan yayılım yoluyla, açık kırık, penetrasyon, ponksiyon ve cerrahi girişim sonrası direkt inokülasyon gibi çeşitli yollarla oluşabilir.⁶⁷ Osteomyelit gelişmesinde kolaylaştırıcı rol oynayan diğer faktörler ise lokal travma, kronik hastalık, malnutrisyon ve immün yetmezlik olarak sıralanabilir.¹³ Osteomyelitte bakteri endotoksin salgılayarak kemikte hasara sebep olabildiği gibi (bakteriyel lipopolisakkarit) ayrıca osteoklastik aktiviteyi tetikleyerek ve kemik matriks sentezini engelleyerek de

kemik yapısında hasara neden olmaktadır.^{71, 72} Daha önceden, osteomyelite bağlı olarak artan osteoklastik aktivitede enfeksiyöz mekanizmaların daha aktif rol oynadığı düşünülmeye rağmen günümüzde kemik yıkımı ve enflamatuvar cevap arasındaki ilişki aydınlanmış ve bu osteoklastik aktivitede makrofaj ve bakteriyel lipopolisakkarit ile stimüle edilmiş osteoblast kaynaklı interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-11, TNF (tümör nekroz faktörü) gibi sitokinlerin ve EDRF (endotel kaynaklı gevşetici faktör)'nin mikroorganizmanın alevlendirdiği cevapta etkin rol oynadığı yönünde yaygın bir görüş kazanılmıştır.^{72, 73}

S. aureus gibi bazı mikroorganizmalar, deri ile burun mukozasında sıklıkla kolonize olabildiğinden ve ayrıca kemiğe fibronektin, laminin, kollajen ya da siyaloglikoprotein reseptörleri ile bağlandığından özellikle osteomyelite neden olabilir.

Mikroorganizmalar kemik dokuya ulaştıktan sonra endotel duvarın arasındaki boşluklardan kemiğe kolayca geçebilecekleri bir bölge olan kemiğin metafizine gelerek enflamasyonu başlatır. Metafiz bölgede damar yapısının sinüzoidal olup dar lümenli yapısı dolayısıyla akım bu bölgede yavaştır ve bu bölgede makrofajların aktivitesi kemiğin diğer bölgelerine göre daha düşüktür.⁷⁴ Enflamasyon sonrası ödem gelişerek avasküler bir bölge oluşmaya başlar ve iki gün içerisinde apse oluşumu gözlenebilir. Daha sonra kemik iliğinde nekroz gözlenir ve ödem bu bölgenin çevresinde yayılmaya başlayarak apse formasyonunu genişletir. Oluşan apsenin büyümesi kemik iliği basıncını artırarak daha fazla kemik bölgesinin damar yapısının bozulmasına yani avasküler hale gelmesine neden olur. Dördüncü günün sonunda apse dokusu iyice yayılır.⁷⁴ Apse dokusu yayıldıkça kemik iliği içerisindeki oksijen basıncı azalır ve ortam asidik hale gelir.⁶⁶ Büyüyen apse korteksi aşarak periost altına ve çevredeki yumuşak dokulara geçer ve nihayetinde ciltten dışarıya sızar.⁹ Bunlara ek olarak cerrahi operasyon esnasında periostun sıyrılması, medüller kanalın zarar görmesi gibi nedenlere bağlı olarak kemik

kanlanmasının kolayca bozulabilmesi, mikroorganizmaların kemiğe yapışmasını kolaylaştıran ortamın meydana gelmesi ve bir implantın kullanılması sonucu biyofilm tabakasının oluşması enfeksiyon gelişim sürecine katkıda bulunan diğer faktörlerdir.⁶⁶

2.9. Osteomyelit Mikrobiyolojisi

Osteomyelite neden olan patojenler; hastanın yaşına ve enfeksiyonun şekline göre değişiklik göstermekle birlikte osteomyelit hastalarında en sık izole edilen enfeksiyon etkeni, %50-60'luk bir oranla *S. aureus*'tur.^{12, 75} Ayrıca, streptokoklar, enterokoklar, aerobik gram negatif basiller ve anaerobların hepsi osteomyelit hastalığında patojen olabilir. *S. aureus*, fibrinojen, fibronektin, laminin, kollajen, sialoglikoprotein ve clumping faktör A olmak üzere kemik matriksinin birden çok komponentine yapışma özelliğine sahiptir. Yapışma bakteriyel yüzeydeki protein adezinleri tarafından kontrol edilir.⁷⁶ Bakteri hücre duvarının bir bileşeni olan stafilokokal protein A IgG'nin Fc reaktif bölgesine bağlanarak antifagositik etki gösterir.⁷⁷ *S. aureus*un yüzey proteinleri tarafından salgılanmaları uyarılan TNF- α , prostaglandinler ve IL-1 gibi bazı katabolik faktörler osteoliz oluşumuna sebep olurlar.⁷⁸ Osteomyelit tedavisinde karşılaşılan en büyük sorunlardan bir tanesi de *S. aureus*, *S. epidermidis*, Grup A streptokoklar ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bazı patojenlerin biyofilm oluşturmalarıdır. Fagositik hücreler tarafından oluşturulan bir bariyer olan biyofilm sayesinde antimikrobiyal ilaçlara direnç kazanan patojenler daha uzun yaşayabilmektedirler ve eradikasyonları zorlaşmaktadır.⁷⁹ Bazı mikroorganizmalar örneğin, *Salmonella* ve *S. aureus* orak hücre anemili hastalarda daha sıklıkla gözlenirken *Enterobacteraceae* ailesi ve grup B streptokoklar, yenidoğanlarda *P. aeruginosa* ve *S. aureus* ise intravenöz madde kullananlarda daha sık gözlenir.

2.10. Osteomyelit Tanısı

Osteomyelitte erken tanı ve tedavi hastalığın seyri açısından hayati öneme sahip olup hastalığın tanısı anamnez, fizik muayene ve labarotuvuar bulgularının yanı sıra etkenin izolasyonu ve kemiğin görüntülenmesiyle konulur. “Gold standard” enfekte kemikten histolojik ve mikrobiyolojik değerlendirme için biyopsi alınmasıdır.⁸⁰ Kemik ağrısı, yumuşak doku şişliği, ekstremitelerde hareketlerinde kısıtlılık gibi şikayetlerin varlığı osteomyelit olasılığını akla getirmelidir. Etkenin bir an önce belirlenerek kesin tanının konulması ve uygun antimikrobiyal tedavinin başlanması çok önemlidir.¹ Daha önceleri sıklıkla tercih edilen sinüs drenajı kültürü yöntemi yerini hem özgüllük hem de duyarlılık açısından daha üstün olan kemik biyopsisi kültürüne bırakmıştır. Alınan doku örneklerinin hem mikrobiyoloji hem de patoloji laboratuvarına gönderilmesi ihmal edilmemelidir. Normalde daha sık karşılaşılan etkenlerin izole edilmediği nadir durumlarda fungal ve mikobakteriyel kültür yolları da akla gelmelidir.

2.10.1. Fizik Muayene

Osteomyelitte ateş, irritabilite ve letarji gibi enfeksiyon bulgularının yanı sıra lokal inflamasyon bulguları (kızarıklık, hassasiyet, ısı artışı, şişlik) görülür. Fizik muayenede deri ve yumuşak doku bütünlüğüne odaklanılarak hassas bölgeler dikkatle değerlendirilmeli, kemik stabilitesi ölçülmeli ve ekstremitenin genel durumu değerlendirilmelidir. Ayrıca; etkilenen ekstremitenin deri ve yumuşak doku bütünlüğü ve fistül varlığında fistül ağzından gelen akıntı da dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir. Ateş genellikle olmamakla birlikte görüldüğü durumlarda da subfebrildir. Klinik bulgular hastalığın şiddetine, lokalizasyonuna, enfeksiyonun yayılmasına, hastanın yaşına ve immün direncine göre farklılıklar göstermekle birlikte bulguların bebeklerde, yaşlılarda ve immün sistemi baskılanmış kişilerde minimal olması beklenir.⁷⁹ Gözlenen diğer bir bulgu da ekstremitelerde aktif hareket eksikliğidir, buna bağlı olarak genellikle ekstremitelerde

fleksiyonda tutulur ve çevre kas dokusunda spazm vardır.^{66, 81} Tanıyı destekleyen bulgulardan biri de ağrıdır.⁸² Hastalığın ilk dönemlerinde hissedilen ağrı daha sonraki dönemlerde apsenin fistül oluşturarak periostu delmesi ile hafifler.

2.10.2. Laboratuvar

Osteomyelit tanısında öne çıkan başlıca laboratuvar parametreleri beyaz küre sayısı, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), IL-6 ve prokalsitonin şeklinde sıralanabilir. Bu parametreler yalnızca tanıda değil tedavinin gidişatını değerlendirmede de önem arz ederler. Lökositoz özellikle polimorf nüveli lökositlerin artışı hem akut hematojen hem de kronik osteomyelitin akut ataklarında görülebilir.⁸³ Kronik osteomyelit olgularında ESH ve CRP tanı anında sıklıkla yüksek bulunurken, tedaviyle seviyelerinde düşme gözlemlendiği için tedavinin takibinde değerli birer parametre olarak karşımıza çıkar. ESH'ye kıyasla tedaviye verilen cevabı izlemede CRP ile daha erken sonuç alınabilir.⁸⁴ Seviyelerinin değişimi açısından bu parametreler kıyaslandığında ise en çabuk değişen parametre prokalsitonin ve en yavaş değişen parametre ESH olarak karşımıza çıkar. Viral enfeksiyonlar ve enflamatuvar durumlarda seviyesi yükselen prokalsitonin 1,5 ng/ml düzeylerine çıkmakta iken osteomyelit gibi sistemik belirtilere yol açan ağır bakteriyel enfeksiyonlarda düzeyi 100 ng/ml'nin üzerine çıkabilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre enfeksiyonların akut seyri sırasında prokalsitonin, TNF- α ve IL-6 plazma seviyeleri arasında benzer bir ilişki vardır.⁹ IL-6 akut dönem cevabının esas göstergesidir. Bunu hepatosit hücrelerini aktive ederek sağlar. IL-6 tıpkı IL-1 ve TNF- α gibi immün cevapta çok önemli yeri olan sitokin familyasının bir üyesidir.⁹ Kandan, enfekte kemik doku ya da enfekte eklem sıvısından kültür yaparak patojeni tespit etmek altın standarttır. Kan kültürü ile hastaların %50'sinde patojen tanımlanabilmekteyken kemik dokusundan yapılan kültür daha kesin bir şekilde bakterinin tanımlanmasını sağlar.

2.10.3. Görüntüleme Yöntemleri

Radyolojik olarak osteomyelitin değerlendirilmesinde pek çok görüntüleme yöntemi kullanılabilirken bu yöntemlerden hiçbiri tek başına osteomyelit tanısı için yeterli olmadığı gibi tanıyı dışlamak için de yeterli değildir. Genel itibariyle osteomyelitte görüntüleme çalışmaları tanıyı doğrulamak için diğer yöntemlerle birlikte veya cerrahi tedavi planlanıyorsa tedaviye hazırlık amacıyla yapılmaktadır.⁴ Direkt radyografi, osteomyelit tanısında çok önemli bilgiler verebilmesi nedeniyle görüntüleme yöntemi olarak ilk tercihtir. Bu yöntemde osteomyelit tanısını destekleyen önemli bulgular arasında periost reaksiyonu, osteoliz ve sekestrum formasyonu yer almaktadır. Osteomyelitte tanı aracı olarak direkt grafi kullanılacaksa gözden kaçırılmaması gereken önemli bir nokta radyolojik olarak değişikliklerin görülebilmesi için birkaç haftalık zamana ihtiyaç duyulduğudur. Aynı şekilde radyolojik düzelme de klinik iyileşmeden daha geç olur.⁸⁵ Ayrıca osteoartropatisi olan, uzun süreli diyabeti olan veya Charcot ayağı gelişmiş olan hastalarda direkt grafi yöntemiyle bahsi geçen hastalıkları osteomyelitten ayırmak oldukça güçtür.⁸⁶ Diyabetik ayak osteomyeliti olan hastalar üzerinde yapılmış bir çalışmada, direkt grafilerin osteomyelit için duyarlılığı %54 ve özgüllüğü %68 olarak bulunmuştur.⁸⁷ Bilgisayarlı tomografi, direkt radyografide görebildiğimiz bulgulara ek olarak; medüller kanaldaki minimal hava odaklarını, kortikal yıkımları, enfeksiyon odağı gibi davranan yabancı cisimleri ve özellikle de sekestrum formasyonunu en iyi gösteren tetkiktir.^{88, 89} Direkt grafiye kıyasla kemik yıkımını ve sklerozu göstermede daha duyarlıdır.^{66, 90} Bilgisayarlı tomografi tedavi etkinliğinin takibinde de oldukça değerli bir görüntüleme aracıdır. Tedavinin etkinliğini gösteren en önemli parametre kemik iliği dansitesinin artmasıdır. Kemik korteksini değerlendirmek için elimizdeki en değerli yöntemlerden olan bilgisayarlı tomografi tanı ve tedavi dışında biyopsi yapılması düşünülüyorsa biyopsi yerinin belirlenmesi için de kullanılır.⁹¹ Bilgisayarlı tomografinin

en önemli dezavantajı ise görüntünün artefaktlı olmasıdır. Bilgisayarlı tomografinin manyetik rezonans görüntülemeye kıyasla daha düşük özgüllüğe ve duyarlılığa sahip olduğu bilinmektedir. Osteomyelit tanısı için rutinde bilgisayarlı tomografi önerilmemekle birlikte manyetik rezonans görüntülemenin kullanılmadığı durumlarda ikinci seçenek olarak tercih edilmektedir. Yumuşak dokuların değerlendirilmesinde bilgisayarlı tomografiye göre üstün bir yöntem olan manyetik rezonans görüntüleme; yüksek maliyeti, kemik korteksinin etkili gösterilememesi ve metal implant çevresindeki dokuları göstermede yetersiz kalması sebebiyle her zaman tercih edilmemektedir. Kemik sintigrafisi, pozitron emisyon tomografisi ve florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi osteomyelit tanısında kullanılabilir diğer tanı yöntemleridir.

2.11. Osteomyelit Tedavisi

Osteomyelit tedavisi, ölü dokuların debridmanını, var olan ölü boşlukların doldurulmasını ve etkili ilacın seçildiği uzun süreli antibiyotik tedavisini kapsar.^{66, 67, 92} Tedavinin temel hedeflerinden bir tanesi de enfekte kemik bölgesindeki vasküler yapının iyileştirilmesidir. Cerrahi müdahale kronik osteomyelitlerde ve apse gelişen akut osteomyelitlerde gerekli olup; temel hedef sekestrum formasyonunu, enfekte ve skarlaşmış yumuşak dokuları debride ederek sonuçta daha iyi vaskülarizasyona sahip bir ortam oluşturmaktır.¹⁴ Dikkat edilmesi gereken nokta debridmanın eksiksiz olarak yapılmasıdır, eğer tam olarak yapılmazsa osteomyelit tekrarlaması olası bir sonuçtur. Debridman sonucu rezeke edilen bölgeler fazla geniş tutulursa debridman sonrası rekonstruktif cerrahi ihtiyacı doğabilir.¹⁴ Osteomyelit tedavisinde karşılaşılan zorluklar herhangi bir vasküler desteği olmayan sekestrum formasyonuna antibiyoterapinin ulaşamaması ve eğer implant kullanılmışsa implant ve etraf dokular üzerinde oluşması muhtemel biyofilm tabakasının immün sistemi etkisiz hale getirmesidir. Ayrıca osteomyelit hastalarının birçoğunda görülen ve cilt üstüne kadar ulaşabilen fistüller

sekonder enfeksiyonlara sebebiyet verebilirler.^{92, 93} Tedavi rejimi belirlenirken enfeksiyöz etkenin türüyle birlikte karşılaşılabilecek sorunlar da göz önünde bulundurulmalıdır.

2.11.1. Medikal Tedavi

Osteomyelitin medikal tedavisinde karşılaşılan en büyük sorun, enfeksiyon bölgesinde yeterli antibiyotik konsantrasyonunun sağlanamamasıdır. Sistemik antibiyotikler tedavi için yeterince uzun sürelerde ve enfeksiyon odağında bakterisid etki gösterebilecek etkin dozda kullanılmalıdır.⁹⁴ Medikal tedaviye başlanmadan önce kemik örneği mutlaka alınmalı, verilen ampirik tedavinin kültür ve antibiyogram sonuçlarını değiştirebileceği unutulmamalıdır. Seçilen antibiyotiğin kemik doku gibi diğer dokulara kıyasla penetrasyonu zor bir dokuda etki göstereceği düşünülerek dozu hesaplanmalıdır. Tedavi süresi pek çok değişkene bağlı olmakla birlikte ortalama olarak 4-6 hafta arasında değişmektedir. Sefalosporin grubu antibiyotikler, gram (+) ve gram (-) bakterilerin birçoğunda etkilidir. *S. aureus*'a karşı penisilinlerin etkili olduğu bilinmektedir. Ancak penisiline karşı dirençli bir bakteri türünde tedavi için oksasilin ve sodyum metisilin gibi sentetik penisilinler kullanılabilir.⁹⁵ Ayrıca yapılan in vitro çalışmalarda etkili bulunmayan üçüncü kuşak sefalosprinler *S. aureus*'a karşı klinik olarak etkili bulunmuşlardır. Bunların dışında imipenem, tikarsilin-klavulonik asit, sefazolin ve diğer geniş spektrumlu antibiyotiklerin de *S. aureus*'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Metisilin dirençli *S. aureus* suşlarında vankomisin ve teikoplanin türü antibiyotiklerin etkili olduğu gösterilmiştir.⁹⁵ Eğer kültürden *Pseudomonas* izole edilirse tedavide aminoglikozidler kullanılabilir, fakat bu durumda hasta nefrotoksisite ve ototoksisite açısından dikkatle izlenmelidir.^{92, 95} Alınan numune sonucunda üreyen patojen tipine göre antibiyotik tercihleri değişmekle birlikte penisiline duyarlı *S. aureus* için benzilpenisilin, sefazolin, klindamisin, vankomisin kullanılabilirken penisilin dirençli *S.*

aureus için nafsilin veya sefazolin, ikinci kuşak sefalosporin, klindamisin, vankomisin, rifampisinle siprofloksasin veya levofloksasin kombinasyonu ve metisiline dirençli S. aureus için vankomisin ve teikoplanin kullanılabilir.⁴

2.11.2. Cerrahi Tedavi

Osteomyelit tedavisinde cerrahinin yeri oldukça önemlidir. Cerrahi tedavinin temel hedefi nekrotik dokuların ve infeksiyonun ortadan kaldırılıp vasküler yapısı sağlam canlı bir alan oluşturarak vücudun osteomyelitle olan mücadelesine katkıda bulunmaktır.¹² Osteomyelitte cerrahi tedavi; apse oluşması, nekroz varlığı ve uygun antibiyotik tedavisiyle iyileşmenin sağlanamaması gibi durumlarda tercih edilir.⁹⁶ Cerrahi tedavi, sekestrum formasyonunun eksizyonu, infekte kemik dokusunun ve yumuşak dokunun debridmanı, skar dokusunun rezeksiyonu ve ölü boşlukların uygun doku ile restorasyonundan ibarettir.¹² Hastaya debridman yapılması planlanıyorsa rezeksiyon alanı yeterince geniş tutularak infekte doku, skar dokusu ve nekrotik dokuların tamamı temizlenmelidir. Debridman yapılırken nörovasküler yapılarla karşılaşılması ve kemiğin stabilitesinin bozulması sınırlayıcı faktörlerdir.¹² Yetersiz debridman osteomyelitte nüksün en önemli sebeplerinden bir tanesidir. Yeterli debridman sonrası ortamda ölü boşluk olarak adlandırılan vaskülarizasyonu kötü, nüks için potansiyel tehdit oluşturabilecek bir alan kalır. Osteomyelit tedavisinin doğru bir şekilde yapılabilmesi için bu ölü boşlukların da canlılığı ve vaskülarizasyonu iyi dokularla rekonstrüksiyonu gerekir.⁹⁷ Ölü boşlukların yerine konulabilecek dokular arasında ilk sırada serbest vaskülarize kemik grefti gelirken bunu lokal doku flepleri ve serbest flepler takip eder.⁹⁸ ⁹⁹ Antibiyotikleri enfeksiyon alanında daha yüksek konsantrasyonlara ulaştırabilmek için sistemik uygulama biçimine alternatif lokal antibiyotik uygulamaları ve taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Bu taşıyıcı sistemler; kemik çimentosu, kemik greftleri, alçı, polilaktat ve poliglikolat membranlar, kalsiyum sülfat, kalsiyum fosfat, HA, amiloz-niştasta implantları

gibi taşıyıcılarıdır.^{100, 101} Osteomyelit tedavisinde genel durum bozukluğu olan, diğer tedavi yöntemlerine yanıt alınamayan, tedavi esnasında hayatı tehdit eden sistemik bir komplikasyon gelişen ve aşırı kemik veya yumuşak doku kaybı oluşan hastalarda amputasyon tedavisi halen kullanılabilirliği olan bir tedavi yöntemidir.¹⁰² Osteomyelitte etkinliği tam olarak kanıtlanmamış, diğer tedavi modalitelerine ek olarak kullanılabilen başka bir tedavi yöntemi de hiperbarik oksijen tedavisidir.¹⁰³ Hiperbarik oksijen tedavisinde temel hedef çözünmüş oksijen miktarını artırarak bakteri üremesini, hipoksiyi ve ödemi önleyen bir etki oluşturmaktır.

2.12. Komplikasyonlar

Osteomyelitte tedavinin başarısızlığı sonucu görülmesi en muhtemel komplikasyon nüksüdür. Tedavi gecikirse ya da yanlış tedavi modaliteleri uygulanırsa enfeksiyon daha derin dokulara nüfuz ederek tedavi daha zor bir hal alacaktır. Özellikle çocuklarda enfeksiyonun komşu ekleme yayılması ve septik artrit görülebilir.¹⁰⁴ Diğer komplikasyonlar; patolojik kırıklar, doku atrofisi, büyüme bozuklukları, nadiren amiloidoz ve fistül bölgesinde karsinom gelişmesi şeklinde sıralanabilir.^{85, 105}

2.13. Prognoz

Prognoz enfeksiyöz etkenin türü, hastanın yaşı, belirtiler başladıktan sonra tedavisiz geçen süre ve antibiyotik tedavisinin süresi gibi birçok değişkene bağlıdır. Komplikasyon gelişmemiş osteomyelitlerde tedavi sonuçları genellikle iyi olmakla birlikte hastaların %10-20'lik bir bölümünde nüks gözlemlenebilir.¹⁰⁶ Hastaların %80-90'lık bir bölümünde sadece antibiyotik tedavisi veya antibiyotik ve cerrahi tedavi ile iyileşme sağlanır.^{105, 107, 108}

2.14. Osteomyelit Risk Faktörleri

Normalde floramızda yer alan bakteriler insan hayatı boyunca herhangi bir hastalığa sebebiyet vermeksizin genellikle zararlı patojenlerle yarışarak bağışıklık

sistemine yardımcı olmaktadır. Bazı durumlarda da floradaki bakteriler enfeksiyonu başlatan sebep olabilir. Floranın davranışında meydana gelen bu değişimde ortamın pH'ı, sıcaklığı, oksijen seviyesi gibi faktörler rol oynar.¹⁰⁹ Ortopedik enfeksiyonlarda enfeksiyonun kaynağı büyük oranda floradır. Bu tür enfeksiyonlarda en sık rastlanan bakteri türleri S. aureus ve S. epidermidis'tir. Sigara kullanımı, diyabet, malignite, HIV enfeksiyonları, organ nakli, diyaliz hastaları, üremi, malnutrisyon, kronik granülomatöz hastalıklar, hemofili, hipogammaglobulinemi, orak hücreli anemi, kompleman defektleri, lökosit adezyon defektleri gibi bağışıklık sistemini zayıflatan hastalıklar osteomyelit için konağa ait risk faktörleri arasında sayılabilir.

2.15. Bor

Bor periyodik tabloda metaller ile ametaller arasında yer alan, bu özelliği ile çok sayıda bileşik oluşturma kapasitesine sahip bir elementtir. BN, hegzonal ve kübik olmak üzere iki farklı kristal yapıya sahiptir. Hegzagonal BN, grafit ile aynı kristal yapıya sahip olmasından dolayı günümüzde "beyaz grafit" adı ile anılmaktadır. Yüksek kimyasal kararlılık, yüksek oksitlenme sıcaklığı, yüksek elektriksel direnci, yüksek termal iletkenliği, yüksek hidrojen depolama kapasitesi ve geniş bant aralığına sahip olması gibi üstün özelliklere sahiptir.¹¹⁰ Bu özellikleriyle refrakter, katı yağlayıcı, dolgu maddesi, kalıp yağlayıcısı ve kompozit malzemelerde kullanılmaktadır.

2.15.1. Bor Mineralleri

Periyodik cetvelin üçüncü grubunun ilk sırasında yer alan bor doğada en yaygın bulunan 51. elementtir. Atom numarası 5, atom ağırlığı 10.82, özgül ağırlığı 2.84, erime noktası $2190 \pm 20^\circ\text{C}$ 'dir. Doğada saf halde bulunmayan bor genellikle oksijenle birleşmiş olarak ve bor tuzları halinde veya silikatlar şeklinde bulunmaktadır. Borik asit ve boraks doğada görülen en yaygın tipleri olmak üzere iki yüzden fazla çeşitlilikte bor bulunmaktadır.^{111, 112}

Bor gün geçtikçe artan kullanım alanları ve dünyanın en büyük rezervlerine Türkiye'nin sahip olması yönünden eşsiz bir madendir. Borun ileri teknoloji gerektiren ürünlerde kullanılıyor olması bor madenini daha da değerli kılar. Bor madeni B₂O₃ olarak ele alındığında tüm dünyaya kıyasla %63'ü yani yaklaşık 1,2 milyar tonu Türkiye'de bulunmaktadır. Endüstriyel olarak kendine geniş kullanım sahaları bulan borun tıp alanında da kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bor insan vücudunda beyin gelişiminden kemik gelişimine kadar pek çok metabolik olayda rol alan esansiyel bir element olup günlük alınan ortalama bor miktarı 1,2 mg olarak tahmin edilmektedir. Yetişkin bir insanın günlük alabileceği maksimum doz 13 mg olarak kabul edilmektedir.¹¹³

2.15.2. Bor Ürünlerinin Sağlık Alanında Kullanılmaları

Bor ürünleri kanser hastalarında tedavi sonrası vücutta radyoaktif maddelerin oluşturduğu olumsuz etkileri azaltmak üzere halihazırda kullanılmakta olup birçok ülkede mineral takviyesi amacıyla da bor tabletleri üretilmektedir.¹¹⁴ Ayrıca yapılmakta olan in vitro çalışmalarla osteoblastlar üzerindeki faydalı etkileri gösterilmiştir.¹¹⁵ Embriyogenez, kemik gelişimi, immün sistem ve psikomotor gelişimi de içeren birçok hayati olayda rol alan borun aynı zamanda bakteriostatik, bakterisidal, fungistatik, fungisidal ve antiviral etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Bir çalışmada S. aureus'a karşı borun farklı formlarının etkinliği siprofloksasinle kıyaslanarak gösterilmiştir.³⁰ Yine bir başka çalışmada S.aureus kaynaklı cilt hastalıkları üzerinde borun etkinliği gösterilmiştir.¹¹⁶ Bir takım diğer çalışmalar da borun E.coli ve P. aeruginosa üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir.^{18, 25} Yapılan çeşitli çalışmalarda diyetdeki bor miktarı artırılarak enfeksiyöz yanıtın güçlendirilebildiği gösterilmiştir. Bor ve enflamatuvar yanıt arasındaki ilişkiyi anlamak için yapılmış olan bir başka çalışmada ise radyografik olarak osteoartrit tanısı almış olan 20 hastaya, 8 hafta boyunca günde 6 mg bor ya da plasebo

verilmiştir. Çalışma sonucunda bor alan grupta bulunan hastalarda subjektif olarak eklemlerde şişliğin azaldığı, sınırlı hareketlerde gelişme gözlendiği ve ağrı için daha az analjezik kullanımı bildirilmiştir.¹⁹

2.15.3. Bor Nitrür

BN, bor oksit, karbon ve azot'un 1450-1600 °C'de kimyasal reaksiyona sokulmasıyla elde edilen bor ve azot elementlerinden oluşan kimyasal formülü BN olan bir bileşiktir.¹⁷ BN, hegzonal ve kübik BN şeklinde iki farklı kristal yapıya sahiptir.¹¹⁰ İnsanoğlunun ürettiği en sert malzemeler arasında yer alan BN yüksek kimyasal kararlılığı, yüksek oksitlenme sıcaklığı, yüksek elektriksel direnci, yüksek termal iletkenliği, yüksek hidrojen depolama kapasitesi ile de malzeme mühendisleri için oldukça önemlidir.⁹⁵ Malzeme bilimcilerinin BN'ye olan ilgileri, borun bu özelliklerine ve bu özelliklerinin geniş bir uygulama sahası olmasına bağlıdır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı İmmünohistokimya Laboratuvarında, Radyoloji Anabilim Dalı ve Sabancı Üniversitesi (SUNUM)'da ve de Anadolu Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji Mühendisliği Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 110 adet ve ağırlıkları 300-350 gram arasında değişen Sprague Dawley cinsi dişi rat kullanıldı. Deney süresince, ratlara yeteri kadar (ad libitum) su ve pellet yem verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22°C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu "Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)" tarafından verilen 25 Temmuz 2014 tarihli ve 36643897-126 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tiyopental Sodyum (Pental Sodyum IV flakon) İ.E. Ulağay İlaç Sanayi Türk A.Ş. İstanbul, Türkiye: Çalışmada intraperitoneal (i.p.) olarak anestesi için 25 mg/kg ve ötenazi için 50 mg/kg dozunda verildi.

Metamizol Sodyum (Novalgin 1 g/2 ml IM/IV ampul) Sanofi Aventis İlaçları Ltd. Şti. İstanbul, Türkiye: Cerrahi girişim sonrası ağrı kesici olarak 25 mg/kg dozunda intramüsküler olarak verildi.

Sefazolin Sodyum (İESPOR 1 g IM Flakon) İ.E. Ulagay İlaç Sanayi Türk A.Ş. İstanbul, Türkiye: Operasyon sonrası 40 gün boyunca günde 2 kez 40 mg/kg dozunda intramüsküler olarak verildi.

%10 Povidon İyodin Antiseptik Solüsyon: Cerrahi insizyon alanlarının dezenfeksiyonu ve operasyon sonrası pansuman için kullanıldı.

Hidroksiapatit (HA) Nanotech İleri Teknoloji San. ve Tic. Ltd. Eskişehir, Türkiye: Yüksek biyouyumluluğu sayesinde HA yapay kemik uygulamalarında vücudun farklı bölgelerinde meydana gelen hasarların giderilmesi, tamamen işlevini yitiren kemiğin yerine kullanılan protez uygulamaları ve mekanik yük altında dayanım gerektiren durumlarda kullanılan metalik implantların kaplanması için kullanılmaktadır.

Bor Nitrür (BN) Bor Teknolojileri ve Mekatronik AŞ. Eskişehir, Türkiye: Bor nitrür uygulamalarının temel görevlerinden biri de mekanik özellikleri iyileştirmesi olup HA ve BN kompozit bileşiği kemik iyileşmesi alanında kullanılmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan nano hidroksiapatit toz (nano HA) Nanotech İleri Teknoloji San. Tic. Ltd. Şti., Türkiye ve nano hegzagonal bor nitrür (nano BN) BORTEK Bor Teknolojiler ve Mekatronik A.Ş, Türkiye'den temin edilmiştir. Süspansiyonlar %1 nano HA içerisine farklı oranlarda nano BN tozlarının etanol içerisinde dağıtılmasıyla hazırlanmıştır. Süspansiyon içerisinde nano BN %0, %2, %10 ve %25 olacak şekilde kullanılmıştır. Elektroforetik biriktirme (EPD) yöntemi ile kaplama işlemi öncesinde süspansiyona N,N –dimethylformamide ilave edilmiştir. Süspansiyonların pH'ı HNO₃ ile 4'e ayarlanmıştır. DC güç kaynağı kullanılarak 100V'da 4 saniye süre ile çelik çubuklar üzerine kaplama işlemi yapılmıştır. Kaplama işlemi sonrasında numuneler kurutulmuş ve 800 °C'de Ar atmosferinde 2 saat ısıtım işlemi yapılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Moleküler çalışmalarımızda Tablo 3.1'de listelenen alet ve cihazlar kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Kullanılan alet ve cihazlar

Cihaz	Marka/Model
TissueLyser II	QIAGEN, Hilden, Germany
QIAcube	QIAGEN, Hilden, Germany
Thermal Cycler Veriti	Applied Biosystems, CA, USA
Epoch spectrophotometer	Biotek, Highland Park, USA
Real-Time PCR	Applied Biosystems, CA, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Doku Homojenizatörü	Tissue Lyser II Qiagen, Germany
Hassas Terazı	Shimadzu ATX224, USA
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany
Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic, USA
Ultra Derin Dondurucu (-86°C)	Nuaire NU-9483E, USA
Derin Dondurucu	Vestel BZP-XL3402W, Türkiye
Otomatik Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300µ)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus
Cerrahi set	F.S.T. Germany
Otoklav Wac47	DAIHAN, Güney Kore
Dewar transport vessels	LLG, Germany
Kafes	Tecniplast, Italy

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmamız, 10 deney grubu ve 1 kontrol grubu olmak üzere 11 gruptan oluşturuldu. Her bir grupta 10 adet rat olmak üzere toplamda 110 adet dişi rat kullanıldı. Deney grupları aşağıdaki gibi planlandı.

Grup I: Sağlıklı

Grup II: Kırık + Osteomyelit

Grup III: Kırık + Osteomyelit + Sistemik Antibiyotik

Grup IV: Kırık + Osteomyelit + %0 BN (%100 HA)

Grup V: Kırık + Osteomyelit + %0 BN + Sistemik Antibiyotik

Grup VI: Kırık + Osteomyelit + %2 BN (%98 HA)

Grup VII: Kırık + Osteomyelit + %2 BN + Sistemik Antibiyotik

Grup VIII: Kırık + Osteomyelit + %10 BN (%90 HA)

Grup IX: Kırık + Osteomyelit + %10 BN + Sistemik Antibiyotik

Grup X: Kırık + Osteomyelit + %25 BN (%75 HA)

Grup XI: Kırık + Osteomyelit + %25 BN + Sistemik Antibiyotik

Deney grupları yukarıdaki biçimde oluşturulduktan sonra deney hayvanları anestezi altındayken sağ femur bölgesi tıraşlanarak povidon iyot sürüldü. Daha sonra femur hattı üstünde 2 cm uzunluğunda longitudinal cilt insizyonu yapıldı. Femur etrafındaki kaslar disseke edildi. Femur shaftı ortaya çıkarıldı. Femur yüksek hızlı ortopedik kemik kesme testeresi ile kesildi. Kemiğin medüller kanalının içine 1 ml sinde 10^7 CFU S.aureus (ATCC-MSSA 29213) bulunan önceden hazırladığımız 10 µl bakteri enjeksiyonu yapıldı. Daha sonra kemik içine medüller kanala her grup için belirtilen dozlarda borla kaplı K telleri yerleştirilerek femur tekrar bir bütün haline getirildi. Kanama kontrolü ve defekt hattında stabilitenin kontrolü yapıldıktan sonra 4/0 Wicril ile

kas fasyası, 4/0 keskin ipek sütür ile de cilt kapaması yapıldı. Ratlar operasyon sonrası uygun ortamda barındırıldı. İlk 2 gün 25 mg/kg dozunda metamizol sodyum günde 2 kez verilerek analjezi sağlandı. Bir hafta boyunca her gün cerrahi bölge povidon iyot çözeltisi ile pansuman edildi.

Sistemik antibiyotik gruplarına günde iki kez 40 mg/kg dozunda sefazolin sodyum intramüsküler olarak verildi. 10., 20., 30. ve 40. günlerde hayvanlar radyografik analiz amacıyla direkt grafi ile değerlendirildi. Daha sonra 40. günün sonunda tüm hayvanlar intraperitoneal 50 mg/kg tiyopental sodyum ile ötenazi uygulanarak sakrifiye edildi. Her bir grupta bulunan 10 rattan çıkarılan femurların 5 tanesi histopatolojik çalışmalar için %10'luk nötral formaldehit çözeltisine konuldu. Moleküler çalışma için ayrılan femurlardan parça alınarak hemen deney sonrasında mikrobiyolojik inceleme için kullanıldı. Kalan diğer 5 femur ise moleküler çalışmalar için -80 C° dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. K Teli Kaplanması

Bu çalışmada kullanılan nano HA toz Nanotech İleri Teknoloji San. Tic. Ltd. Şti., Türkiye ve nano hegzagonal nano hBN BORTEK Bor Teknolojiler ve Mekatronik A.Ş., Türkiye'den temin edilmiştir. Süspansiyonlar %1 nano HA içerisine farklı oranlarda nano BN tozlarının etanol içerisinde dağıtılmasıyla hazırlanmıştır. Süspansiyon içerisinde nano BN %0, %2, %10 ve %25 olacak şekilde kullanılmıştır. Elektroforetik biriktirme (EPD) yöntemi ile kaplama işlemi öncesinde süspansiyona N,N-dimethylformamide ilave edilmiştir. Süspansiyonların pH'ı HNO₃ ile 4'e ayarlanmıştır. DC güç kaynağı kullanılarak 100V'da 4 saniye süre ile çelik çubuklar üzerine kaplama işlemi yapılmıştır. Kaplama işlemi sonrasında numuneler kurutulmuş ve 800 °C'de Ar atmosferinde 2 saat ısıtma işlemi yapılmıştır.

3.2.3. Kaplama Karakterizasyonu

Nanokompozit kaplamalar yapısal ve morfolojik olarak karakterize edilmiştir. Yapısal karakterizasyonda Raman Spektroskopisi tekniği kullanılırken, morfolojik incelemede ise Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X ışını Spektroskopisi (EDS) tekniklerinden yararlanılmıştır.

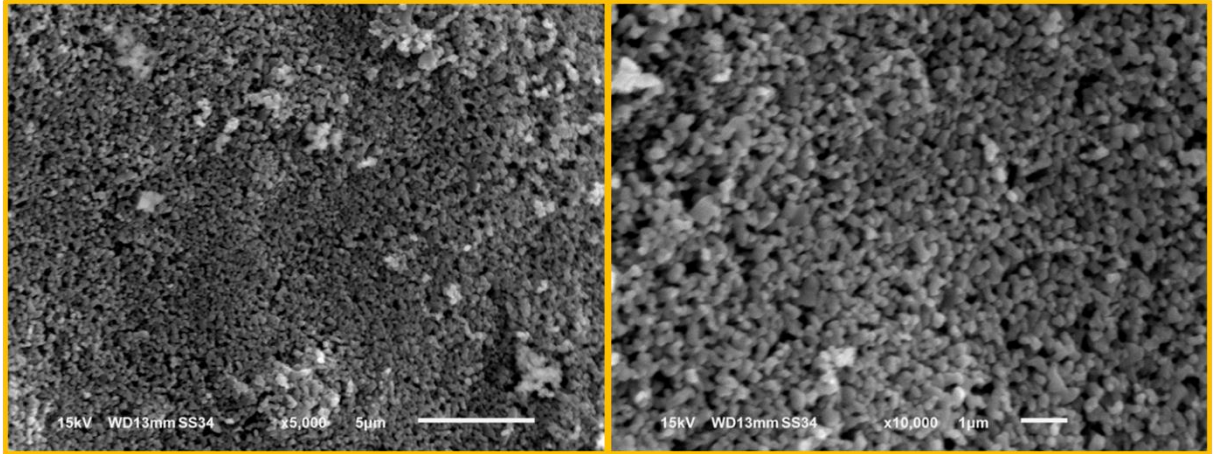
3.2.4. Raman Spektroskopisi ile Yapısal Karakterizasyon

Raman spektroskopisi, molekül ve kristal örgülerdeki bağlı atomların elektron bulutlarının, gelen ışıkla etkileşerek titreşmesi sonucunda meydana gelen Raman saçılma sürecine dayanmaktadır. Raman spektrumundan organik ve inorganik maddelerin bağları hakkında kalitatif ve kantitatif bilgilerin yanı sıra madde veya malzeme yapısını meydana getiren ilgili fonksiyonel gruplar hakkında da bilgi edinilebilmektedir. Raman spektroskopisi analizlerinde Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan, 532 nm yeşil lazer eklentisine sahip Renishaw Raman InVia cihazı kullanılmıştır.

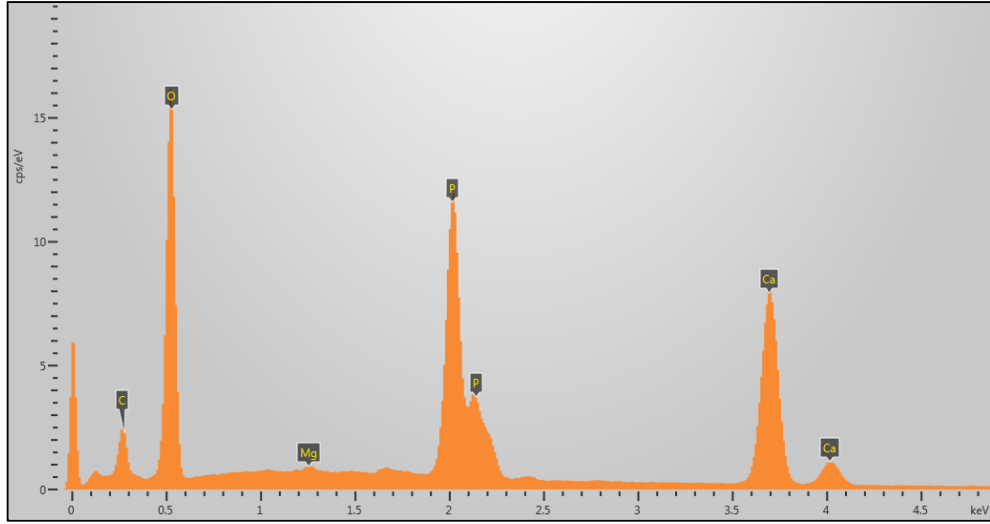
3.2.5. Morfolojik Karakterizasyon

Taramalı Elektron Mikroskobunda görüntüyü yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilir. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir. Gerek ayırım gücü (resolution), gerek odak derinliği (depth of focus) gerekse görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği, taramalı elektron mikroskobunun kullanım alanını genişletmektedir. Elektron mikroskobu ile birlikte kullanılan X-ışını Spektrometresi, ^4Be , ^{92}U aralığındaki elementlerin K-L serileri

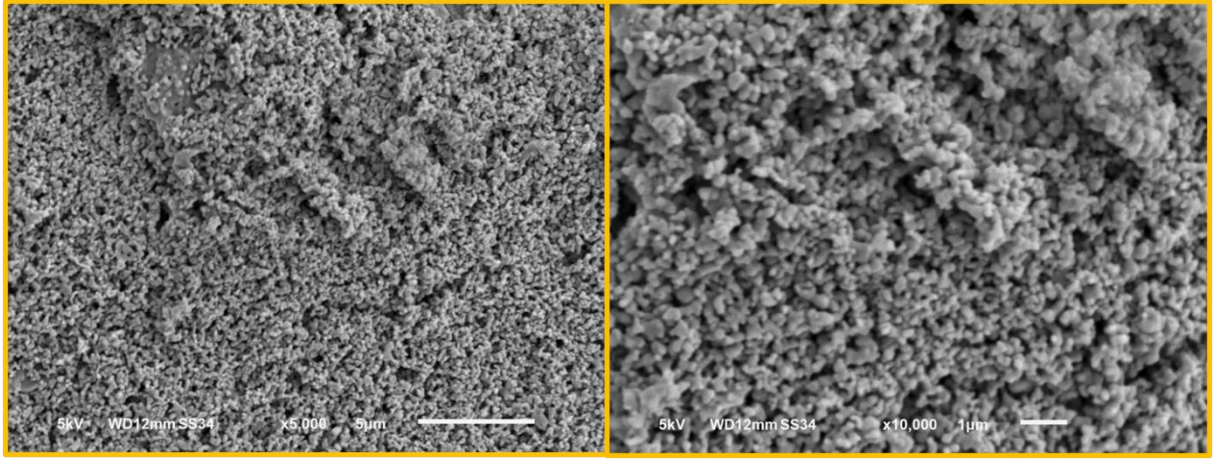
arasında analiz yapmak için gerekli dalga boyu aralığını kapsar. SEM-EDS analizlerinde Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan SEM (JEOL JSM 6010) - EDS (Oxford Instruments) cihazları kullanılmıştır. Numunelerin yüzeyi iletken olmadığından elektron mikroskopi incelemeleri esnasında yüzeylerin yüklenmemesi için örnekler Pt/Pd ile kaplanmıştır. İkincil elektron SEM görüntülerinden de anlaşılacağı üzere, kaplama yüzeyleri homojen olup, kısmen küresel aglomerasyonlar şeklindedir. Kaplamaların yapısal elementel analizinde B ve N; EDS spektrumlarında tespit edilmiştir. Spektrumlarda yer alan C ve Fe, çelik altlıktan kaynaklanmaktadır. Ayrıca spektrumlarda eser miktarda yer alan Mg; kontaminasyona sebep olmayıp, biyoaktiviteyi artıran bir elementtir.



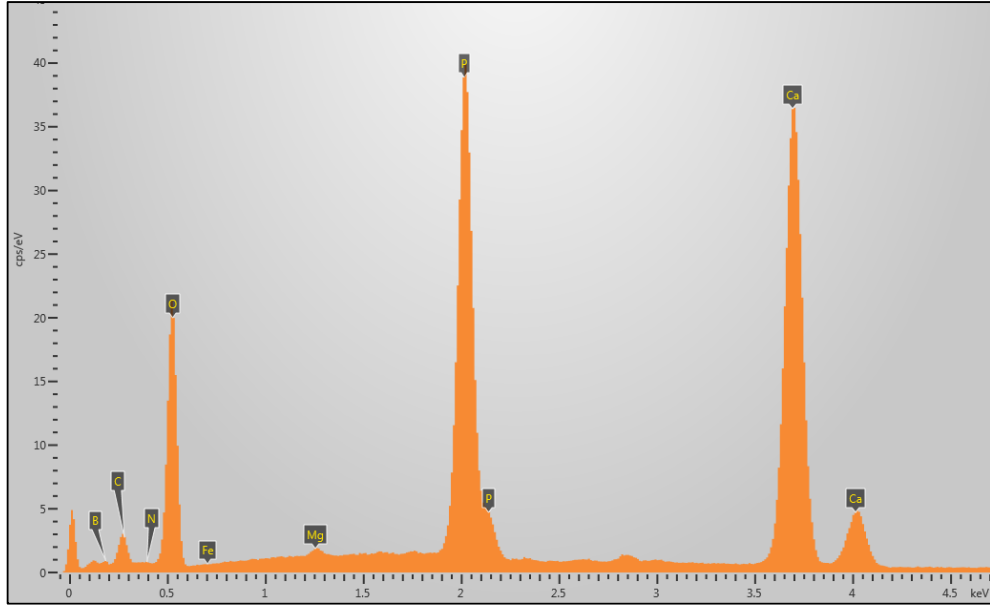
Şekil 3.1. %0 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri



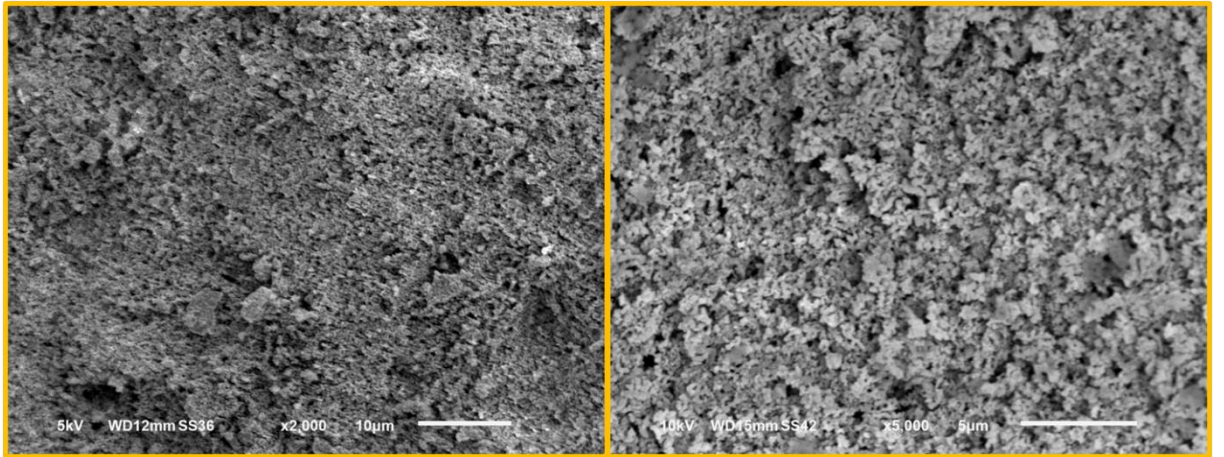
Şekil 3.2. %0 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu



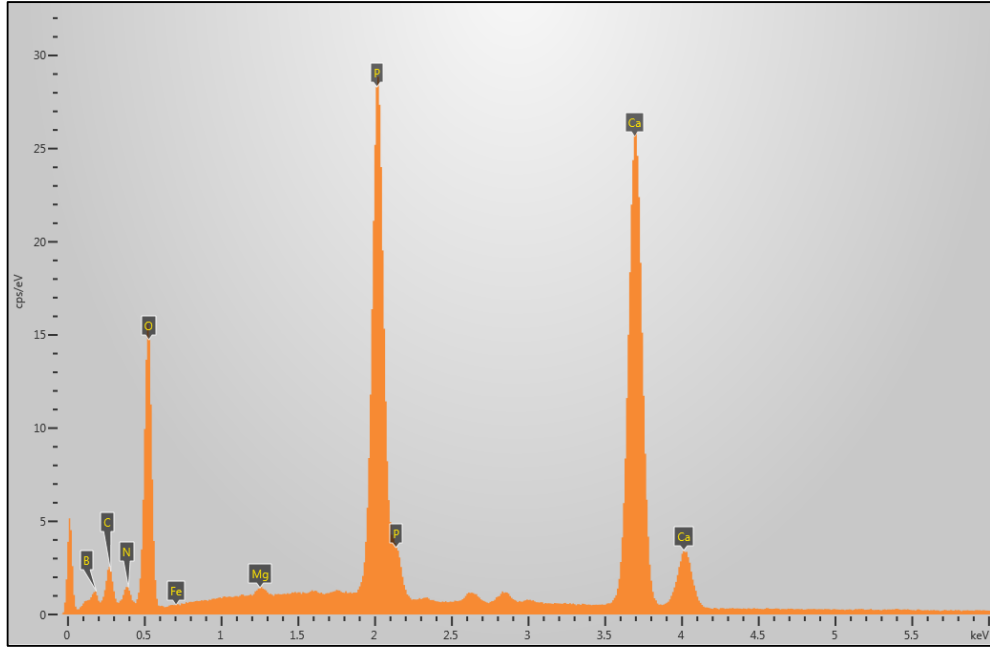
Şekil 3.3. %2 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri



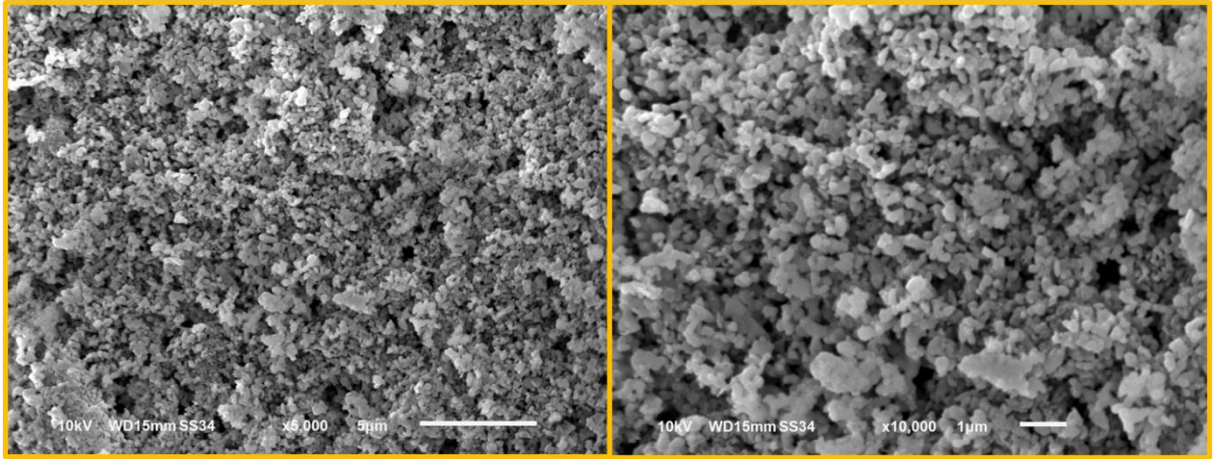
Şekil 3.4. %2 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu



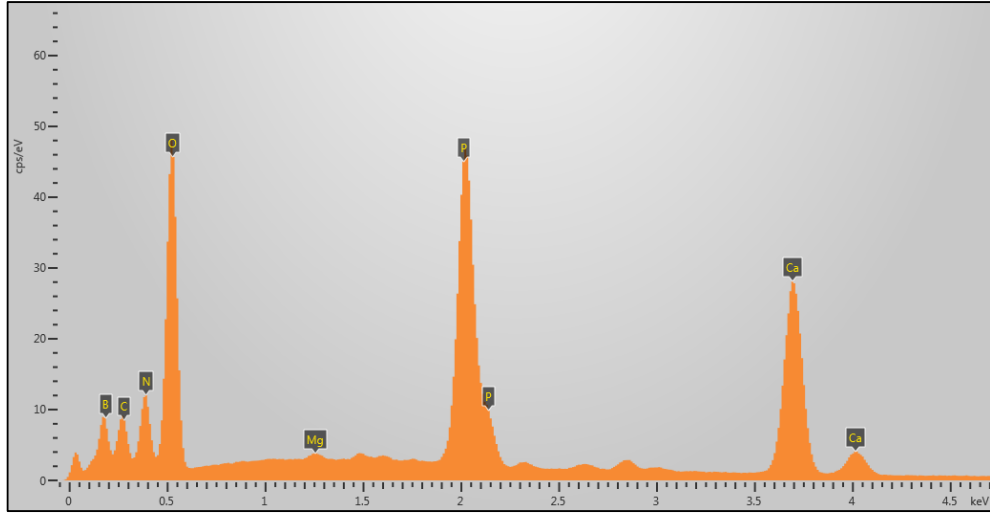
Şekil 3.5. %10 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri



Şekil 3.6. %10 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu



Şekil 3.7. %25 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait ikincil elektron SEM görüntüleri



Şekil 3.8. %25 BN içeren HA kaplama yüzeyine ait EDS spektrumu

3.2.5. Histopatolojik Analizler

3.2.5.1. Rutin Histolojik Analiz

Fiksatif içinde bulunan sert doku örnekleri %10'luk nitrik asit içerisinde atıldı. Her gün solüsyon değiştirilerek, iğne yardımıyla doku yumuşaması takip edildi. 2-10 günlük süre boyunca dokularda dekalsifikasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra bir gece boyunca yıkamaya alınan dokulara devamında artan alkol serilerinde dehidratasyon, ksilende şeffaflştırma ve parafinde infiltrasyon işlemleri yapılarak bloklar haline getirildi.

3.2.5.2. Leica TP 1050 Cihazı Takip Basamakları

%10' luk tamponlanmış formalin (1 saat 15 dakika), %70' lik alkol (1 saat), %80'lik alkol (1 saat), %90'luk alkol (1 saat), saf alkol (1 saat), saf alkol (1 saat), saf alkol (1 saat 15 dakika), ksilol (1 saat), ksilol (1 saat), ksilol (1 saat 15 dakika), parafin (1 saat), parafin (1 saat), parafin (1 saat 15 dakika) şeklindedir.

Cihaz, formalin, alkol, ksilen basamaklarında 40 °C'de, parafin basamağında 65 °C'de çalışmaktadır. Takip sonrası elde edilen dokular, Leica EG1160 bloklama cihazında 67 °C sıcaklıkta eriyik parafin ile bloklandı. Bloklanan dokular -4 °C'de

soğutuldu. Leica RM 2145 mikrotom cihazı ile her bir bloktan 5'er mikron kalınlığında 2'şer kesit su banyosuna alındı. Bu 2 kesitin bir tanesi HE için normal lama, diğeri immunohistokimya için polilizinli şarjlı lama alındı. Rutin histopatolojik inceleme için lam üzerine alınan kesitler, 30 dakika, 70 °C sıcaklıkta, EN 055 standardındaki etüvde deparafinize edildikten sonra; 10 dakika ksilolde bekletildi.

Leica Autostainer XL otomatik boyama ve kapama cihazında H&E boyaması otomatik prosedür ile yapıldı. Prosedür; ksilol (2 basamak) - absöü etil alkol (3 basamak) basamakları ardından yıkama safhasını takip ederek hematoksilin ile 5 dakika yıkama ve ardından asit alkole daldırıp çıkarma, tekrar yıkama, amonyak yıkama basamakları ardından eozin ve yıkama solüsyonuna daldırılıp çıkarma işlemleri ve absöü etil alkol (3 basamak), ksilol (2 basamak) şeklindedir.

Otomatik boyama ve kapama cihazında son basamak entellan damlatılarak kapatılması olup preparatların incelemeye hazır hale getirildi.

3.2.6. Moleküler Analizler

3.2.6.1. RNA İzolasyonu

Deney sonunda alınan femurlar kaslardan tamamen ayrılarak defekt bölgesi moleküler analizler için diseke edildi ve eppendorf tüp içerisine konuldu, tüm dokuyu kaplayacak şekilde RNA Later RNA Stabilization Reagent (QIAGEN) solüsyonu ilave edildi. Doku içerisine nüfuz etmesini sağlamak amacıyla 24 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 20 °C'de muhafaza edildi.

Dokular RNA Later içerisinden çıkartılarak çelik jarların içerisine konularak sıvı azot ile mikroskopik parçalama yapıldı. Soğuk zincir korunarak her gruptan 30 mg femur dokusu alınarak 600 µl Qiazol Buffer + 6 µl β-mercaptoethanol (β-ME) solüsyonu ile birlikte içerisinde 1 adet steril çelik bilye bulunan plastik tüplere konuldu ve Tissue Lyser II (Qiagen) homojenizasyon cihazı ile 5 dakika, 30 Hz olacak şekilde homojenize edildi.

Homojenizasyon işleminden sonra yeni bir eppendorf tüp içerisine alındı ve 3 dakika 13.000 RPM’de santrifüj edildi.

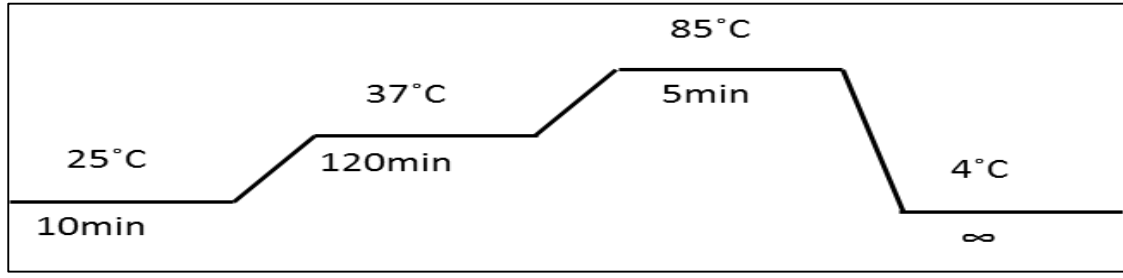
Santrifüjden sonra süpernatant yeni bir eppendorf tüpe alındı ve RNeasy Mini Kit (cat no: 74106)’in protokolüne göre total RNA izolasyonu QIAcube (QIAGEN) yapıldı. Eppendorf tüpü içerisinde elde edilen RNA -80 °C’de muhafaza edildi.

3.2.6.2. Reverse Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi

High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanımı ile total RNA’dan cDNA sentezi yapıldı. Her reaksiyon Tablo 3.2’de gösterildiği gibi toplam hacim 10µl RNA olacak şekilde hazırlandı ve cDNA sentezi Şekil 3.9.’deki sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano-drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile ölçüm belirlendi ve -20 °C’de saklandı.

Tablo 3.2. cDNA sentezi için kullanılan miks içeriği

PCR Master mix içeriği	Miks Miktar(µl)
10X Buffer RT	2
25 X dNTPs mix	0,8
10 X RT Random Primers	2
MultiScribe Reverse Transcriptase	1
DEPC-H₂O	4,2
RNA	10
Toplam	20,0



Şekil 3.9. Termal siklüs koşulları

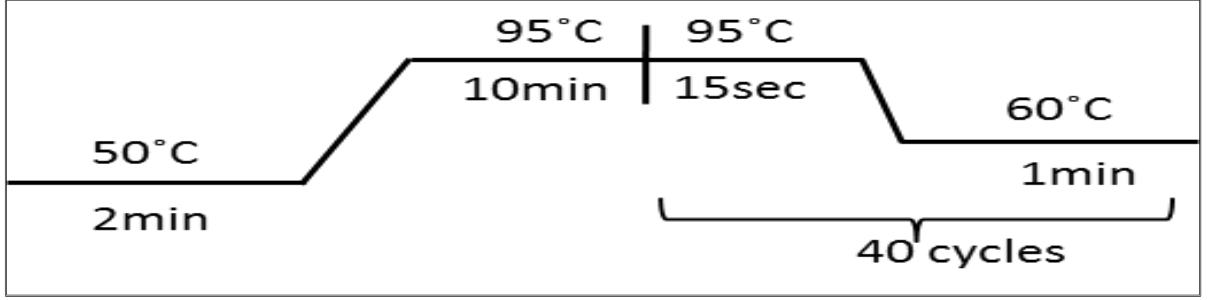
Tablo 3.3. Rölatif gen ekspresyonu primer/prob dizilimleri

ALP	İleri primer	CGCAACAACGCAATCTATGAC
	Geri primer	GGACAGCAATGGGGGTTCT
BMP-2	İleri primer	GTC CTT TTC CCC TGG CTG AT
	Geri primer	TCT AGG TAC AAC ATG GAG ATTGC
TNF-α	İleri primer	GCT CCC TCT CAT CAG TTC CA
	Geri primer	CTC CTC TGC TTG GTG GTT TG
ACTB	İleri primer	TGG TGG GTA TGG GTC AGA AG
	Geri primer	GAC AAT GCC GTG TTC AAT GG

3.2.6.3. Gerçek Zamanlı PCR Primerleri ve Çalışma Prensipleri

Rölatif TNF- α , Kemik morfojenik protein-2 (BMP-2) ve ALP mRNA ekspresyonları rat femur dokularında StepOne Plus Real Time PCR System technology (Applied Biosystem) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. TaqMan bazlı ilgili genlerin primer problemleri Primer Design Ltd. firmasında dizayn ettirilip temin edildi (Southampton, UK). İlgili gen sekanslar dizilimleri Tablo 3.3.'de verilmiştir. Sonuçlar kontrol grubuna göre kat-değişim (fold change) olarak değerlendirildi. Endojen kontrol gen olarak β -actin kullanıldı ve her bir cDNA örneği için üç tekrar uygulandı. Real Time PCR reaksiyonu 96 kuyucuklu plaklarda 9 μ l cDNA (100 ng), 1 μ l Primer Perfect Probe miksu ve 10 μ l QuantiTect Probe PCR Master miksu (Qiagen, Hilden, Germany) olacak şekilde toplam

reaksiyon volumü her bir kuyucukta 20 µl'ye tamamlandı. qPCR Hazırlanan reaksiyon plağı 2 dk 50°C, 10 dk 95 °C'de bir siklüs ve 15 sn 94 °C, 60 sn 60 °C'de 40 siklüs olacak şekilde yürütüldü (Şekil 3.10). Tüm veriler kontrol grubuyla karşılaştırmalı şekilde $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metoduna göre hesaplandı.¹¹⁷



Şekil 3.10. Gerçek zamanlı PCR reaksiyon ısı ve süreleri

3.2.7. Radyolojik Analizler

3.2.7.1. Direkt Radyografi

10., 20., 30. ve 40. günlerde çekilen direkt grafilerde ratların sağ femurları radyolojik olarak osteomyelit açısından aşağıda belirtilen An ve arkadaşlarının modifiye edilmiş kriterlerine göre değerlendirildi.¹¹⁸

An ve arkadaşlarının modifiye edilmiş radyolojik kronik osteomyelit kriterleri;

- 1- Periosteal reaksiyon
- 2- Osteolizis
- 3- Sekestrum formasyonu
- 4- Reaktif kemik oluşumu

3.2.8. Mikrobiyolojik Analizler

Her hayvandan aseptik şartlarda kemik örnekleri alınarak hassas terazide tartıldı ve kemikler steril havanda, mekanik olarak homojenize edildi. Homojenizasyonu takiben örnekler seri dilusyonlar yapılarak triptik soy agara yayıldı, 37 °C'de 24 saat inkubasyondan sonra bakteri sayısı kantitatif olarak saptandı.

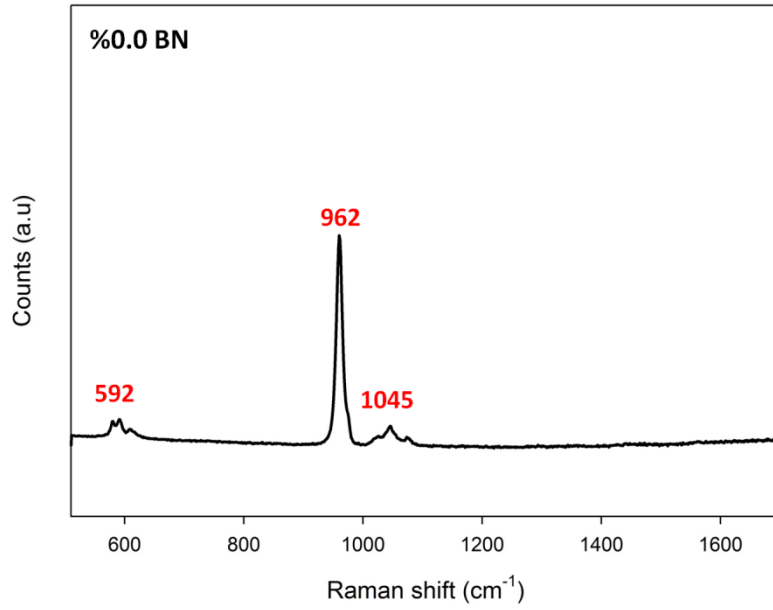
3.2.9. İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Elde edilen veriler “*SPSS Statistics 20*” programı kullanılarak analiz edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile ve post-hoc testlerinden “Duncan” tekniği kullanılarak belirlendi. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

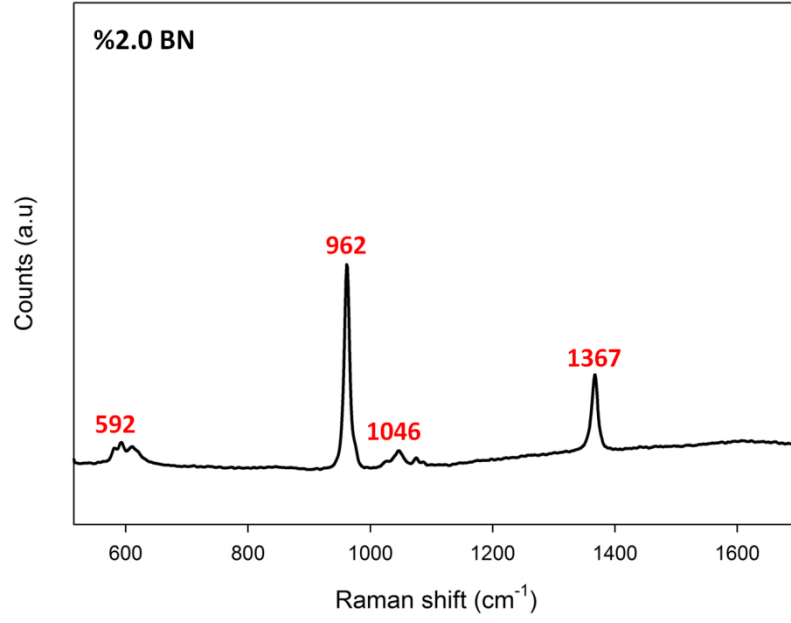
4. BULGULAR

4.1. Raman Spektroskopisi İle Yapısal Karakterizasyon Analizi

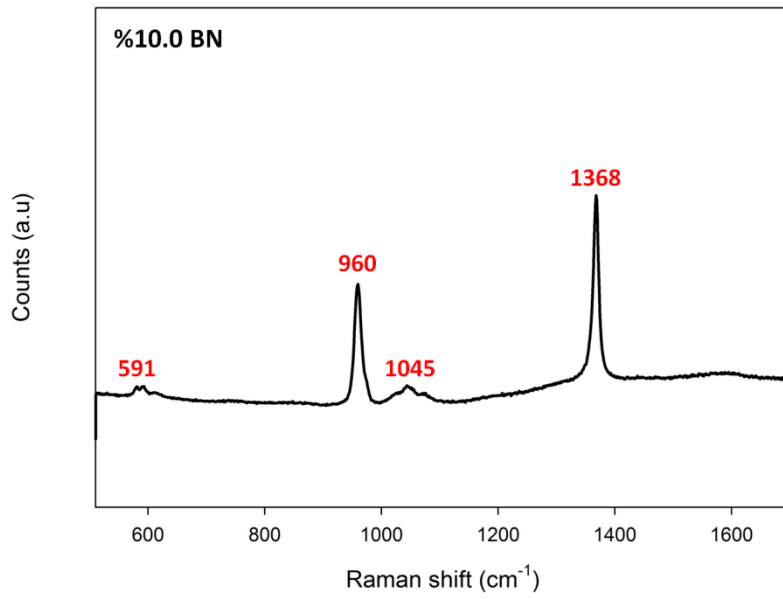
Şekil 4.1’de BN katkısız HA numunesine ait Raman spektrumu görülmektedir. Spektrumda 962 cm^{-1} ’de görülen karakteristik pik, tetrahedral PO_4 grubunun (P-O bağı) tamamen simetrik gerilme modundan (ν_1) kaynaklanmaktadır.¹¹⁹⁻¹²¹ PO_4 grubundaki üçlü dejenere (P-O-P bağı) bükülme modu (ν_4) spektrumumuzda 585 cm^{-1} ’de görülmektedir.¹²⁰⁻¹²² 1045 cm^{-1} ’de görülen orta şiddetteki pik, PO_4 grubunun (P-O bağı) üçlü dejenere asimetrik gerilme moduna (ν_3) aittir.¹²⁰⁻¹²³ Şekil 4.2, %2 BN içeren HA kaplamasına ait olup, spektrumda 1367 cm^{-1} ’de görülen pik ise, düzlem içerisindeki B-N E_{2g} titreşim moduna ait olup BN karakteristik pikidir.¹²⁴⁻¹²⁶ Aynı pik %10 BN (Şekil 4.3) ve %25 BN (Şekil 4.4) içeren kaplamalar da tespit edilmiştir. Böylece kaplamalarda hem hidroksiapatit hem de BN’nin varlığı yapısal olarak ispat edilmiştir.



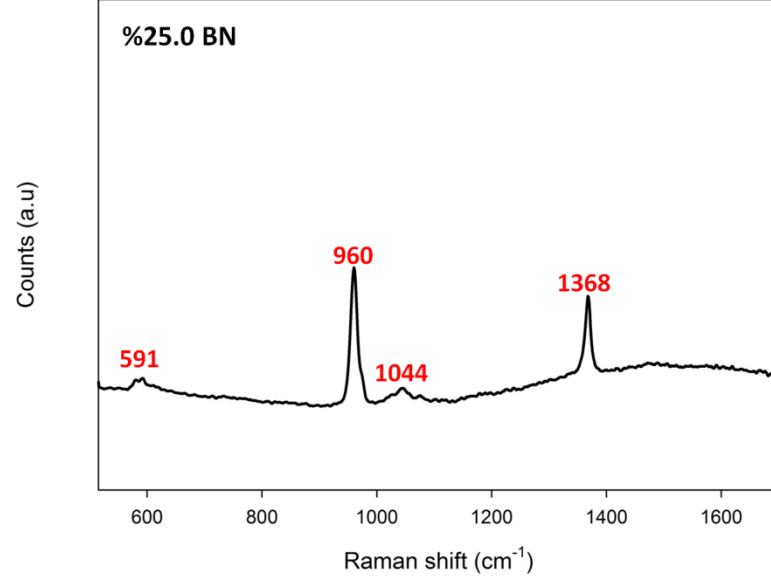
Şekil 4.1. %0 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu



Şekil 4.2. %2 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu



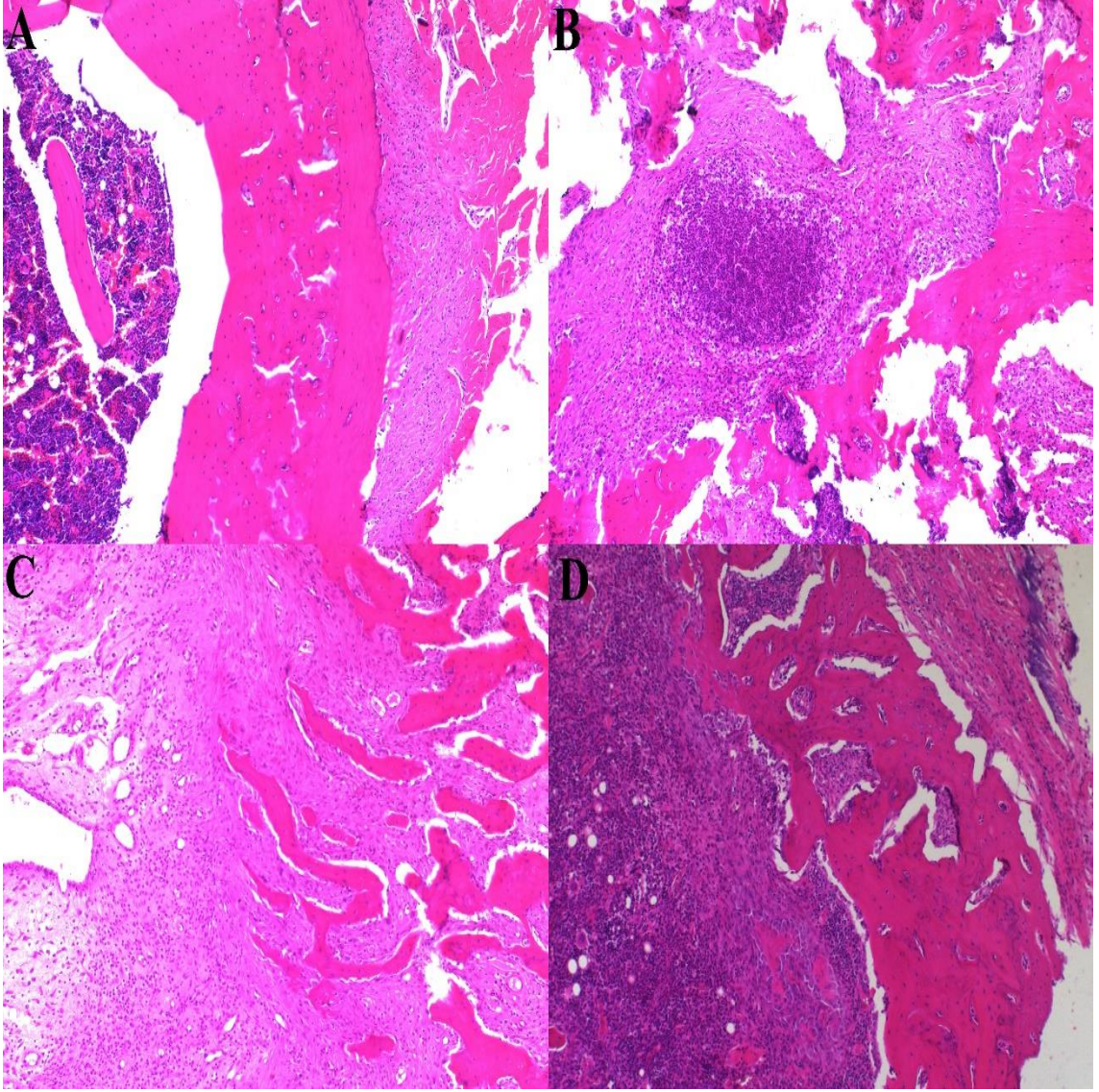
Şekil 4.3. %10 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu



Şekil 4.4. %25 BN içeren HA kaplamasına ait Raman spektrumu

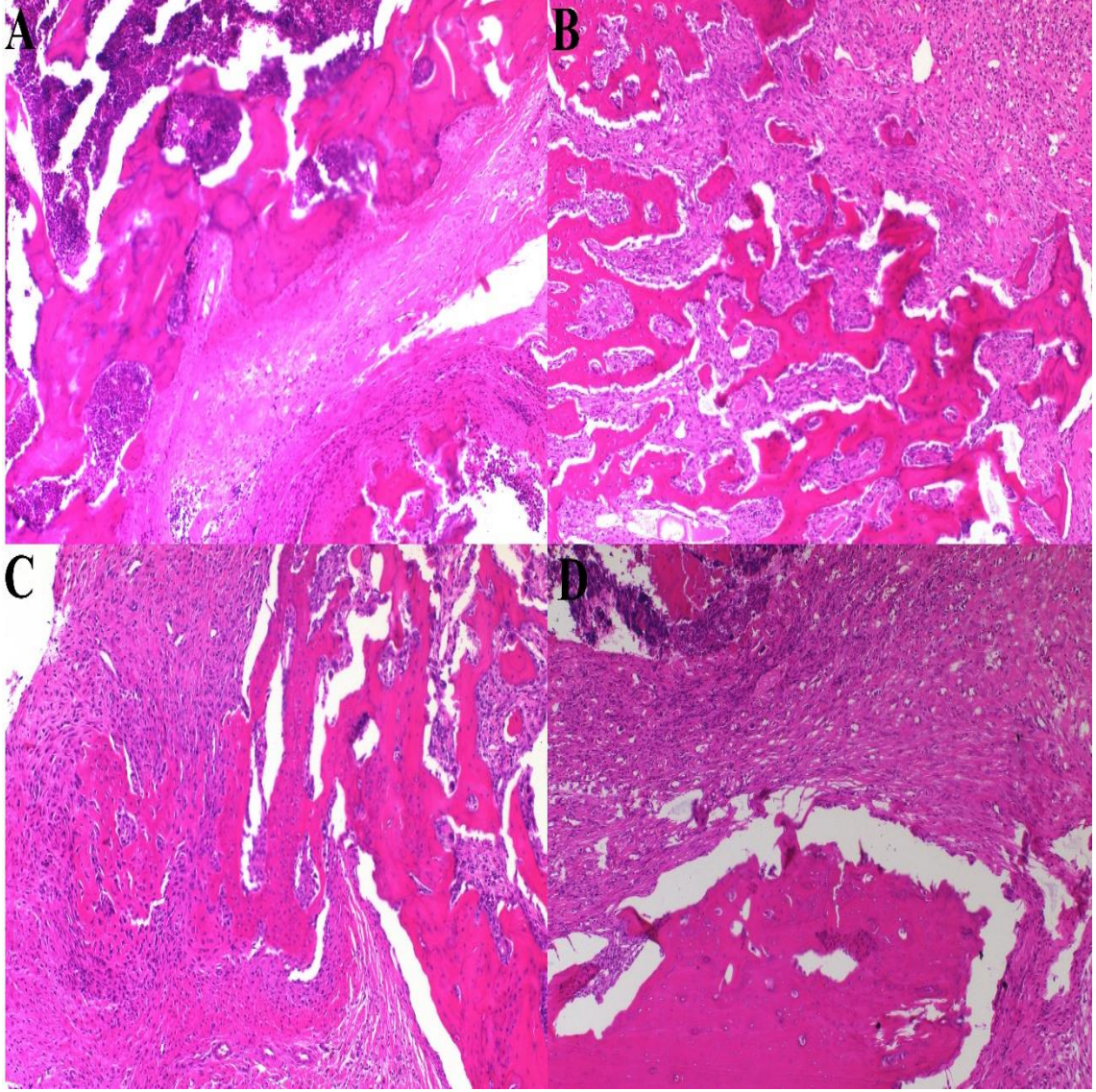
4.2. Histopatolojik Bulgular

Hematoksilen ve Eosin (H&E), boyama yapılan gruplar arasında inflamasyon (mononükleer hücre infiltrasyonu), reaktif kemik oluşumu, Masson Trikrom ile boyama yapılan gruplar arasında kollajenizasyon değerlendirilmiştir.



Şekil 4.5. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: H&E

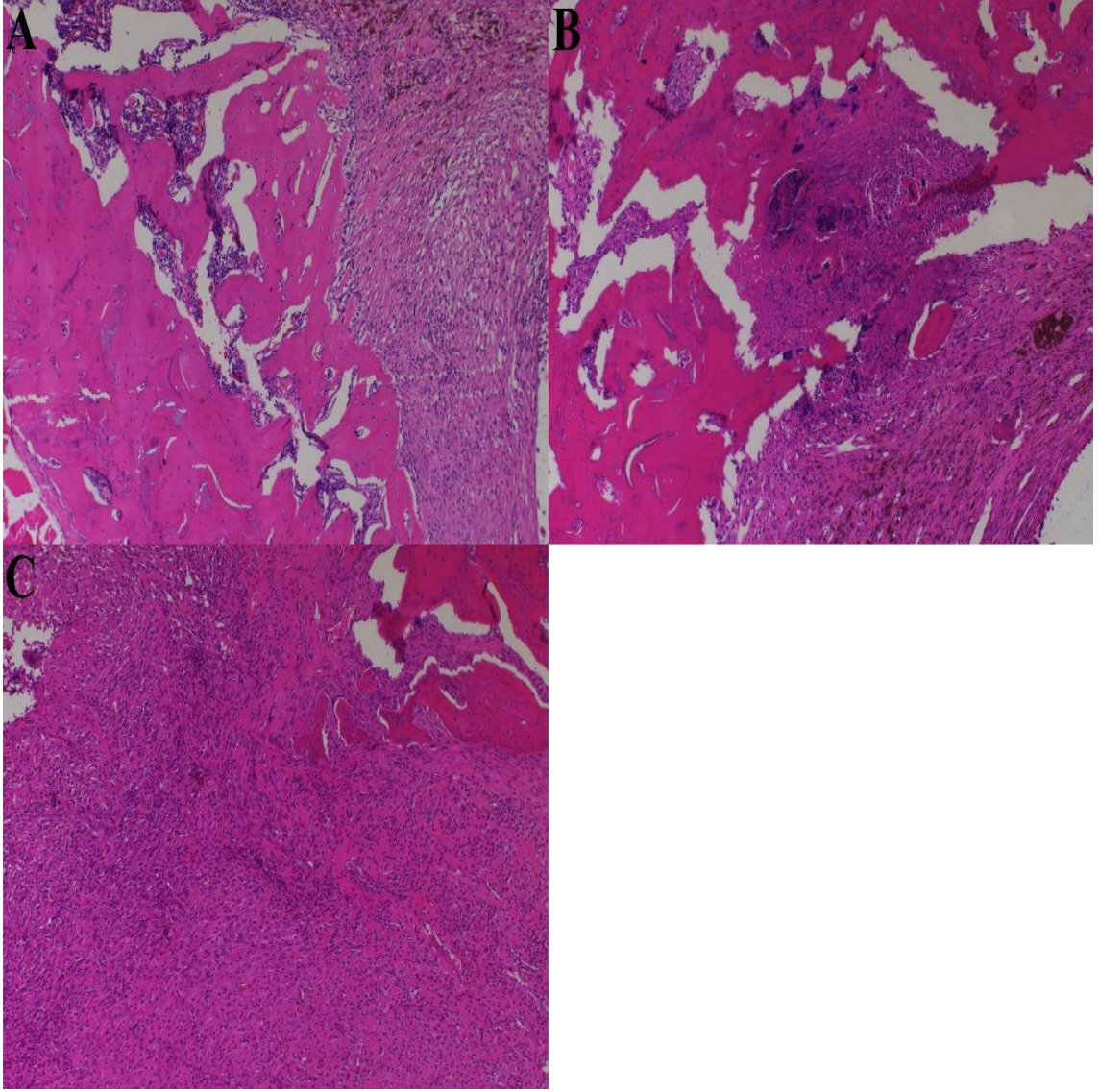
A: Sağlıklı B: Kırık+OM C: Kırık+OM+ANT D: Kırık+OM+0BN



Şekil 4.6. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: H&E

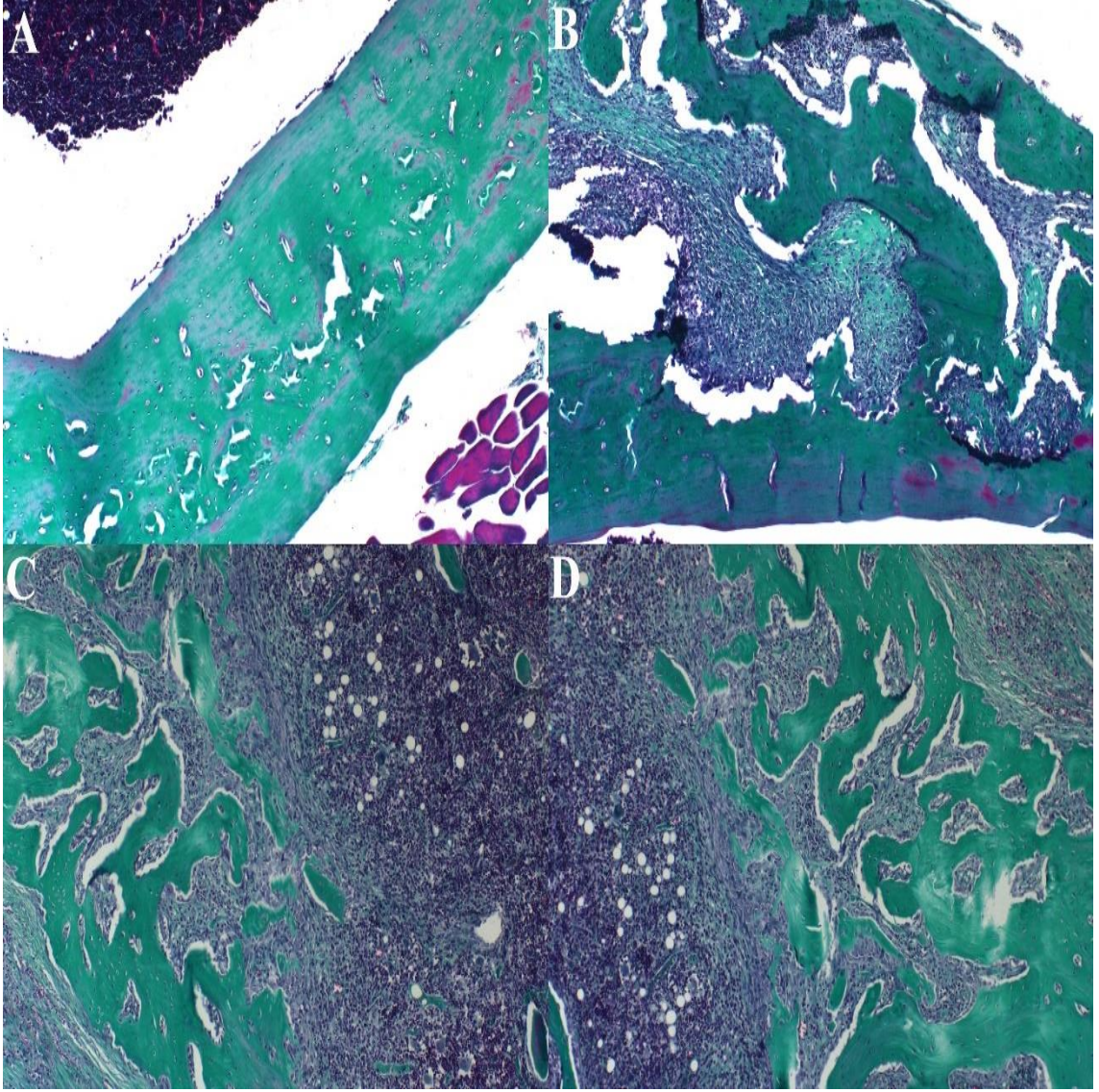
A: Kırık+OM+0BN+ANT B: Kırık+OM+2BN C: Kırık+OM+2BN+ANT

D: Kırık+OM+10BN

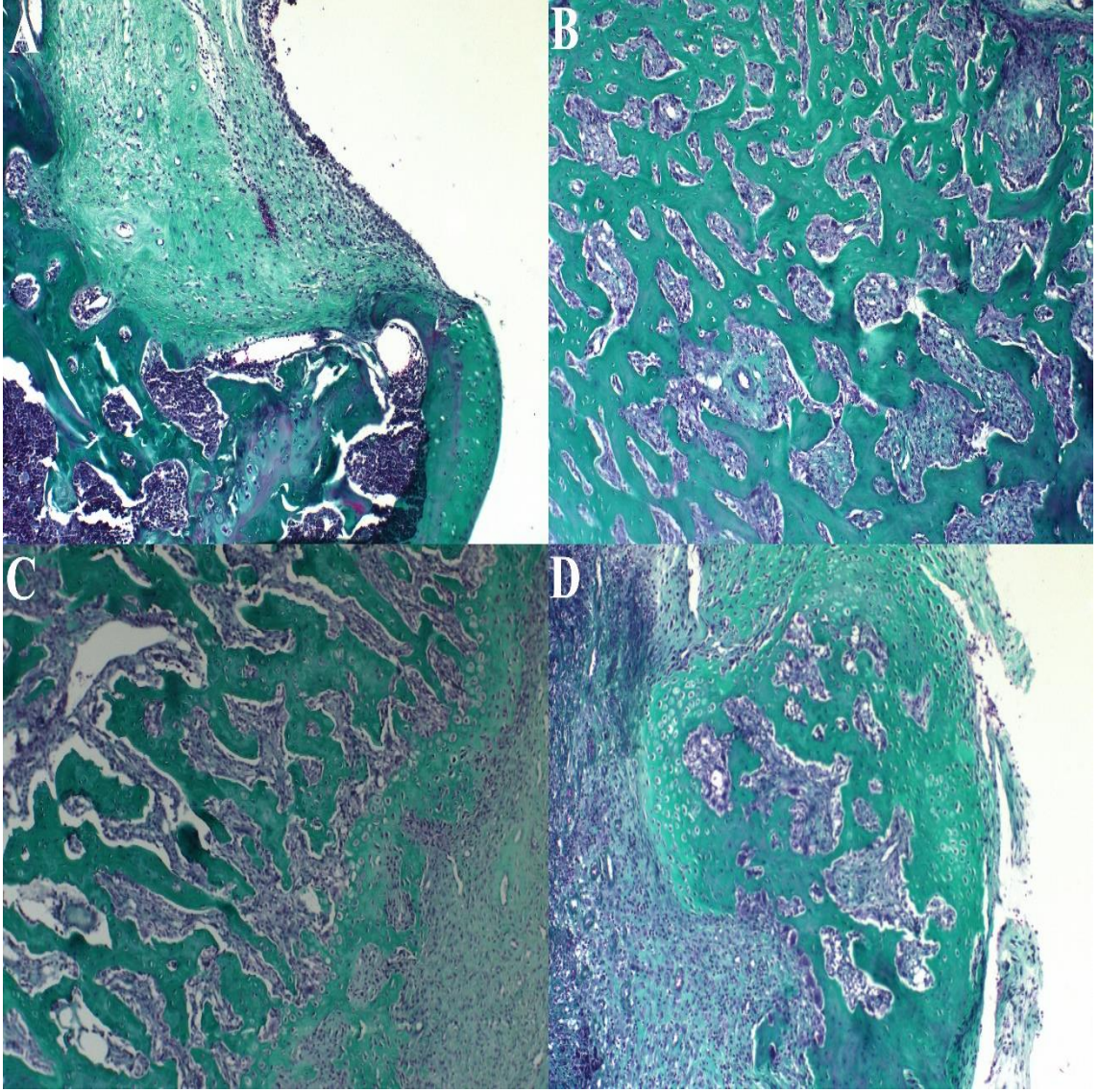


Şekil 4.7. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: H&E

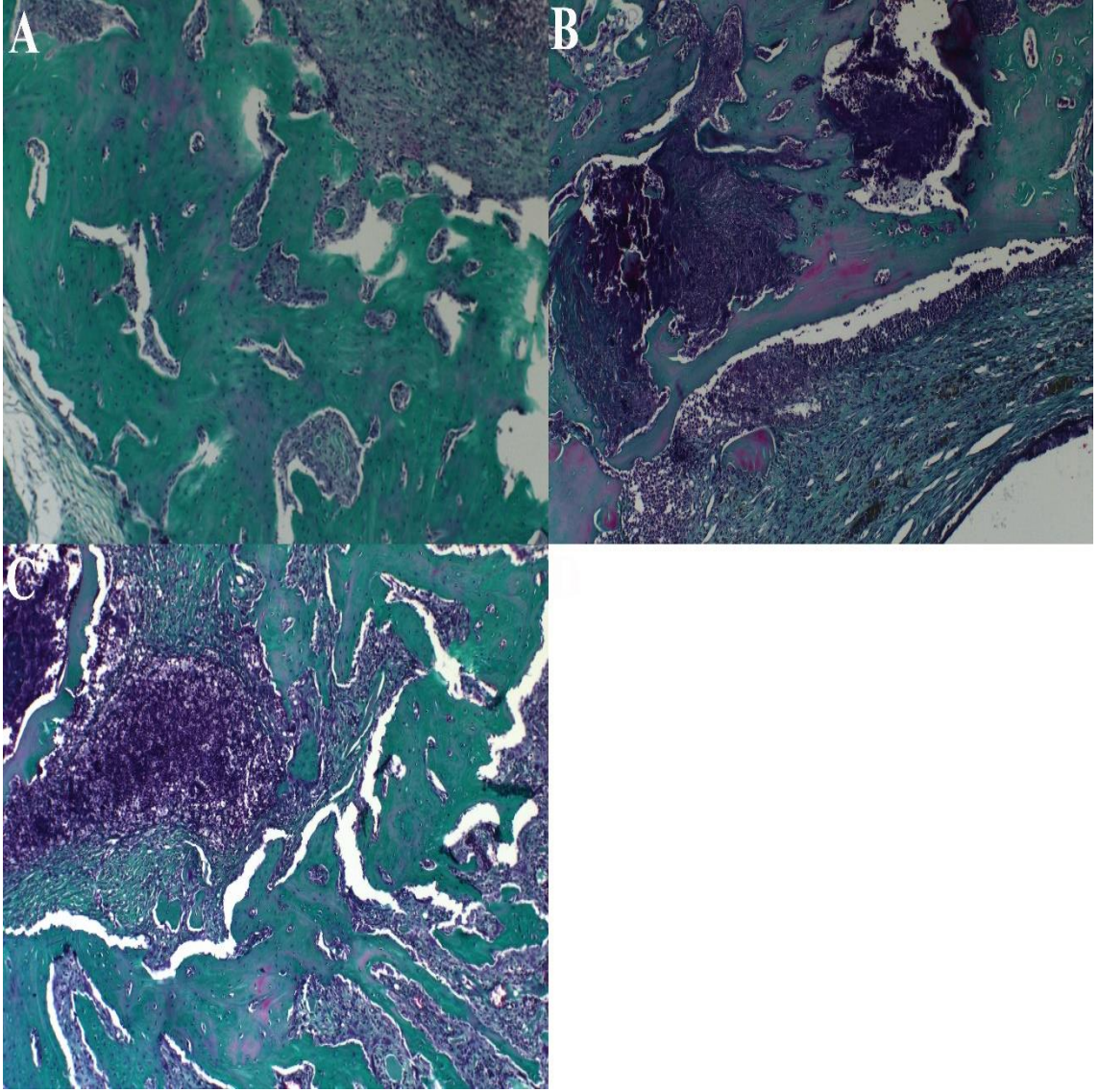
A: Kırık+OM+10BN+ANT B: Kırık+OM+25BN C: Kırık+OM+25BN+ANT



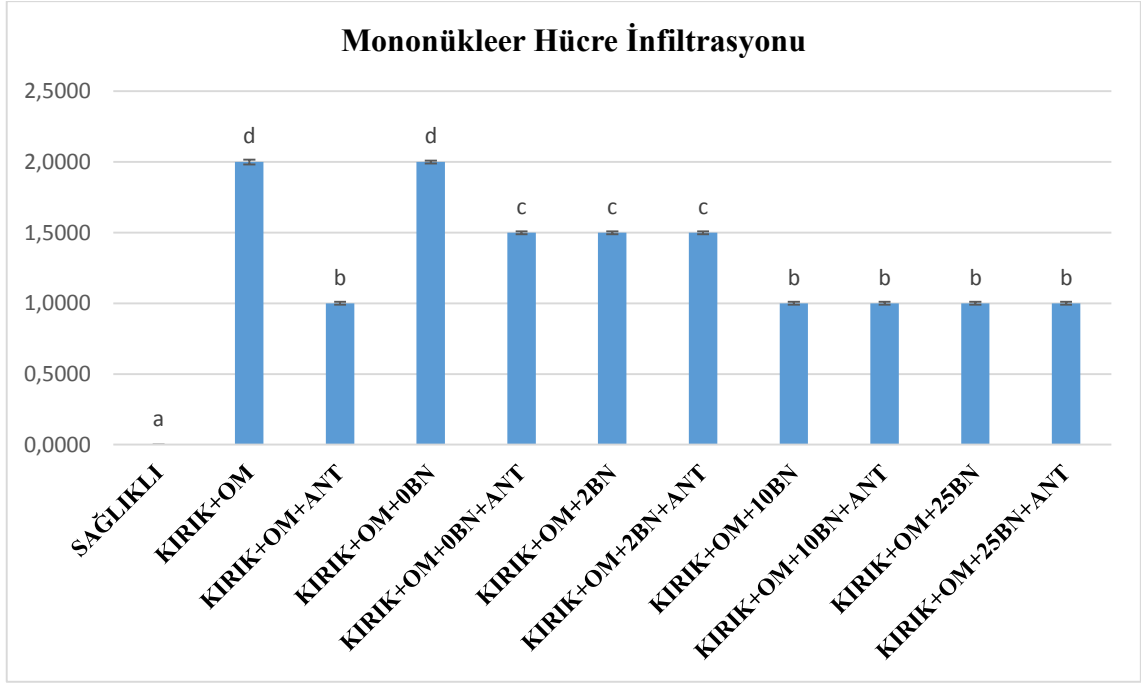
Şekil 4.8. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Masson Trikrom
A: Sağlıklı B: Kırık+OM C: Kırık+OM+ANT D: Kırık+OM+0BN



Şekil 4.9. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Masson Trikrom
A: Kırık+OM+0BN+ANT B: Kırık+OM+2BN C: Kırık+OM+2BN+ANT
D: Kırık+OM+10BN

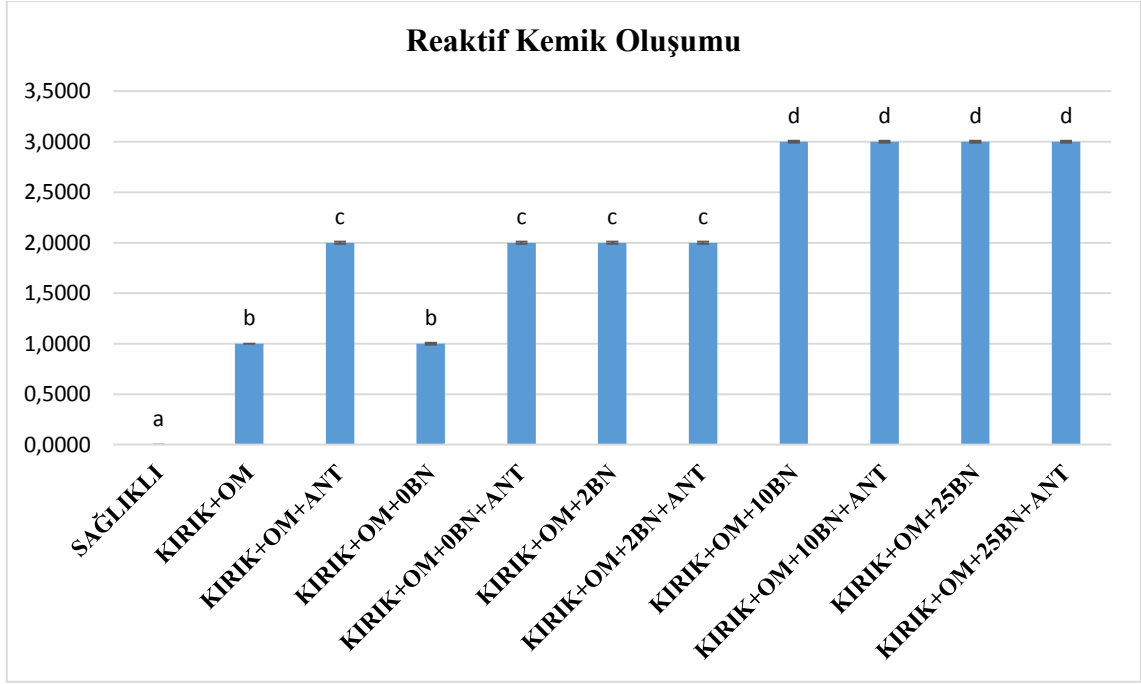


Şekil 4.10. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: Masson Trikrom
A: Kırık+OM+10BN+ANT B: Kırık+OM+25BN C: Kırık+OM+25BN+ANT



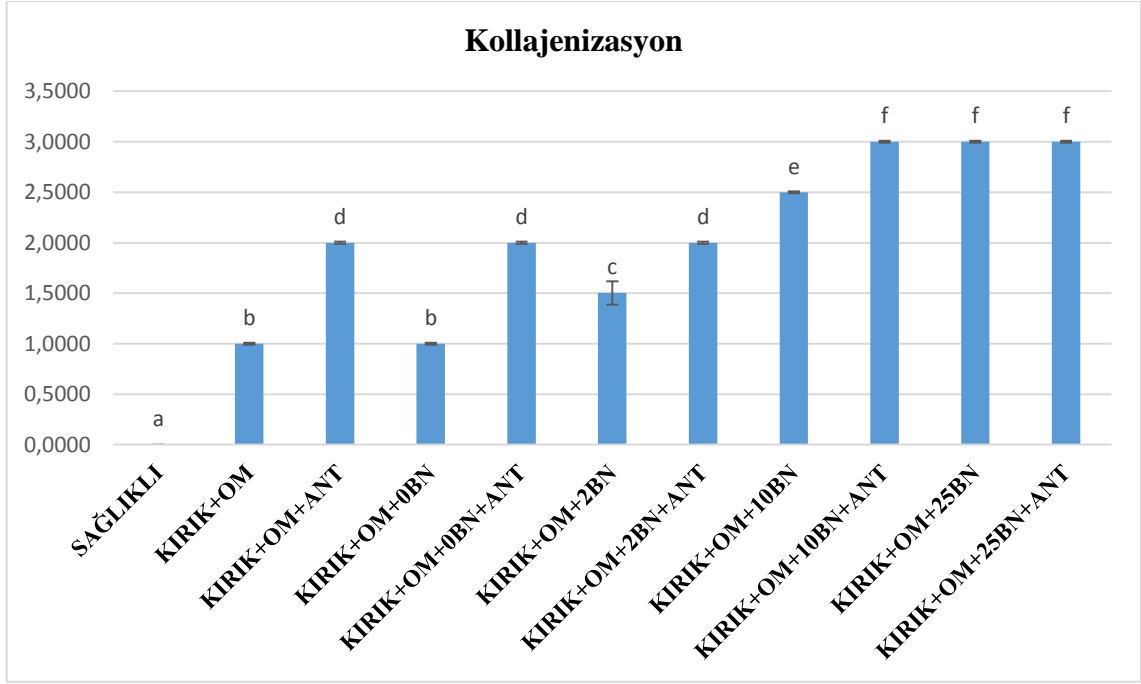
Şekil 4.11. Tüm grupların mononükleer hücre infiltrasyon skora bulguları.

Mononükleer hücre infiltrasyonuna baktığımız zaman en fazla artış Kırık+OM ve Kırık+OM+0BN gruplarında gözlenmiş olmakla diğer gruplarla kıyaslandığında bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kırık+OM+0BN+ANT, Kırık+OM+2BN ve Kırık+OM+2BN+ANT gruplarına baktığımızda bu artışın anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Kırık+OM+10BN ve Kırık+OM+25BN gruplarında ve bu grupların sistemik antibiyotik tedavisi eklenmiş gruplarında Kırık+OM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. (Şekil 4.11.) ($p < 0.05$)



Şekil 4.12. Tüm grupların reaktif kemik oluşumu skorumu bulguları.

Histopatolojik bulgularımızda reaktif kemik oluşumunu incelediğimizde Kırık+OM+ANT, Kırık+OM+0BN+ANT, Kırık+OM+2BN ve Kırık+OM+2BN+ANT gruplarında sağlıklı ve Kırık+OM gruplarına göre reaktif kemik oluşumu anlamlı olarak artmıştır ve bu grupların kendi aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. En fazla reaktif kemik oluşumu 10BN ve 25BN tedavi gruplarımızda ve bu grupların sistemik antibiyotik tedavisi eklenmiş gruplarında gözlenmiştir ve bu gruplardaki artış diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 4.12.) ($p < 0.05$)

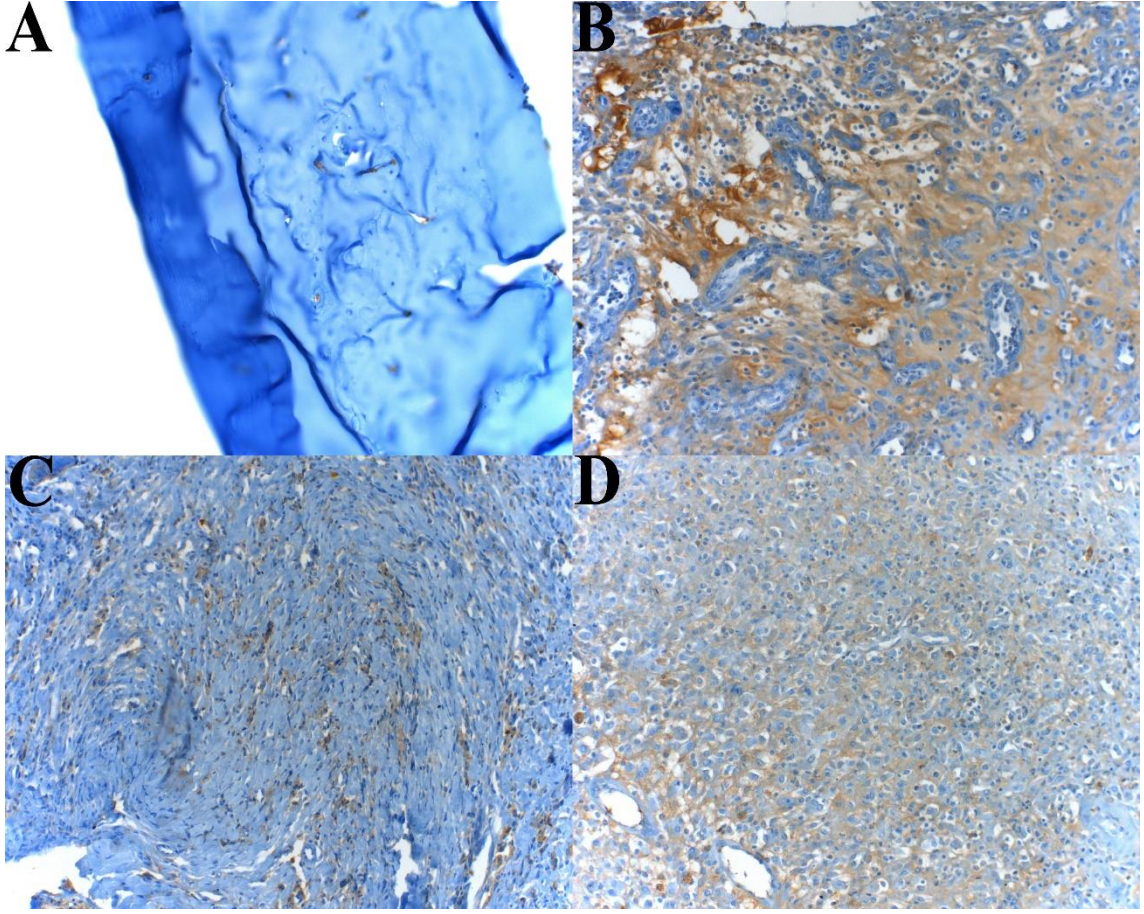


Şekil 4.13. Tüm grupların kollajenizasyon skorlama bulguları.

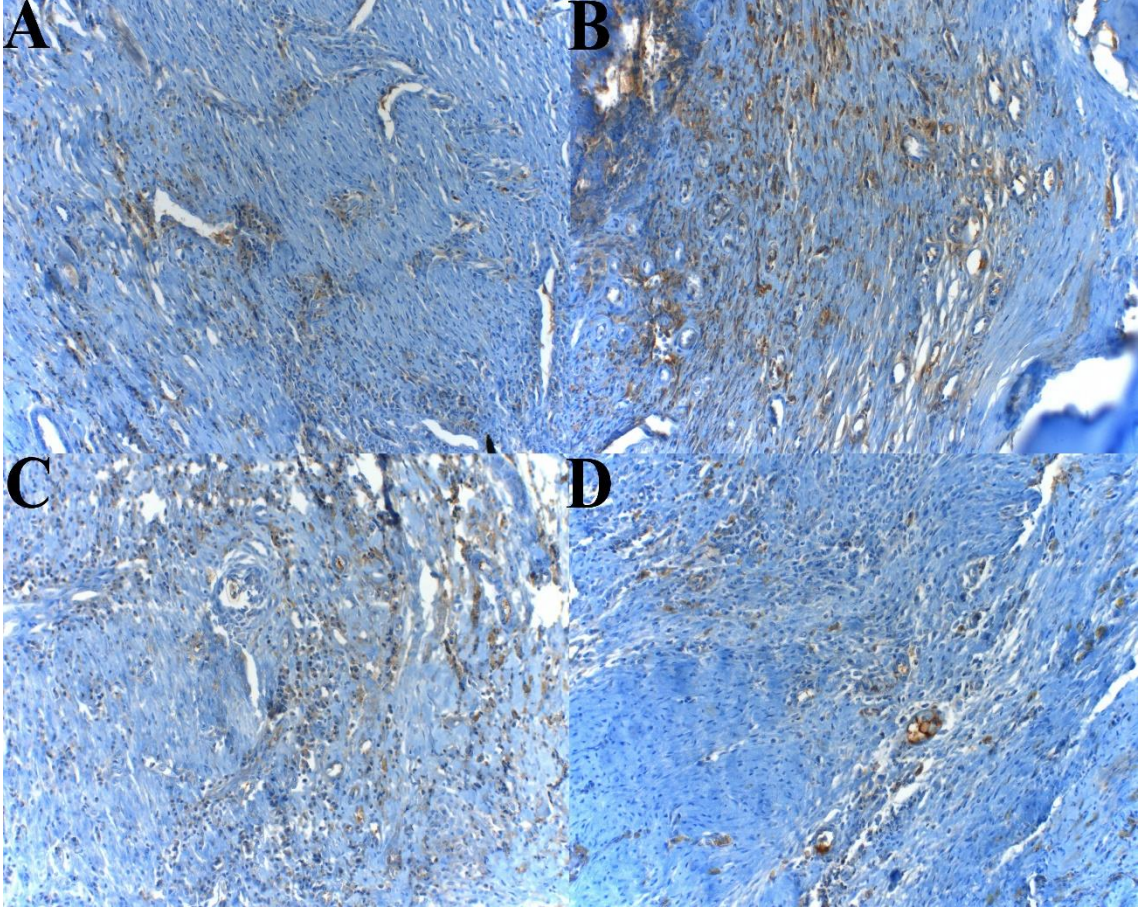
Histopatolojik olarak incelediğimiz son parametre olan kollajenizasyona baktığımız zaman kontrol grubumuzda ve bütün tedavi gruplarımızda sağlıklı grubumuza kıyasla kollajenizasyonda anlamlı bir artış olmuştur. Kırık+OM ve Kırık+OM+0BN grubumuz arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kırık+OM+ANT ve Kırık+OM+0BN+ANT gruplarında Kırık+OM grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir ve bu grupların kendi aralarında anlamlı bir fark yoktur. Kollajenizasyon en fazla Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+25BN ve Kırık+OM+25BN+ANT gruplarında gözlenirken bu grupların kendi aralarında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (Şekil 4.13.) ($p < 0.05$)

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

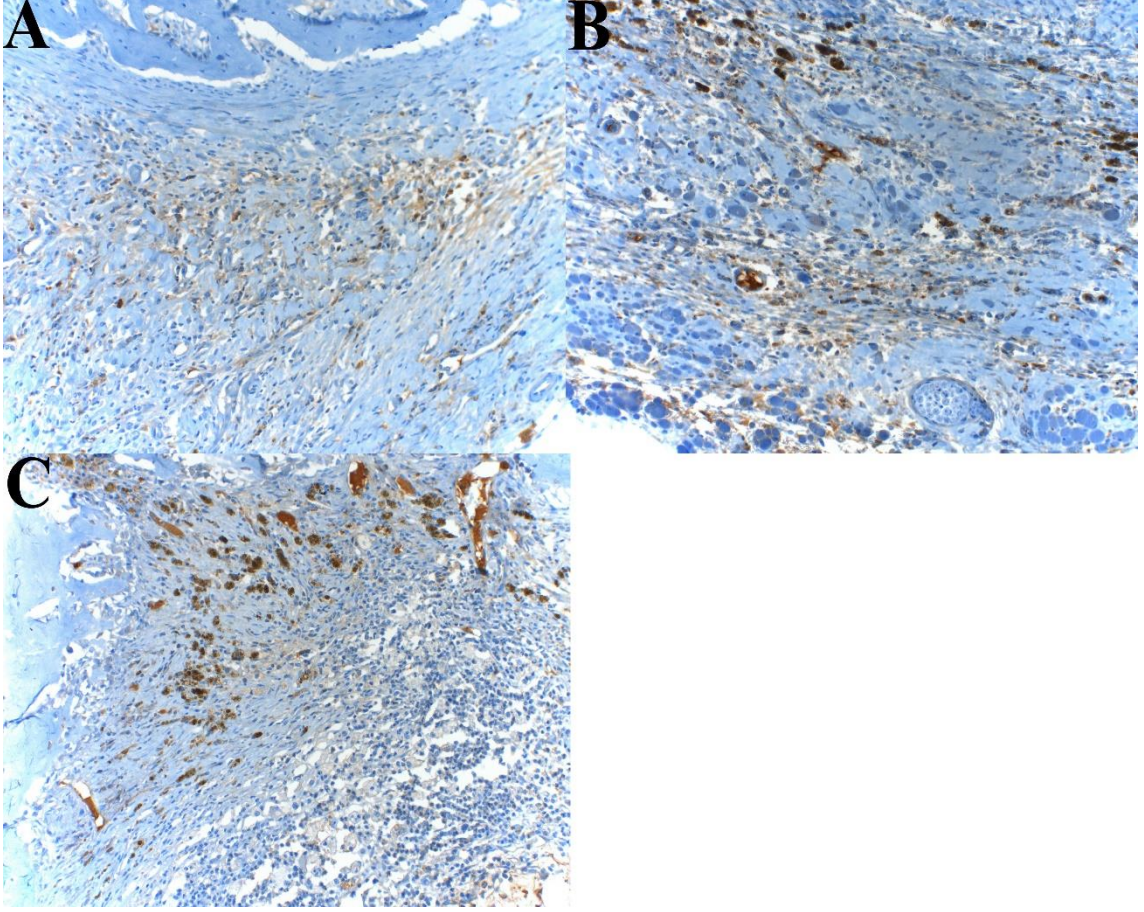
Alınan doku örneklerinden immünohistokimyasal boyama sonucunda TNF- α immünreaktivitesi incelendi.



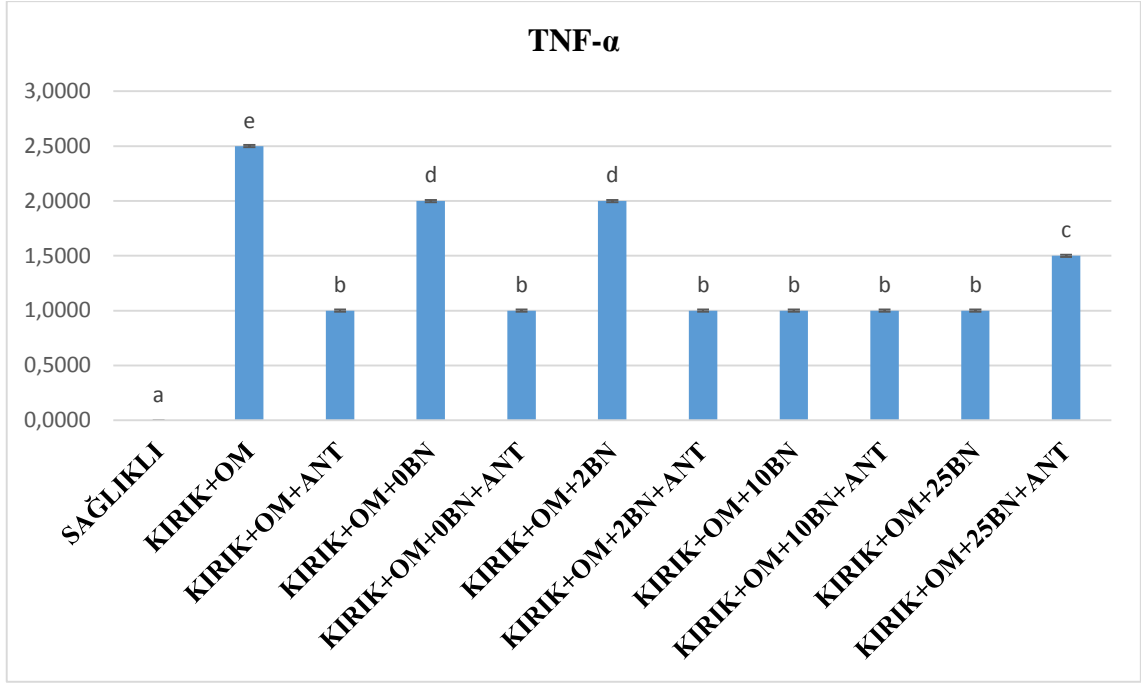
Şekil 4.14. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: TNF
A: Sağlıklı B: Kırık+OM C: Kırık+OM+ANT D: Kırık+OM+0BN



Şekil 4.15. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: TNF- α
A: Kırık+OM+0BN+ANT B: Kırık+OM+2BN C: Kırık+OM+2BN+ANT
D: Kırık+OM+10BN



Şekil 4.16. Rat femur kesit görüntüleri. Boya: TNF- α
A: Kırık+OM+10BN+ANT B: Kırık+OM+25BN C: Kırık+OM+25BN+ANT

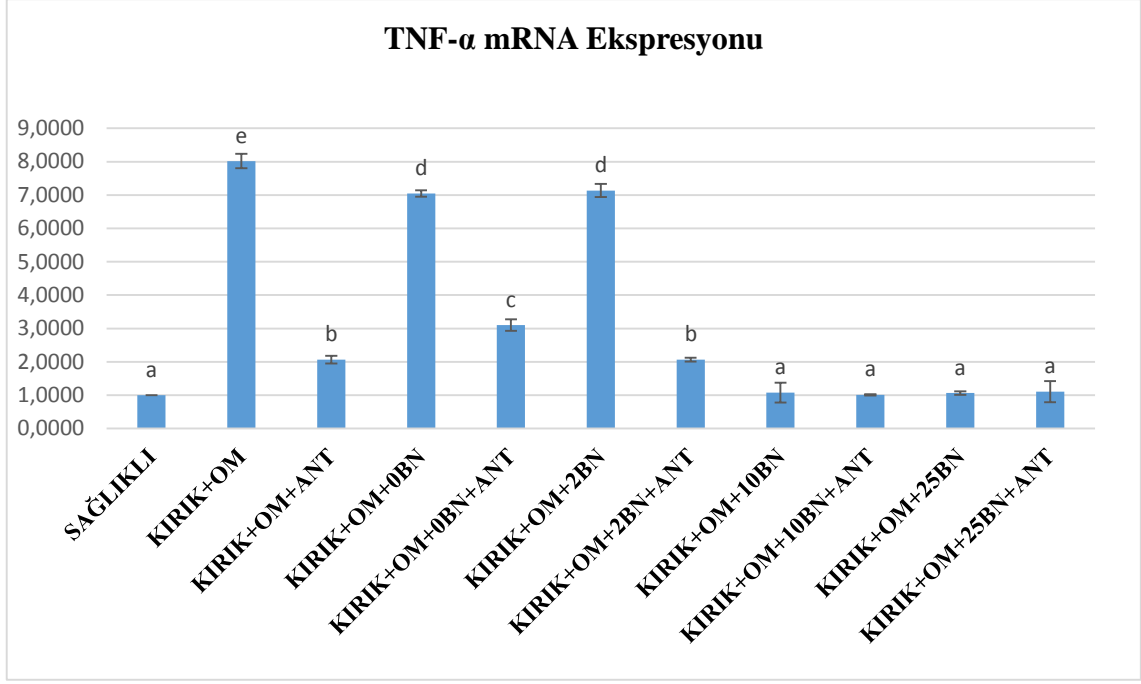


Şekil 4.17. İmmünohistokimyasal TNF- α boyama skorlama sonucu.

İmmünohistokimyasal boyama sonucunda elde edilen bulgulara göre tüm gruplardaki TNF- α immünreaktivitesi sağlıklı gruba göre anlamlı olarak artmıştır. Kırık+OM grubuna göre Kırık+OM+ANT grubunda immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Kırık+OM+ANT, Kırık+OM+0BN+ANT, Kırık+OM+2BN+ANT, Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+25BN gruplarımız arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken TNF- α immünreaktivitesi bu gruplarda Kırık+OM grubuna kıyasla anlamlı bir düşüş göstermiştir. (Şekil 4.17.) ($p < 0.05$)

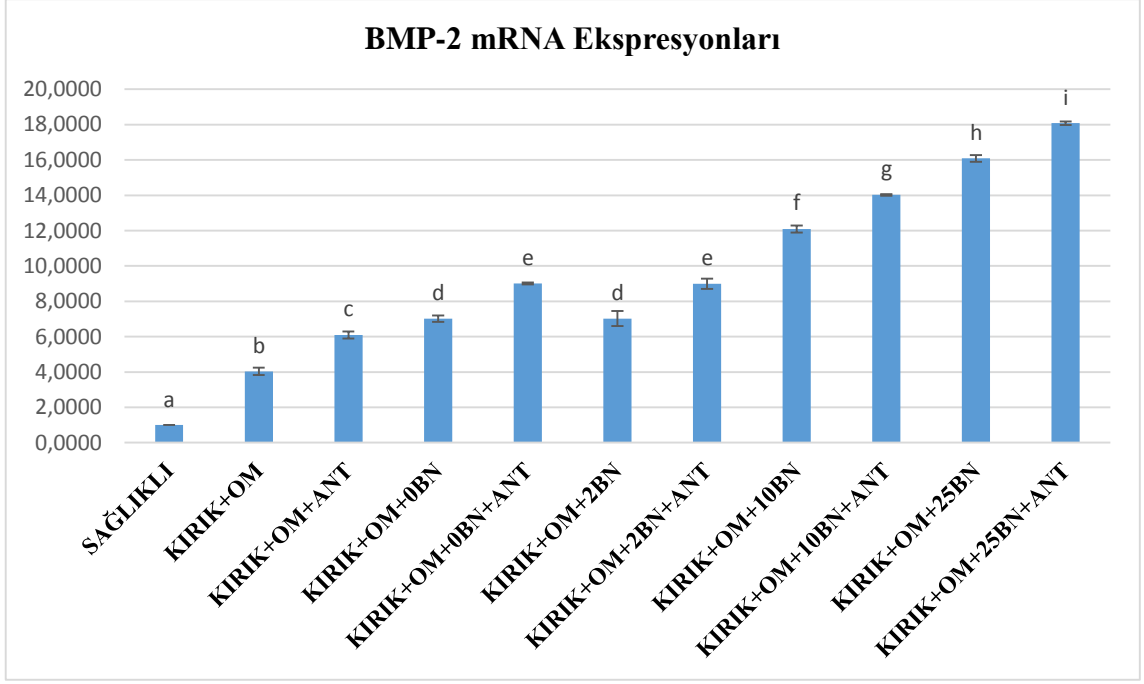
4.4. Moleküler Bulgular

Çalışmamızın moleküler bulgularından biri olan TNF- α RT-PCR analizi ile gen ekspresyon düzeyinde incelenmiştir.



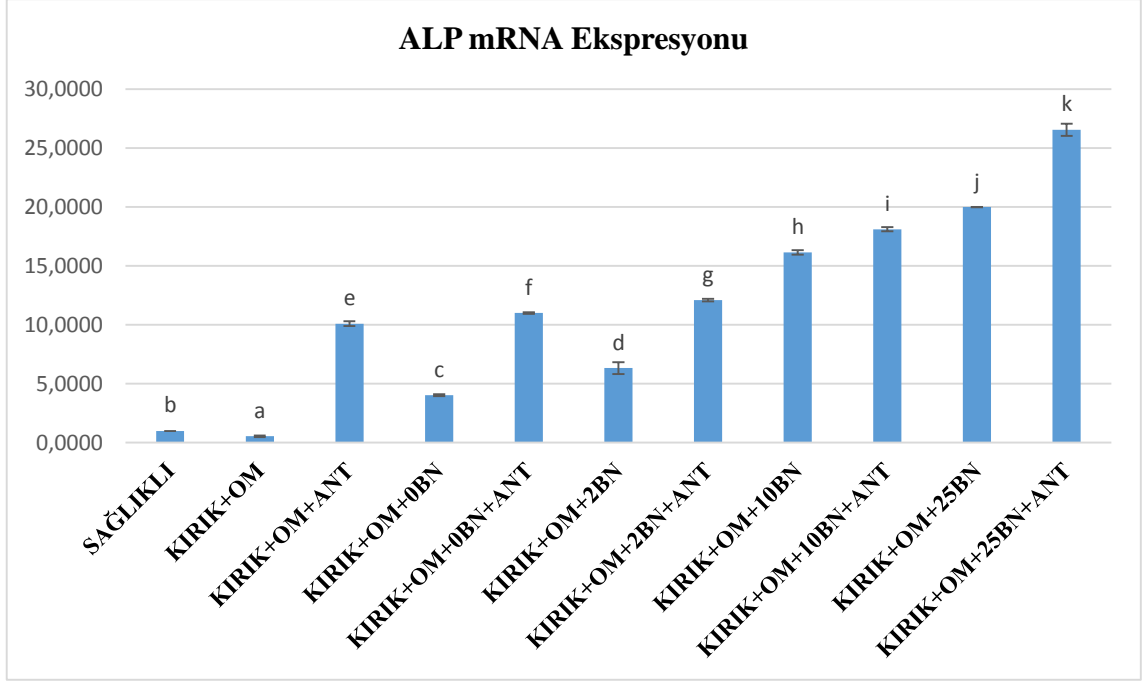
Şekil 4.18. Ratların femur dokusundaki TNF- α mRNA ekspresyonları.

Ratların femur dokularındaki TNF- α mRNA ekspresyonlarına baktığımızda Kırık+OM grubumuzda sağlıklı gruba kıyasla anlamlı bir artış gözlenmiştir. Kırık+OM grubuna göre Kırık+OM+ANT grubunda ekspresyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ve bu grupla Kırık+OM+2BN+ANT grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Kırık+OM+0BN, ve Kırık+OM+2BN grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+25BN ve Kırık+OM+25BN+ANT gruplarımızın sağlıklı gruba aralarında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 4.18.) ($p < 0.05$).



Şekil 4.19. Ratların femur dokusundaki BMP-2 mRNA ekspresyonları.

Sağlıklı gruba kıyaslandığında tüm gruplarda BMP-2 mRNA ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Kırık+OM+0BN ve Kırık+OM+2BN gruplarının arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken benzer şekilde Kırık+OM+0BN+ANT ve Kırık+OM+2BN+ANT grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+25BN ve Kırık+OM+25BN+ANT gruplarında Kırık+OM grubuna göre anlamlı bir artış vardır. En fazla artış Kırık+OM+25BN+ANT grubunda gözlenmiştir. (Şekil 4.19.) ($p < 0.05$)



Şekil 4.20. Ratların femur dokusundaki ALP mRNA ekspresyonları.

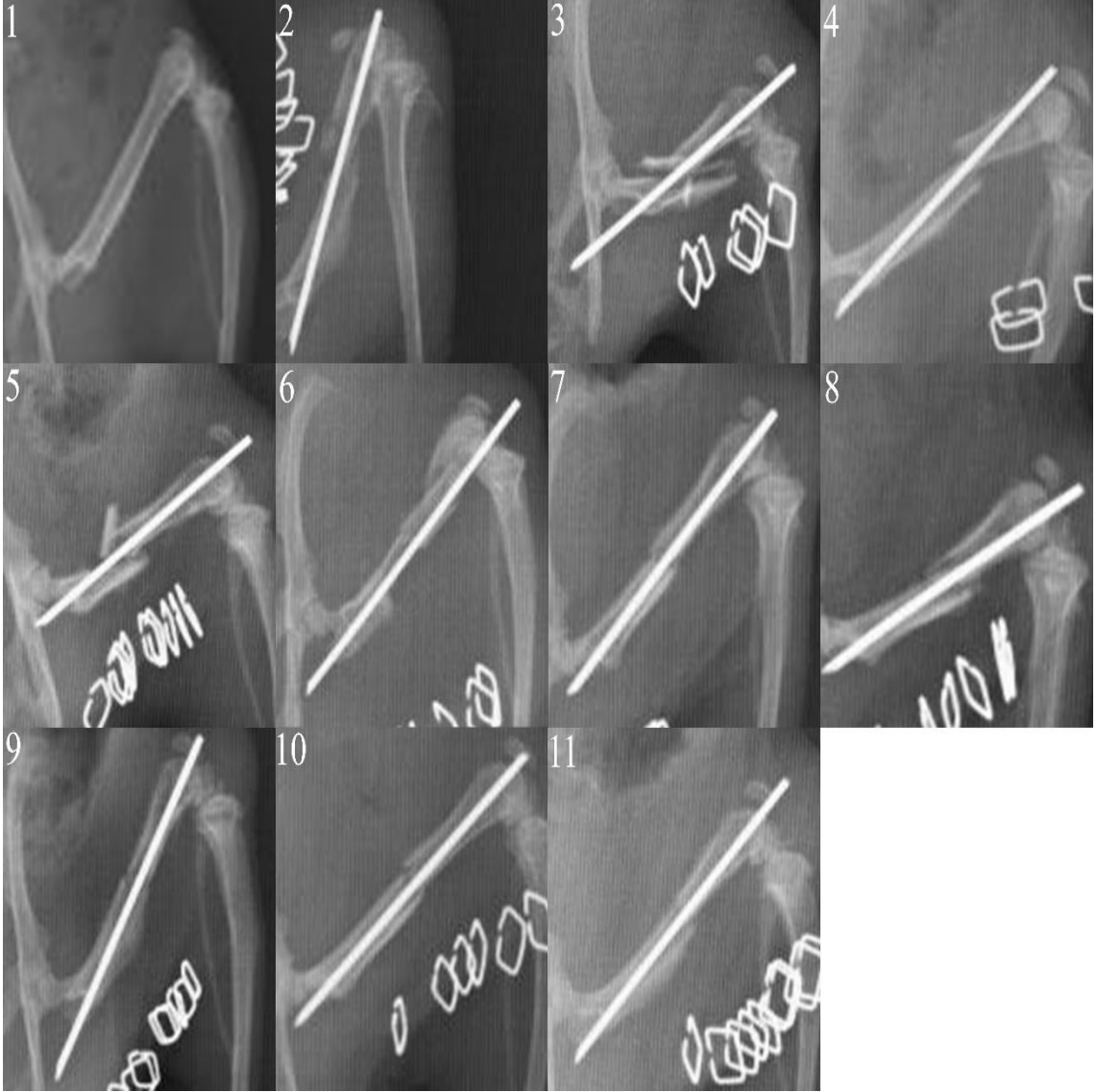
ALP ekspresyonlarına baktığımızda Kırık+OM gurubında sağlıklı grupla kıyaslandığında anlamlı bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Tüm tedavi gruplarında ALP mRNA ekspresyon miktarlarının Kırık+OM grubuna göre anlamlı bir şekilde artmış olduğu gözlenmiştir. En fazla artış Kırık+OM+25BN+ANT grubunda olmakla birlikte Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+10BN+ANT ve Kırık+OM+25BN gruplarında da diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. (Şekil 4.20.) ($p < 0.05$)

4.5. Direkt Radyografi Bulguları

Çektığımız direkt grafilere göre 10. günde grupların hiçbirinde periost reaksiyonu, osteoliz veya sekestrum formasyonu izlenmemiştir. 20. günde çekilen radyografi görüntülerine göre sağlıklı grup hariç tüm gruplarda kemik yıkımı, periost reaksiyonu, osteoliz ve sekestrum formasyonunun varlığı gözlenmiş olup osteomyelit olduğu tespit edilmiştir.

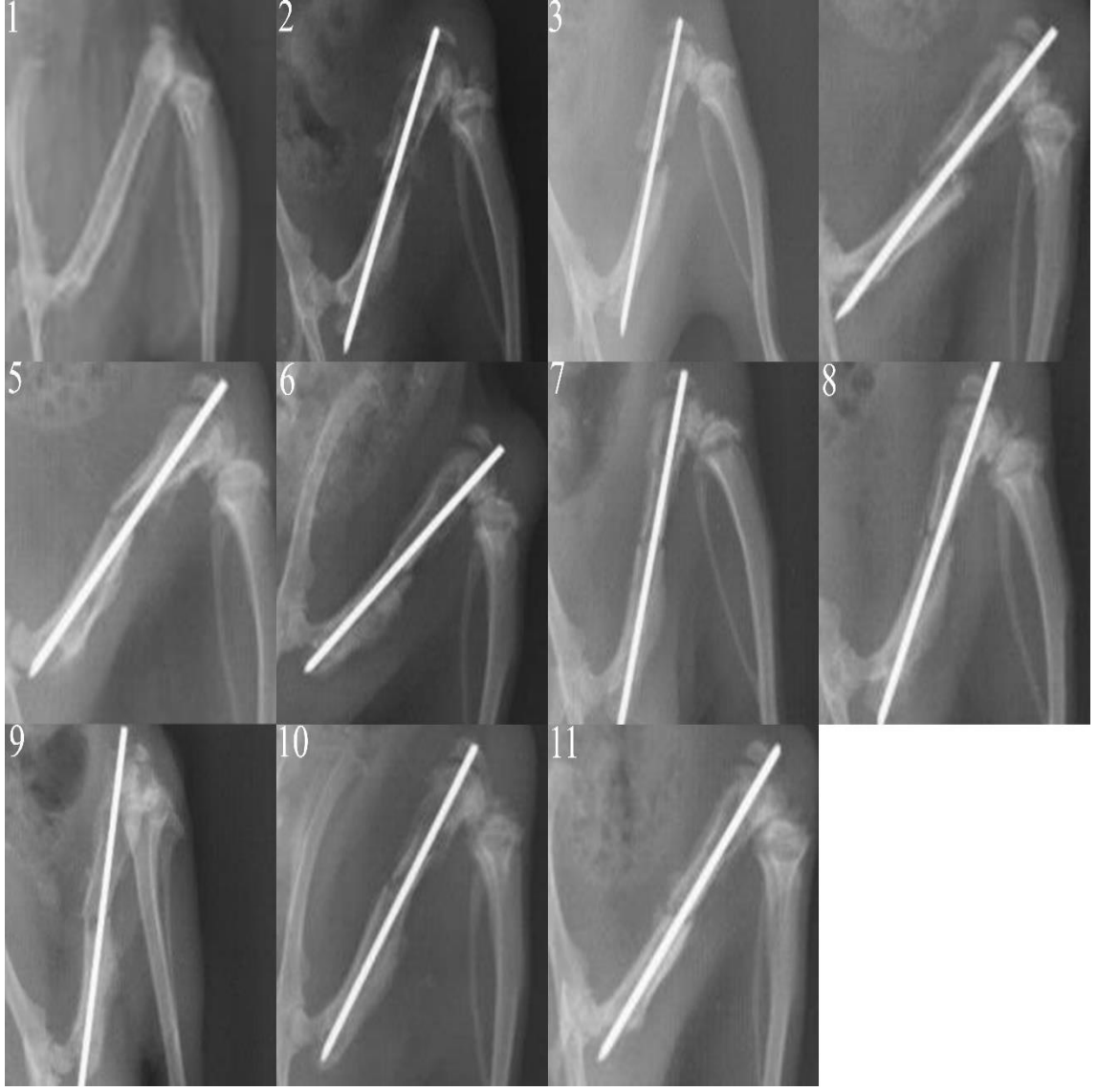
30. günde çekilen direkt grafi sonuçlarına göre tedavi gruplarında reaktif kemik oluşumunun arttığı, periost reaksiyonu, osteoliz ve sekestrum formasyonunun Kırık+OM grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir.

40. gün grafi sonuçlarını incelediğimizde ise tedavi verdiğimiz gruplar içerisinde 25BN ve 25BN+ANT grupları ile 10BN ve 10BN+ANT gruplarında kemik oluşumunun diğer gruplara kıyasla belirgin bir biçimde arttığı ve periost reaksiyonu, osteoliz ve sekestrum formasyonunun azalarak enfeksiyonun tedavi edildiği radyolojik olarak gözlenmiştir. (Şekil 4.21-4.24.)



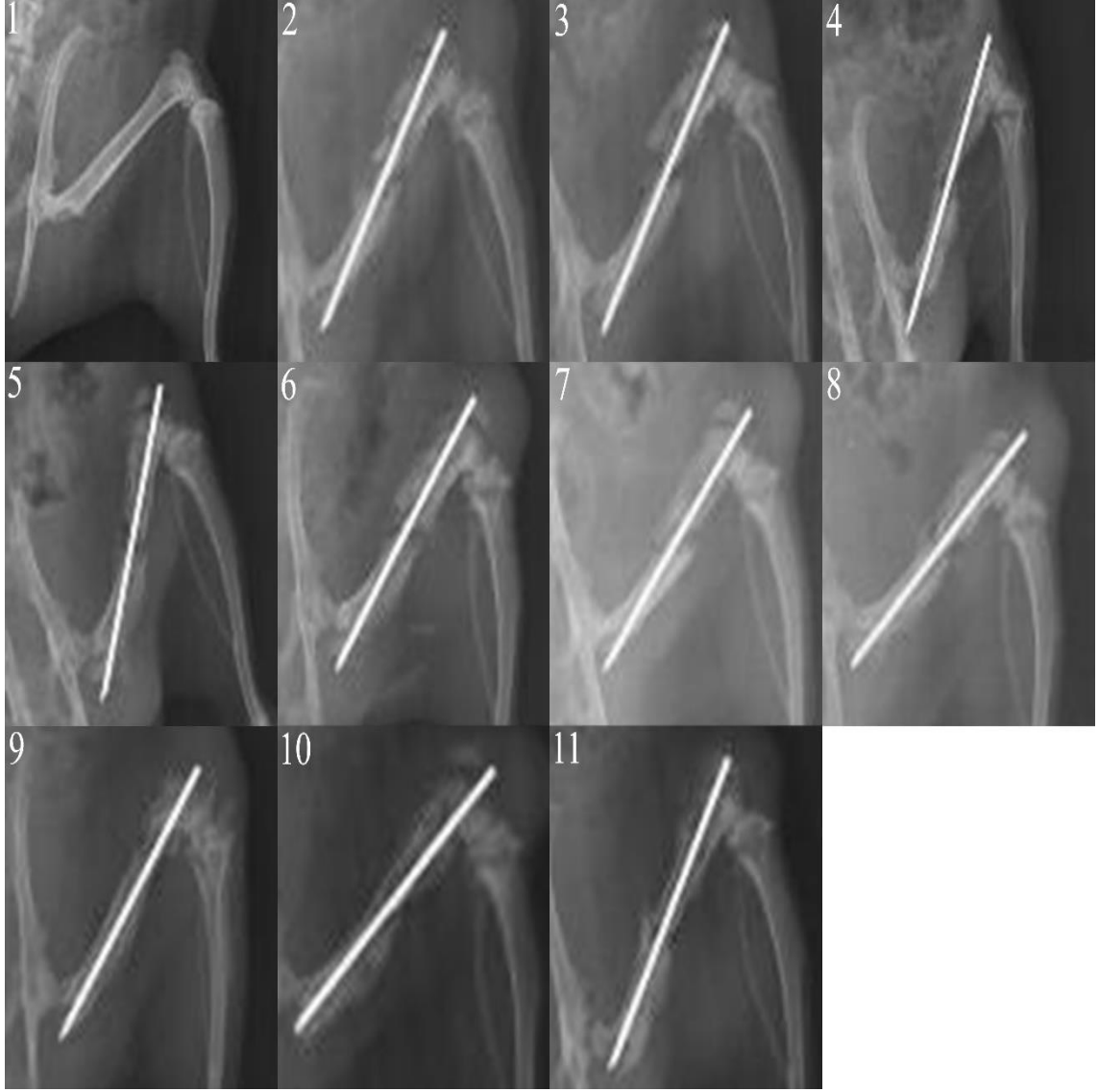
Şekil 4.21. Tüm grupların 10.gün direkt grafi görüntüleri.

1.Sağlıklı, 2.Kırık+OM, 3.Kırık+OM+ANT, 4.Kırık+OM+0BN, 5.Kırık+OM+0BN+ANT, 6.Kırık+OM+2BN, 7.Kırık+OM+2BN+ANT, 8.Kırık+OM+10BN, 9.Kırık+OM+10BN+ANT, 10.Kırık+OM+25BN, 11.Kırık+OM+25BN+ANT



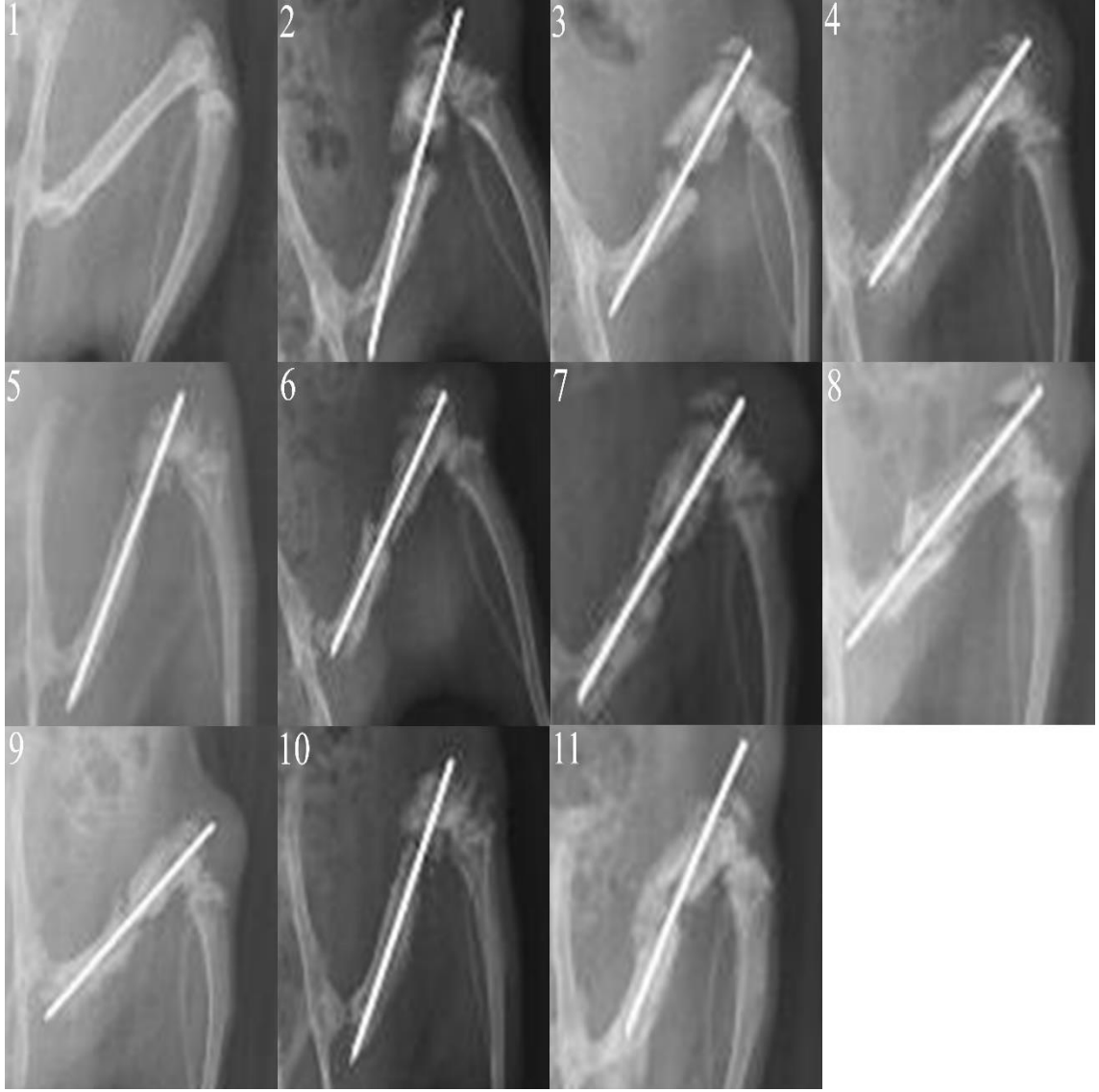
Şekil 4.22. Tüm grupların 20.gün direkt grafi görüntüleri.

1.Sağlıklı, 2.Kırık+OM, 3.Kırık+OM+ANT, 4.Kırık+OM+0BN, 5.Kırık+OM+0BN+ANT, 6.Kırık+OM+2BN, 7.Kırık+OM+2BN+ANT, 8.Kırık+OM+10BN, 9.Kırık+OM+10BN+ANT, 10.Kırık+OM+25BN, 11.Kırık+OM+25BN+ANT



Şekil 4.23. Tüm grupların 30.gün direkt grafi görüntüleri.

1.Sağlıklı, 2.Kırık+OM, 3.Kırık+OM+ANT, 4.Kırık+OM+0BN, 5.Kırık+OM+0BN+ANT, 6.Kırık+OM+2BN, 7.Kırık+OM+2BN+ANT, 8.Kırık+OM+10BN, 9.Kırık+OM+10BN+ANT, 10.Kırık+OM+25BN, 11.Kırık+OM+25BN+ANT



Şekil 4.24. Tüm grupların 40.gün direkt grafi görüntüleri.

1.Sağlıklı, 2.Kırık+OM, 3.Kırık+OM+ANT, 4.Kırık+OM+0BN, 5.Kırık+OM+0BN+ANT, 6.Kırık+OM+2BN, 7.Kırık+OM+2BN+ANT, 8.Kırık+OM+10BN, 9.Kırık+OM+10BN+ANT, 10.Kırık+OM+25BN, 11.Kırık+OM+25BN+ANT

4.6. Mikrobiyolojik Bulgular

Deney sonunda tüm gruplardan mikrobiyolojik analiz için alınan kemik doku örnekleri ve koloni sayıları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucu elde ettiğimiz sonuçlara göre koloni sayısı Kırık+OM grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir. Kırık+OM+ANT grubunda Kırık+OM grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Bütün tedavi gruplarımızda Kırık+OM grubuna göre doza bağımlı olarak bir düşüş gözlenmiştir. Bakteri koloni sayısındaki düşüş en fazla

Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+25BN ve bu grupların antibiyotik tedavisi eklenmiş gruplarında gözlenmiştir.

Tablo 4.1. Mikrobiyolojik koloni sayımları (CFU/g)

GRUPLAR	CFU/g
1. Sağlıklı	0
2. Kırık+OM	6,4x10 ⁶
3. Kırık +OM+ANT	4,9 x10 ⁵
4. Kırık +OM+0BN	4,0 x10 ⁶
5. Kırık +OM+0BN+ANT	8,4 x10 ⁵
6. Kırık +OM+2BN	4,5 x10 ⁵
7. Kırık +OM+2BN+ANT	3,4x10 ⁵
8. Kırık +OM+10BN	4,0 x10 ⁴
9. Kırık +OM+10BN+ANT	2,3 x10 ⁴
10. Kırık +OM+25BN	9,6 x10 ³
11. Kırık +OM+25BN+ANT	8x10 ³

5. TARTIŞMA

Osteomyelit çözümü zor, masraflı, morbiditesi yüksek, işgücü kaybı yaratan ve hastada psikososyal problemleri de beraberinde getiren bir sorundur. Yüksek morbidite oranıyla hastanın hayat kalitesini önemli oranda etkileyen osteomyelit, gerek cerrahi, gerek medikal tedavinin kombinasyonuyla dahi tedavisi zor olan ve halen enfeksiyon hastalıkları ve ortopedistleri uğraştıran, klinik seyri nedeniyle hayatın bir veya birden fazla döneminde tekrarlayabilen bir hastalık olarak karşılaşılmaya devam etmektedir.¹² Osteomyelit tedavisi, 1940'larda penisilin klinik kullanım amacıyla üretilmesinden bu yana önemli gelişme göstermiştir.¹² Enfeksiyon tedavisindeki bu devrimden sonra osteomyelit, yüksek mortalitesi olan bir hastalık olmaktan çıkıp, daha çok yüksek morbiditeli bir hastalık grubuna girmiştir.² Ortopedik bir implantın operasyon sonrası enfeksiyonu çok yıkıcı sonuçlar ortaya çıkarır. İmplant yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası bakterinin, antibiyotiklere ve hastanın immün sistemine karşı direncini kuvvetlendirir.⁴ Medikal teknolojideki ilerlemeler sayesinde, son derece düşük profilli ancak biyomekanik olarak stabil ve güvenilir, implantlar kullanılarak hastalar çok erken ve güvenle mobilize edilebilmektedir.⁴ Bu sık kullanımla beraber, görülme sıklığı son yıllarda ciddi olarak azalsa da erken ya da geç cerrahi komplikasyonlarla da karşılaşılmaktadır.⁴ Osteomyelit komplikasyonları arasında septisemi, septik artrit, kısıklık, açısız deformiteler, patolojik fraktür, eklem kontraktürü, kronik osteomyelit ve bunun komplikasyonu olarak amiloidoz, yassı epitel hücreli kanser, kırık ve psödoartroz sayılabilmektedir.¹⁴ Bu komplikasyonlar arasında, gelişen enfeksiyonlar hem ciddi morbiditeye neden olmakta hem de tedavi maliyetlerini arttırarak sağlık ekonomisi açısından önemli bir yük oluşturmaktadır. Elektif cerrahiler sonrası gelişen enfeksiyon oranları düşük iken özellikle implant kullanılan operasyonlar sonrası bu oran yükselmektedir. Osteomyelite neden olan süreç medüller aralığın, Havers sistemlerinin

akut enflamasyonuyla tetiklenir ve etkilenen alanın periosteumunu da kapsayacak şekilde genişler ve vasküler kollaps, stasis, venöz tromboz ve iskemi ile sonuçlanır.⁶⁸ Kemik, üzerindeki ısrarcı irin, görünen fistüller ya da deri ve mukozal apselerle mikroorganizma birikimini kolaylaştırıcı bir yapı halini alır. Genel itibarıyla ortopedik cerrahinin diğer cerrahi branşlardan, cerrahi işlem sırasında kemiğin vasküler desteğinde rol alan periostun sıyırılması, medüller kanalın oyulması gibi sebeplerle beslenmesinin bozulabilmesi, mikroorganizmaların kemik dokuya tutunmalarına yardımcı olan bir ortamın oluşması ve bir implantın kullanılması sonucu bir biyofilm tabakası oluşması gibi farklı yönleri vardır.^{14, 66} Önceleri ölüm nedenleri arasında üst sıralarda yer alan osteomyelit, günümüzde gelişen bakım şartları, sterilite uygulamaları, cerrahi tedavi modaliteleri ve antibiyoterapilerle tedavi edilmeye çalışılmakta olup osteomyelite bağlı ölümler artık nadiren gözlenmektedir.¹⁴ Ayrıca günümüzde antibiyotiklerle birçok bakteriye karşı elde edilen yüksek başarı oranları kemik ve eklem enfeksiyonlarında geçerli değildir.

İnsan sağlığı, doğrudan sağlık hizmetiyle ve üzerindeki etkisiyle ilişkili olduğundan dolayı biyomalzeme alanındaki gelişmeler hızlı bir şekilde artmakta ve önem arz etmektedir. 21. yüzyılda başta bilişim teknolojileri ve ilaç sanayi olmak üzere yeni malzeme teknolojileri, biyoteknoloji ve nanoteknoloji gibi çağın ileri teknolojileri konusunda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Dünya üzerinde nano malzemelerle ilgili gelişmelere bakıldığında insan sağlığıyla ilgili olanlar çok daha büyük önem taşımaktadır. BN de kendine has fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip oluşu nedeni ile biyomalzeme uygulamalarında tercih edilen bir malzemedir. Bor bileşikleri günümüzde yaygın olarak yeni kullanım alanları bulmaktadır. Bu bileşikler yüzyıla damgasını vuracak değerdedir ve en büyük hammadde kaynağına sahip olan Türkiye için çok büyük önem arz etmektedir. Türkiye dünya bor rezervinde birinci sırada olmasına rağmen bor

kimyasalları ve uç ürünlerinin üretimi ve pazarında ön sıralarda yer almamaktadır. Türkiye'nin refahı ve bu konuda dünya pazarlarında söz sahibi olabilmek için bu kaynakların rasyonel olarak değerlendirilmesi geleceğimiz için çok önemlidir. Türkiye'nin zenginliği olan borun uç ürünlerinden olan BN'nin sanayide yaygın şekilde kullanılmasını sağlamak üzere BN kaplamalar ön plana çıkmaktadır. Borik asit bileşiklerinin antibakteriyel ve antienflamatuvar etkisi daha önce bildirilmiştir.^{18, 19} Bor içeren birçok bileşik hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda güçlü antibakteriyel aktivite göstermişlerdir.^{18, 20} Yapılan çalışmalarda bazı bor türlerinin gram pozitif ve gram negatif antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir.²²⁻²⁹ Ayrıca yapılan bir çalışmada heterosiklik borik asidin kinolon veya makrolidlere hassas veya dirençli bazı Stafilokus suşlarına (strain) karşı antibakteriyel mekanizması gösterilmiştir ve bu bor bileşikleri siprofloksasinin Stafillokus 119B'ye karşı antibakteriyel aktivitesini yeniden kazandırabilecek yeni nesil NorA effluks inhibitör olabilecekleri bulunmuştur.³⁰ Yine başka bir çalışmada borun S. aureus da dahil olmak üzere birçok bakteri üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyonu ve minimum bakterisid konsantrasyonu tespit edilmiştir.¹²⁷ Yine başka bir çalışmada borun S. aureus da dahil olmak üzere birçok bakteri üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyonu ve minimum bakterisid konsantrasyonu tespit edilmiştir.¹²⁷

Biz de bu çalışmada deneysel olarak osteomyelit oluşturduğumuz ratlara BN ile kaplanmış K teli implante ederek osteomyelit tedavisindeki etkinliğini araştırmayı planladık.

Bu çalışma ile BN'nin kemik enfeksiyonlarında etkinliği gösterilebilirse, bu yöntem klinik olarak kemik enfeksiyonlarında, cerrahi ve antibiyoterapiye yardımcı bir tedavi olarak kullanılabilir bir yöntem olacaktır. Böylece osteomyelit tedavisine ciddi katkı sağlayacağı ve ortopedinin önemli bir probleminin çözümüne ışık tutacağı

düşüncesindeyiz. Lokal bor kaplanmış implant kullanımının mevcut yöntemlere kıyasla tedavi süresini kısaltması, ikinci bir cerrahiye gerek duyulması aşamasını ortadan kaldırması, tedavi maliyetini düşürmesi, morbiditeyi azaltması osteomyelit tedavisindeki çok önemli avantajları olacaktır.

Osteomyelitte histopatolojik olarak hastalığın erken dönemlerinde nötrofil hakimiyetinin olduğu polimorf nüveli lökositlerin infiltrasyonu gözlenirken daha sonraki geç dönemlerde mononükleer hücre infiltrasyonu hakimdir.¹²⁸ Bizim çalışmamızda açık kırık oluşturulmuş ve osteomyelit geliştirilmiş gruplardaki ratlar 40 günün sonunda sakrifiye edilip patoloji örnekleri alınmış ve patolojik olarak mononükleer hücre infiltrasyonu skorlaması yapılmıştır. Osteomyelit oluşturup herhangi bir tedavi uygulamadığımız kontrol grubumuzda ve Kırık+OM+0BN grubunda en yüksek düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenirken gerek sistemik antibiyotik gerek değişik oranlarda BN içeren K telleri ile tedavi edilen gruplarda mononükleer hücre infiltrasyonunun azalarak sağlıklı gruba yaklaştığı gözlemlendi. Mononükleer hücre infiltrasyonu kronik dönemde tanıya yardımcı olabileceği gibi aynı zamanda tedavi etkinliğini de göstermek için kullanılacak parametrelerden biridir ve BN içeren veya sistemik antibiyotik tedavisi alan veya bunların kombinasyonunu alan tüm gruplarda istatistiksel olarak tedavi almayan gruba göre düşme gözlenmiş ve mononükleer hücre infiltrasyonu sağlıklı gruba yaklaşmıştır. Gruplara baktığımızda BN ve antibiyotik tedavisi almış gruplar ile sadece BN kaplaması kullanılmış gruplar arasında mononükleer infiltrasyon açısından herhangi bir fark görülmemiştir. Bu da bize sadece BN uygulamasının bile osteomyelitte koruyucu olabileceğini göstermektedir.

Reaktif kemik oluşumu da kırık iyileşmesinin göstergelerinden biridir.¹²⁹ Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup dışında tüm tedavi gruplarında reaktif kemik oluşumu gözlemlendi. Reaktif yeni kemik oluşumu kronik osteomyelitte yaygın olarak gözlenebilir

ve uzun dönemde iyileşmenin bir parçası olarak görev alır.^{130, 131} Bizim çalışmamızda en fazla reaktif kemik oluşumu BN'nin en yüksek dozlarda kullanıldığı yani %10 ve %25 BN gruplarında gözlemlendi. Bu sonuçlar bize özellikle %10 ve %25 BN uygulanmış gruplarda en iyi kemik oluşumu olduğunu göstermektedir.

Literatürde kemik iyileşmesinde artmış kollajenizasyonu HA ile ilişkilendiren çalışmalar mevcut olmasına rağmen henüz BN'nin kollajenizasyonu nasıl etkilediğine dair bir çalışma mevcut değildir.¹³² Bizim çalışmamızda kırık zemininde oluşturulmuş osteomyelit modelinde sağlıklı grup haricindeki bütün gruplarda kollajenizasyonda artma olduğu histopatolojik olarak gösterilmiş ve en fazla artışın da %25 ve %10 BN içeren gruplarda olduğu gösterilmiştir. Histopatolojik sonuçlara göre Kırık+OM+ANT, Kırık+OM+0BN+ANT ve Kırık+OM+2BN+ANT grupları arasında herhangi bir istatistiksel fark yoktur ve ayrıca Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+25BN ve Kırık+OM+25BN+ANT gruplarının bu gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kollajenizasyonu artırmıştır. Bu sonuçlar bize BN'nin osteomyelit tedavisinde belirli dozlarda kullanımını takiben kollajenizasyonu belirgin biçimde artırdığını ortaya koymaktadır ve kollajenizasyondaki artışa bakarak bu gruplarda kırık iyileşmesinin daha fazla olduğunu söyleyebiliriz. Proinflamatuvar sitokinlerden biri olan TNF- α 'nın iyileşme süreci içerisinde kemik metabolizması üzerine olumsuz etkilere yol açtığı bilinmektedir.^{133, 134} Kemik hasarı iyileşmesinde görülen inflamatuvar fazda, TNF- α öncü sentezlenen sitokinler içerisinde yer alır ve kemik reabsorpsiyonu uyarır.¹³⁵

Biz yaptığımız bu çalışmada osteomyelitte arttığı bilinen⁷⁸ TNF- α seviyelerini hem immünohistokimyasal hem de moleküler yöntemlerle göstermeyi amaçladık.

Şimdiye kadar osteoblast farklılaşmasının inhibitörü ve osteoklast oluşumunun bir aktivatörü olarak bilinen TNF- α 'nın ayrıca osteoblastogenezi de indükleyebileceğini gösteren bazı paradoksal çalışmalar mevcuttur. Kemik homeostazındaki bu paradoksal

durum TNF- α konsantrasyonu, maruz kalma süresi ve maruz bırakılan dokunun farklılaşma durumuyla ilişkilendirilmektedir.¹³⁶ Yeni kemik oluşumu esnasında TNF- α , osteoblastik ve osteoklastik aktivitenin düzenlenmesinde önemli rol oynar. TNF- α düşük dozlarda osteoblast proliferasyonuna neden olurken yüksek dozların in vitro ve in vivo kemik oluşumunu inhibe edebildiği gösterilmiştir.^{137, 138}

İmmünohistokimyasal TNF- α boyaması sonucu yapılan skorlamaya göre TNF- α en fazla tedavi almamış Kırık+OM grubunda immünpozitifliğe neden olmuştur. Tedavi almış tüm gruplarda anlamlı düşüşler olduğu gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal bulgular arasında yer alan dikkat çekici bir nokta ise Kırık+OM+OBN ve Kırık+OM+2BN gruplarında anlamlı TNF- α immün pozitifliği varken diğer gruplarda TNF- α immün pozitifliği anlamlı bir şekilde azalmıştı. Yalnız Kırık+OM+25 BN gruplarında TNF- α immün pozitifliğindeki düşüş diğer gruplardan daha az görülmüştür. Bu durum her ne kadar biyoyumlu olduğu bilinen bir madde de olsa BN'nin belli bir dozun üzerinde vücutta immün cevabı aktive edebildiğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda ratların femur dokusundan ölçülen TNF- α mRNA ekspresyonu seviyelerini incelediğimizde en yüksek ekspresyonun immünohistokimya sonuçlarımıza paralel olarak Kırık+OM grubunda gerçekleştiğini görmekteyiz. Ayrıca Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+25BN ve Kırık+OM+25BN+ANT gruplarının sağlıklı gruba arasında istatistiksel bir fark olmadığını ve bu grupların osteomyelit iyileşmesi bakımından daha ileride olduklarını söyleyebiliriz. Tüm bunlarla birlikte, TNF- α için Kırık+OM+OBN ve Kırık+OM+2BN grupları arasında immünohistokimyasal ve mRNA ekspresyonları açısından istatistiksel bir fark bulunmayışı ölçüm yaptığımız dönemle de ilişkili olabileceği için başka bir çalışmada osteomyelitin erken dönemlerinde TNF- α seviyelerinin ölçülmesi literatüre yapılacak katkı bakımından faydalı olacaktır.

TNF- α ve BMP-2 hücre içi sinyal yollarında MAPK situmülasyonu ile benzer yollardan enflamatuvar cevap oluşturmaktadır.^{139, 140} Ancak kemiğe olan net etkileri bakımından TNF- α kemik dokunun yıkımına sebebiyet verirken BMP-2'nin kemik gelişimine olumlu yönde katkı yaptığı bilinmektedir.¹⁴¹⁻¹⁴³

BMP-2 transforme edici büyüme faktörü olan TGF- β süper ailesinin bir üyesidir. TGF- β /BMP sinyali hücre sel süreçlerin büyük bir kısmından sorumludurlar ve yaşam boyunca çok büyük önem arz ederler.¹⁴⁴ BMP-2 kemotaksis, mitoz, kıkırdak farklılaşması ve kıkırdak yapının kemiğe dönüşümü gibi kemik yapımında önemli adımları yönetmektedir. Ayrıca apoptozis, hücre canlılığının devamı, ekstraselüler matriks sentezi ve hematopoezin düzenlenmesinde görev almaktadır.¹⁴⁵ BMP-2 aktivasyonunun ilk basamağı, BMP'nin tip 2 reseptörlere bağlanmasıdır. BMP sinyali intrasellüler alanda Smad1/5/8'i fosforilleyerek Smad4 ile kompleks oluşturur ve nukleusa taşınır böylece osteojenik genlerin transkripsiyonunu aktive veya inhibe eder.¹⁴⁶ Ayrıca BMP ailesi bir transkript faktörü olan core-binding factor a1 (Cbfa1)'in sentezini uyarmak suretiyle osteoblasta özgü genlerin aktivasyonunda görev alırlar.¹⁴⁷

Literatürde pek çok çalışmada taşıyıcı implantların, organik veya inorganik matrikslerin BMP-2 proteini ile kaplanıp kemik rejenerasyonundaki etkisi araştırılmıştır. Kemik rejenerasyonuna yeterli etki konsantrasyonunu sağlayıp korumayı başarabilecek biyomalzemeler için çalışmalar devam etmektedir.^{148, 149} Yüksek bağlama kapasiteleri sebebiyle kollajen süngerlere ve hidrojellere BMP-2'nin emdirilerek trabeküler kemik üzerine yapılan defektte hacim artışı oluşturarak kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkileri bildirilmiştir.¹⁵⁰ Yani BMP-2 kemik rejenerasyonunu göstermede kullanılan başarılı bir belirteç olmakla birlikte aynı zamanda mevcut tedavi modalitelerini daha yukarılara taşımaya yardımcı olabilecek bir moleküldür.

Bizim çalışmamızda ölçülen BMP-2 mRNA ekspresyon sonuçlarına göre tüm gruplarda sağlıklı gruba göre anlamlı bir artış mevcuttur. BMP-2 mRNA ekspresyon seviyeleri Kırık+OM+2BN grubunda daha az olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde bütün gruplarda artmıştır. En yüksek artış sırasıyla; Kırık+OM+25BN+ANT, Kırık+OM+25BN, Kırık+OM+10BN+ANT, Kırık+OM+10BN, Kırık+OM+2BN+ANT, Kırık+OM+2BN şeklinde olup bu veriler bize bor ve sistemik antibiyotik uygulamasının tek başlarına veya beraber kullanıldıklarında açık kırık zemininde gelişen osteomyelit önlenmesi veya tedavisinde iyi bir alternatif olabileceklerini göstermektedir.

BMP-2 içeren biyomateryallerin kemik hasarlarında kullanılması sonucu ALP aktivitesinin ve mineralize kemik matriksi oluşumunun arttığını gösteren in vivo ve in vitro çalışmalar mevcuttur.¹⁵¹ ALP, bir osteoblastik diferansiyasyon faktörüdür.¹⁵² Yapılan çalışmalarda BMP-2 nin hücrel mekanizmalarla ALP ekspresyonunu ve osteoblast mineralizasyonunu kontrol ettiği gösterilmiştir.¹⁵³ Literatür bilgilerinin ışığında BMP-2' nin ALP aktivasyonunda rol oynadığını dolayısıyla artmış BMP-2 ekspresyonlarının ALP ekspresyonlarını artırması gerektiği sonucuna ulaşılabilir. Bizim çalışmamızda neredeyse tüm gruplarda elde ettiğimiz ALP ekspresyonları BMP-2 ekspresyonları ile paralellik göstermektedir.

Radyolojik tetkikler osteomyelit tanısında ve tedavi seyrinin izlenmesinde önemli yer tutmaktadır.¹⁵⁴ Biz çalışmamızın 10., 20., 30. ve 40. günlerinde bütün deney gruplarına direkt grafi çekimi yaparak hem osteomyelitin oluşumunu hem de verdiğimiz tedavilerin gidişatı hakkında bilgi sahibi olmayı amaçladık. Radyografi sonuçlarımız histopatoloji, immünohistokimyasal ve moleküler bulgularımızla paralellik göstermektedir. 40. günün sonunda 10 BN ve 25 BN içeren gruplarımızda radyografik olarak iyileşme gözlenirken diğer gruplarımızda osteomyelit bulguları görülmeye devam etmekteydi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları bize BN ve sistemik antibiyotik uygulamasının tek başlarına veya beraber kullanıldıklarında açık kırık zemininde gelişen osteomyelitin önlenmesi veya tedavisinde iyi bir alternatif olabileceklerini göstermektedir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarını özetlersek; öncelikle BN'nin özellikle %10 ve %25 oranında kullanıldığında antibiyotikle kombine edilsin ya da edilmesin açık kırık zemininde oluşturulan osteomyelit tedavisi veya önlenmesi bakımından önemli etkileri vardır. Bu çalışma ile BN'nin kemik enfeksiyonlarındaki etkinliği ve lokal bor kaplanmış implant kullanımının mevcut yöntemlere kıyasla tedavi süresini kısaltması, ikinci bir cerrahiye gerek duyulması aşamasını ortadan kaldırması, tedavi maliyetini düşürmesi, morbiditeyi azaltması avantajlarıyla bu yöntem klinik olarak kemik enfeksiyonlarında, cerrahi ve antibiyoterapiye yardımcı bir tedavi olarak veya osteomyelit riski taşıyan hasta gruplarında kullanılabilir bir yöntem olacaktır. Böylece bor madeni gibi nanoteknolojik alanlarda kendine gerçekten önemli yerler kazanmış bir elementin osteomyelit tedavisine ciddi katkı sağlayacağı ve ortopedinin önemli bir probleminin çözümüne ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Mader JT. Animal models of osteomyelitis. *American Journal of Medicine*, 1985, 78: 213-217.
2. Kharbanda Y, Dhir RS. Natural course of hematogenous pyogenic osteomyelitis (a retrospective study of 110 cases). *Journal of postgraduate medicine*, 1991, 37: 69-75.
3. Norden CW. Acute and chronic osteomyelitis. In: Armstrong D CJ (eds). *Infectious diseases*, 43. ed. Barcelona, Mosby (Harcourt Publishers), 1999: 18-20.
4. Değirmenci E. Ratlarda Deneysel, İmplant İlişkili, Metisilin Dirençli Stafilokokus Aureus Osteomiyelit Modelinde Tigesiklin ve Teikoplanin Antibiyotiklerinin Etkinliklerinin Karşılaştırılması. Ortopedi Ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Düzce: Düzce Üniversitesi, 2008.
5. Leblebicioglu H, Sanic A, Gunaydin M, Sencan I, Dabak N, Nas Y. In-vitro release of vancomycin and netilmicin from bone cement. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1996, 1: 211-212.
6. Veyries ML, Faurisson F, Joly-Guillou ML, Rouveix B. Control of staphylococcal adhesion to polymethylmethacrylate and enhancement of susceptibility to antibiotics by poloxamer 407. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2000, 44: 1093-1096.
7. Bisland SK, Chien C, Wilson BC, Burch S. Pre-clinical in vitro and in vivo studies to examine the potential use of photodynamic therapy in the treatment of osteomyelitis. *Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 2006, 5: 31-38.

8. Beals RK, Bryant RE. The treatment of chronic open osteomyelitis of the tibia in adults. *Clinical orthopaedics and related research*, 2005: 212-217.
9. Gözlügöl M. Rat Osteomiyelit Modelinde Lokal Biyobozunur Antibiyotik Taşıyıcı Sistemin Etkinliği. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Mersin: Mersin Üniversitesi, 2011.
10. Hanssen AD. Local antibiotic delivery vehicles in the treatment of musculoskeletal infection. *Clinical orthopaedics and related research*, 2005: 91-96.
11. Yarboro SR, Baum EJ, Dahners LE. Locally administered antibiotics for prophylaxis against surgical wound infection. An in vivo study. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 2007, 89: 929-933.
12. Karaçor A. Deneysel Osteomiyelit Modelinde Ses Dalgası (Ultrason) Uygulamasının Osteomiyelit Tedavisi Üzerine Etkileri. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Mersin Mersin Üniversitesi, 2008.
13. Gristina AG, Naylor P, Myrvik Q. Infections from biomaterials and implants: a race for the surface. *Medical progress through technology*, 1988, 14: 205-224.
14. Uymur EY. Gümüş Kaplı İmplantların Tavşanlarda Deneysel Osteomiyelit ve Kırık Modelinde Tedavideki Etkinliği. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2013.
15. Kaftanoğlu B DN. Kübik Bor Nitrür (C-Bn) Kaplamalar, 3. Ulusal Talaşlı İmalat Sempozyumu, 2012, Ankara 274.

16. Özdemir Köklü M. Bor İçerikli Nanomalzeme Üretim Olanaklarının Araştırılması. Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 2012.
17. Angın MH AS. Bor Nitrür Ön Fizibilite Etüdü. <http://www.etimaden.gov.tr>.
18. Bailey PJ, Cousins G, Snow GA, White AJ. Boron-containing antibacterial agents: effects on growth and morphology of bacteria under various culture conditions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1980, 17: 549-553.
19. Nielsen FH. Biochemical and physiologic consequences of boron deprivation in humans. *Environmental health perspectives*, 1994, 102 Suppl 7: 59-63.
20. Gronowitz S, Dahlgren T, Namtvedt J, Roos C, Rosen G, Sjöberg B, Forsgren U. Antibacterial borazaro derivatives. II. Effect of substituents on the antibacterial activity of 5-arylsulphonyl-4-hydroxy-4,5-borazarothieno(2,3-c)pyridines and 6-arylsulphonyl-7-hydroxy-7,6-borazarothieno(3,2-c)pyridines. *Acta pharmaceutica Suecica*, 1971, 8: 623-638.
21. Gronowitz S, Dahlgren T, Namtvedt J, Roos C, Sjöberg B, Forsgren U. Antibacterial borazaro derivatives. I. 5-Arylsulphonyl-4-hydroxy-4,5-borazarothieno(2,3-c)pyridines and 6-arylsulphonyl-7-hydroxy-7,6-borazarothieno(3,2-c)pyridines. *Acta pharmaceutica Suecica*, 1971, 8: 377-390.
22. Benkovic SJ, Baker SJ, Alley MR, Woo YH, Zhang YK, Akama T, Mao W, Baboval J, Rajagopalan PT, Wall M, Kahng LS, Tavassoli A, Shapiro L. Identification of borinic esters as inhibitors of bacterial cell growth and bacterial methyltransferases, CcrM and MenH. *Journal of medicinal chemistry*, 2005, 48: 7468-7476.

23. Smoum R, Rubinstein A, Dembitsky VM, Srebnik M. Boron containing compounds as protease inhibitors. *Chemical reviews*, 2012, 112: 4156-4220.
24. Grassberger MA, Turnowsky F, Hildebrandt J. Preparation and antibacterial activities of new 1,2,3-diazaborine derivatives and analogues. *Journal of medicinal chemistry*, 1984, 27: 947-953.
25. Hernandez V, Crepin T, Palencia A, Cusack S, Akama T, Baker SJ, Bu W, Feng L, Freund YR, Liu L, Meewan M, Mohan M, Mao W, Rock FL, Sexton H, Sheoran A, Zhang Y, Zhang YK, Zhou Y, Nieman JA, Anugula MR, Keramane el M, Savariraj K, Reddy DS, Sharma R, Subedi R, Singh R, O'Leary A, Simon NL, De Marsh PL, Mushtaq S, Warner M, Livermore DM, Alley MR, Plattner JJ. Discovery of a novel class of boron-based antibacterials with activity against gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2013, 57: 1394-1403.
26. Jabbour A, Steinberg D, Dembitsky VM, Moussaieff A, Zaks B, Srebnik M. Synthesis and evaluation of oxazaborolidines for antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. *Journal of medicinal chemistry*, 2004, 47: 2409-2410.
27. Morandi F, Caselli E, Morandi S, Focia PJ, Blazquez J, Shoichet BK, Prati F. Nanomolar inhibitors of AmpC beta-lactamase. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125: 685-695.
28. Xia Y, Cao K, Zhou Y, Alley MR, Rock F, Mohan M, Meewan M, Baker SJ, Lux S, Ding CZ, Jia G, Kully M, Plattner JJ. Synthesis and SAR of novel benzoxaboroles as a new class of beta-lactamase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2011, 21: 2533-2536.

29. Livermore DM, Mushtaq S. Activity of biapenem (RPX2003) combined with the boronate beta-lactamase inhibitor RPX7009 against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2013, 68: 1825-1831.
30. Fontaine F, Hequet A, Voisin-Chiret AS, Bouillon A, Lesnard A, Cresteil T, Jolivalt C, Rault S. First identification of boronic species as novel potential inhibitors of the Staphylococcus aureus NorA efflux pump. *Journal of medicinal chemistry*, 2014, 57: 2536-2548.
31. Zaidi M. Skeletal remodeling in health and disease. *Nature medicine*, 2007, 13: 791-801.
32. Kalbasi Anaraki P, Patecki M, Tkachuk S, Kiyan Y, Haller H, Dumler I. Urokinase receptor mediates osteoclastogenesis via M-CSF release from osteoblasts and the c-Fms/PI3K/Akt/NF-kappaB pathway in osteoclasts. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2015, 30: 379-388.
33. Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical engineering & physics*, 1998, 20: 92-102.
34. Pritchard JJ. Biochemistry and Physiology of Bone. In: Bourne GH (eds). *General Anatomy and Histology of Bone*, 1. ed. New York, Academic Press, 1956: 1-25.
35. Ellender G, Feik SA, Carach BJ. Periosteal structure and development in a rat caudal vertebra. *Journal of anatomy*, 1988, 158: 173-187.

36. Cypher TJ, Grossman JP. Biological principles of bone graft healing. *The Journal of foot and ankle surgery : official publication of the American College of Foot and Ankle Surgeons*, 1996, 35: 413-417.
37. Bloom W, Fawcett DW. *A Textbook of Histology*. 12. ed. Philadelphia, London, Toronto., W.B. Saunders Company 1975.
38. Jungueria CL, Carnerio J, Kelley O. *Basic Histology*. 9. ed. New Jersey, Appleton and Lange, 1995: 132-151.
39. Şimşek S. Alendronat ve K1 Vitamininin Rat Femoral Kırık Kemik İyileşmesi Üzerindeki Etkisi. Ağız Dış Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, 2011.
40. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. 1. ed. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 118-145.
41. Nakasaki M, Yoshioka K, Miyamoto Y, Sasaki T, Yoshikawa H, Itoh K. IGF-I secreted by osteoblasts acts as a potent chemotactic factor for osteoblasts. *Bone*, 2008, 43: 869-879.
42. Baron R. Biology of the osteoclast. In: Mundy GR, Martin TJ (eds). *Handbook of Experimental Pharmacology: Physiology and Pharmacology of Bone*, ed. Berlin, Germany, Springer-Verlag, 1993.
43. Schenk RK. Biology of fracture. In: Browner B, Jupiter J, Levine A, P T (eds). *Skeletal Trauma*, ed. Philadelphia, Saunders, 2003: 29-74.

44. Oktař B. Extrakorporeal Çok Dalgası Tedavisinin Normal ve Deperioste Rat Femurlarında Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Düzce: Düzce Üniversitesi, 2008.
45. Gartner LP HJ. *Color Textbook of Histology*. 3. ed. 2007 146-150.
46. Ortega N, Behonick DJ, Werb Z. Matrix remodeling during endochondral ossification. *Trends in cell biology*, 2004, 14: 86-93.
47. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 1978, 60-B: 150-162.
48. Ege R. Kırık İyileşmesi. In: *Travmatoloji: Kırıklar Eklemler ve Diğer yaralanmalar*, 5. ed. Ankara, Bizim Büro Basımevi, 2001.
49. Kolar P, Schmidt-Bleek K, Schell H, Gaber T, Toben D, Schmidmaier G, Perka C, Buttgereit F, Duda GN. The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 2010, 16: 427-434.
50. Zhang X, Naik A, Xie C, Reynolds D, Palmer J, Lin A, Awad H, Guldberg R, Schwarz E, O'Keefe R. Periosteal stem cells are essential for bone revitalization and repair. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, 2005, 5: 360-362.
51. Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clinical orthopaedics and related research*, 1989: 283-293.
52. Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part II. *Clinical orthopaedics and related research*, 1989: 294-309.

53. Cornell CN, Lane JM. Newest factors in fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*, 1992: 297-311.
54. Hulth A. Current concepts of fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*, 1989: 265-284.
55. Kılıçoğlu S. Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 2002, 55: 143-150.
56. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*, 1998: S7-21.
57. Marsh DR, Li G. The biology of fracture healing: optimising outcome. *British medical bulletin*, 1999, 55: 856-869.
58. Waters RV, Gamradt SC, Asnis P, Vickery BH, Avnur Z, Hill E, Bostrom M. Systemic corticosteroids inhibit bone healing in a rabbit ulnar osteotomy model. *Acta orthopaedica Scandinavica*, 2000, 71: 316-321.
59. Radomsky ML, Thompson AY, Spiro RC, Poser JW. Potential role of fibroblast growth factor in enhancement of fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*, 1998: S283-293.
60. Trippel SB. Potential role of insulinlike growth factors in fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*, 1998: S301-313.
61. Marsell R, Jonsson KB, Cho TJ, Einhorn TA, Ohlsson C, Schipani E. Mice expressing a constitutively active PTH/PTHrP receptor in osteoblasts show reduced callus size but normal callus morphology during fracture healing. *Acta orthopaedica*, 2007, 78: 39-45.

62. Hollinger JO, Onikepe AO, MacKrell J, Einhorn T, Bradica G, Lynch S, Hart CE. Accelerated fracture healing in the geriatric, osteoporotic rat with recombinant human platelet-derived growth factor-BB and an injectable beta-tricalcium phosphate/collagen matrix. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 2008, 26: 83-90.
63. Bucholz RW HJ. Healing of the musculoskeletal system. In: Rockwood CA GD (eds). *Fractures in adults*, ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1996: 267-304.
64. McCann RM, Colleary G, Geddis C, Clarke SA, Jordan GR, Dickson GR, Marsh D. Effect of osteoporosis on bone mineral density and fracture repair in a rat femoral fracture model. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 2008, 26: 384-393.
65. O'Driscoll SW, Saris DB, Ito Y, Fitzimmons JS. The chondrogenic potential of periosteum decreases with age. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 2001, 19: 95-103.
66. Lazzarini L, Mader JT, Calhoun JH. Osteomyelitis in long bones. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 2004, 86-A: 2305-2318.
67. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *The New England journal of medicine*, 1997, 336: 999-1007.
68. dos Reis JA, Jr., de Carvalho FB, Trindade RF, de Assis PN, de Almeida PF, Pinheiro AL. A new preclinical approach for treating chronic osteomyelitis induced by *Staphylococcus aureus*: in vitro and in vivo study on photodynamic antimicrobial therapy (PAmT). *Lasers in medical science*, 2014, 29: 789-795.

69. Oto M. Kronik Osteomiyelitte Tanı ve Medikal-Cerrahi Tedavi Kombinasyonunun Değeri. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 2008, 1: 50-58.
70. Waldvogel FA, Papageorgiou PS. Osteomyelitis: the past decade. *The New England journal of medicine*, 1980, 303: 360-370.
71. Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, Henderson B. Bacterially induced bone destruction: mechanisms and misconceptions. *Infection and immunity*, 1996, 64: 2371-2380.
72. Millar SJ, Goldstein EG, Levine MJ, Hausmann E. Modulation of bone metabolism by two chemically distinct lipopolysaccharide fractions from *Bacteroides gingivalis*. *Infection and immunity*, 1986, 51: 302-306.
73. Riancho JA, Salas E, Zarrabeitia MT, Olmos JM, Amado JA, Fernandez-Luna JL, Gonzalez-Macias J. Expression and functional role of nitric oxide synthase in osteoblast-like cells. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 1995, 10: 439-446.
74. Norden CW. Lessons learned from animal models of osteomyelitis. *Reviews of infectious diseases*, 1988, 10: 103-110.
75. Gillespie WJ. Prevention and management of infection after total joint replacement. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 1997, 25: 1310-1317.
76. Foster TJ, Hook M. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*, 1998, 6: 484-488.

77. Greenberg DP, Bayer AS, Cheung AL, Ward JI. Protective efficacy of protein A-specific antibody against bacteremic infection due to *Staphylococcus aureus* in an infant rat model. *Infection and immunity*, 1989, 57: 1113-1118.
78. Littlewood-Evans AJ, Hattenberger MR, Luscher C, Pataki A, Zak O, O'Reilly T. Local expression of tumor necrosis factor alpha in an experimental model of acute osteomyelitis in rats. *Infection and immunity*, 1997, 65: 3438-3443.
79. Chihara S, Segreti J. Osteomyelitis. *Disease-a-month : DM*, 2010, 56: 5-31.
80. Cierny G, 3rd, Mader JT. Approach to adult osteomyelitis. *Orthopaedic review*, 1987, 16: 259-270.
81. Ciampolini J, Harding KG. Pathophysiology of chronic bacterial osteomyelitis. Why do antibiotics fail so often? *Postgraduate medical journal*, 2000, 76: 479-483.
82. Hamdy RC, Lawton L, Carey T, Wiley J, Marton D. Subacute hematogenous osteomyelitis: are biopsy and surgery always indicated? *Journal of pediatric orthopedics*, 1996, 16: 220-223.
83. Hamidanoğlu M. Osteomiyelitli Hastalarda Oksidan ve Antioksidan Kapasitelerin Değerlendirilmesi. Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Şanlıurfa: Harran Üniversitesi, 2011.
84. Zhuang H, Duarte PS, Pourdehand M, Shnier D, Alavi A. Exclusion of chronic osteomyelitis with F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging. *Clinical nuclear medicine*, 2000, 25: 281-284.
85. Ulutan F SA, Bölükbaşı S. Osteomiyelit. In: Topçu AW SG, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.*, ed. Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 1353-1362.

86. Lipsky BA. Bone of contention: diagnosing diabetic foot osteomyelitis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2008, 47: 528-530.
87. Dinh MT, Abad CL, Safdar N. Diagnostic accuracy of the physical examination and imaging tests for osteomyelitis underlying diabetic foot ulcers: meta-analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2008, 47: 519-527.
88. Pineda C, Vargas A, Rodriguez AV. Imaging of osteomyelitis: current concepts. *Infectious disease clinics of North America*, 2006, 20: 789-825.
89. Ram PC, Martinez S, Korobkin M, Breiman RS, Gallis HR, Harrelson JM. CT detection of intraosseous gas: a new sign of osteomyelitis. *AJR. American journal of roentgenology*, 1981, 137: 721-723.
90. Termaat MF, Raijmakers PG, Scholten HJ, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ. The accuracy of diagnostic imaging for the assessment of chronic osteomyelitis: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 2005, 87: 2464-2471.
91. Tehranzadeh J, Wong E, Wang F, Sadighpour M. Imaging of osteomyelitis in the mature skeleton. *Radiologic clinics of North America*, 2001, 39: 223-250.
92. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet*, 2004, 364: 369-379.
93. Gotz F. Staphylococcus and biofilms. *Molecular microbiology*, 2002, 43: 1367-1378.

94. Itokazu M, Yang W, Aoki T, Ohara A, Kato N. Synthesis of antibiotic-loaded interporous hydroxyapatite blocks by vacuum method and in vitro drug release testing. *Biomaterials*, 1998, 19: 817-819.
95. Mader JT, Shirliff ME, Bergquist SC, Calhoun J. Antimicrobial treatment of chronic osteomyelitis. *Clinical orthopaedics and related research*, 1999: 47-65.
96. Sipahi OR. Osteomyelit. In: Gündeş S (eds). *Deri, yumusak doku, eklem ve kemik enfeksiyonları*, ed. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008: 419-427.
97. Nejedly A, Dzupa V, Zahorka J, Tvrdek M. Muscle flap transfer of the treatment of infected tibial and malleolar fractures and chronic osteomyelitis of the tibia. *Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae Cechoslovaca*, 2007, 74: 162-170.
98. Tetsworth K, Cierny G, 3rd. Osteomyelitis debridement techniques. *Clinical orthopaedics and related research*, 1999: 87-96.
99. Cierny G, 3rd, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Clinical orthopaedics and related research*, 2003: 7-24.
100. Gunal I, Seber S, Kiraz N, Turkay S, Oztuna V, Gokturk E. [In vitro evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic impregnated xenografts]. *Revue de chirurgie orthopedique et reparatrice de l'appareil moteur*, 1996, 82: 59-62.
101. Huneault LM, Lussier B, Dubreuil P, Chouinard L, Desevaux C. Prevention and treatment of experimental osteomyelitis in dogs with ciprofloxacin-loaded crosslinked high amylose starch implants. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 2004, 22: 1351-1357.

102. Garvin KL, Hanssen AD. Infection after total hip arthroplasty. Past, present, and future. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 1995, 77: 1576-1588.
103. Davis JC, Heckman JD, DeLee JC, Buckwold FJ. Chronic non-hematogenous osteomyelitis treated with adjuvant hyperbaric oxygen. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 1986, 68: 1210-1217.
104. Nolan RL CS. *Bone and Joint Infections*. 5th. ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2003: 127-172.
105. Huang T, Bendo JA. Vertebral osteomyelitis. *Bulletin*, 2000, 59: 211-216.
106. Karwowska A, Davies HD, Jadavji T. Epidemiology and outcome of osteomyelitis in the era of sequential intravenous-oral therapy. *The Pediatric infectious disease journal*, 1998, 17: 1021-1026.
107. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free radical biology & medicine*, 2000, 29: 1106-1114.
108. Carragee EJ. Pyogenic vertebral osteomyelitis. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 1997, 79: 874-880.
109. Lambe DW, Jr., Ferguson KP, Mayberry-Carson KJ, Tober-Meyer B, Costerton JW. Foreign-body-associated experimental osteomyelitis induced with *Bacteroides fragilis* and *Staphylococcus epidermidis* in rabbits. *Clinical orthopaedics and related research*, 1991: 285-294.

110. Özdemir Köklü M. Bor İçerikli Nanomalzeme Üretim Olanaklarının Araştırılması. Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 2012.
111. Moseman RF. Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environmental health perspectives*, 1994, 102 Suppl 7: 113-117.
112. Saygıdeğer DB. Borun İnsan ve Bitki için Önemi ve Bazı Üzüm Çeşitlerinde Bor Tayini. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Adana 2005.
113. Acarkan N. Bor ürün çeşitleri ve kullanım alanları. *Uluslararası Bor Sempozyumu Kitabı.*, 2002.
114. Miçillioğlu S. Lactuca Sativa Bitkisi Kullanılarak Bor Konsantrasyonu Yüksek Suların Arıtılabilirliğinin Araştırılması. Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı. Adana: Çukurova Üniversitesi, 2010.
115. Lahiri D, Singh V, Benaduce AP, Seal S, Kos L, Agarwal A. Boron nitride nanotube reinforced hydroxyapatite composite: mechanical and tribological performance and in-vitro biocompatibility to osteoblasts. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2011, 4: 44-56.
116. Baker SJ, Akama T, Zhang YK, Sauro V, Pandit C, Singh R, Kully M, Khan J, Plattner JJ, Benkovic SJ, Lee V, Maples KR. Identification of a novel boron-containing antibacterial agent (AN0128) with anti-inflammatory activity, for the potential treatment of cutaneous diseases. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2006, 16: 5963-5967.

117. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(T)(-Delta Delta C) method. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
118. An YH, Friedman RJ. Animal models of orthopedic implant infection. *Journal of investigative surgery : the official journal of the Academy of Surgical Research*, 1998, 11: 139-146.
119. O'Shea DC, Bartlett ML, Young RA. Compositional analysis of apatites with laser-Raman spectroscopy:(oh,f,cl)apatites. *Archives of oral biology*, 1974, 19: 995-906.
120. Griffith WP. Raman studies on rock-forming minerals. Part II. Minerals containing MO₃, MO₄, and MO₆ groups. *J Chem Soc*, 1970: 286-291.
121. De Aza PN GF, Santos C, De Aza S, Cusco R, Artus L. Vibrational investigation of calcium phosphate compounds 2. Comparison between hydroxyapatite and b-tricalcium phosphate. *Chemical Materials*, 1997, 9: 916-922.
122. Tsuda H, Arends J. Raman spectra of human dental calculus. *Journal of dental research*, 1993, 72: 1609-1613.
123. Sauer GR, Zunic WB, Durig JR, Wuthier RE. Fourier transform Raman spectroscopy of synthetic and biological calcium phosphates. *Calcified tissue international*, 1994, 54: 414-420.
124. Ugarov M, Ageev VP, Konov, VI Chemical vapour deposition of boron nitride films stimulated by ultraviolet radiation pulses from a KrF excimer laser. *Quantum Electronics*, 1995, 25: 679-683.

125. Ugarov MV AV, Karabutov AV. UV laser induced interfacial synthesis of CN-BCN layers on diamond films in borazine and ammonia. *Applied Surface Science*, 1999, 138-139: 359-363.
126. Lian G ZX, Zhu L, Tan M, Cui D, Wang Q. A facile solid state reaction route towards nearly monodisperse hexagonal boron nitride nanoparticles. *J. Mater. Chem*, 2010, 20: 3736-3742.
127. Yılmaz MT. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. *Turk J Med Sci*, 2012, 42 1423-1429.
128. Bjorksten B, Boquist L. Histopathological aspects of chronic recurrent multifocal osteomyelitis. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 1980, 62: 376-380.
129. Brin YS, Nyska A, Domb AJ, Golenser J, Mizrahi B, Nyska M. Biocompatibility of a polymeric implant for the treatment of osteomyelitis. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 2009, 20: 1081-1090.
130. Bruder E, Jundt G. Pathology of Osteomyelitis. In: Baltensperger M, GK E (eds). *Ostemyelitis of the Jaws*, ed. 2009: 125.
131. Kawabata Y, Semba I, Hirayama Y, Koga T, Nagao S, Takada H. Wax D of Mycobacterium tuberculosis induced osteomyelitis accompanied by reactive bone formation in Buffalo rats. *FEMS immunology and medical microbiology*, 1998, 22: 293-302.
132. Nandi SK, Kundu B, Ghosh SK, De DK, Basu D. Efficacy of nano-hydroxyapatite prepared by an aqueous solution combustion technique in healing bone defects of goat. *Journal of veterinary science*, 2008, 9: 183-191.

133. Aydin A, Halici Z, Albayrak A, Polat B, Karakus E, Yildirim OS, Bayir Y, Cadirci E, Ayan AK, Aksakal AM. Treatment with Carnitine Enhances Bone Fracture Healing under Osteoporotic and/or Inflammatory Conditions. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 2015.
134. Huang RL, Yuan Y, Tu J, Zou GM, Li Q. Opposing TNF-alpha/IL-1beta- and BMP-2-activated MAPK signaling pathways converge on Runx2 to regulate BMP-2-induced osteoblastic differentiation. *Cell death & disease*, 2014, 5: e1187.
135. Wahl EC, Aronson J, Liu L, Skinner RA, Miller MJ, Cockrell GE, Fowlkes JL, Thrailkill KM, Bunn RC, Ronis MJ, Lumpkin CK, Jr. Direct bone formation during distraction osteogenesis does not require TNFalpha receptors and elevated serum TNFalpha fails to inhibit bone formation in TNFR1 deficient mice. *Bone*, 2010, 46: 410-417.
136. Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and Paradoxical Effects of TNF-alpha on Bone Homeostasis. *Frontiers in immunology*, 2014, 5: 48.
137. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2001, 16: 1004-1014.
138. Frost A, Jonsson KB, Nilsson O, Ljunggren O. Inflammatory cytokines regulate proliferation of cultured human osteoblasts. *Acta orthopaedica Scandinavica*, 1997, 68: 91-96.

139. Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10-year update. *Physiological reviews*, 2012, 92: 689-737.
140. Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 2011, 75: 50-83.
141. Schett G. Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone. *European journal of clinical investigation*, 2011, 41: 1361-1366.
142. Yang N, Wang G, Hu C, Shi Y, Liao L, Shi S, Cai Y, Cheng S, Wang X, Liu Y, Tang L, Ding Y, Jin Y. Tumor necrosis factor alpha suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2013, 28: 559-573.
143. Zhao B, Grimes SN, Li S, Hu X, Ivashkiv LB. TNF-induced osteoclastogenesis and inflammatory bone resorption are inhibited by transcription factor RBP-J. *The Journal of experimental medicine*, 2012, 209: 319-334.
144. Chen G, Deng C, Li YP. TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *International journal of biological sciences*, 2012, 8: 272-288.
145. Reddi AH. Initiation of fracture repair by bone morphogenetic proteins. *Clinical orthopaedics and related research*, 1998: S66-72.
146. Rosen V. BMP2 signaling in bone development and repair. *Cytokine & growth factor reviews*, 2009, 20: 475-480.

147. Ducey P. Cbfa1: a molecular switch in osteoblast biology. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*, 2000, 219: 461-471.
148. Kempen DH, Lu L, Hefferan TE, Creemers LB, Maran A, Classic KL, Dhert WJ, Yaszemski MJ. Retention of in vitro and in vivo BMP-2 bioactivities in sustained delivery vehicles for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2008, 29: 3245-3252.
149. Kim TH, Yun YP, Park YE, Lee SH, Yong W, Kundu J, Jung JW, Shim JH, Cho DW, Kim SE, Song HR. In vitro and in vivo evaluation of bone formation using solid freeform fabrication-based bone morphogenetic protein-2 releasing PCL/PLGA scaffolds. *Biomedical materials*, 2014, 9: 025008.
150. Asamura S, Mochizuki Y, Yamamoto M, Tabata Y, Isogai N. Bone regeneration using a bone morphogenetic protein-2 saturated slow-release gelatin hydrogel sheet: evaluation in a canine orbital floor fracture model. *Annals of plastic surgery*, 2010, 64: 496-502.
151. Kim S, Tsao H, Kang Y, Young DA, Sen M, Wenke JC, Yang Y. In vitro evaluation of an injectable chitosan gel for sustained local delivery of BMP-2 for osteoblastic differentiation. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 2011, 99: 380-390.
152. Hagiwara K, Goto T, Araki M, Miyazaki H, Hagiwara H. Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss. *European journal of pharmacology*, 2011, 662: 78-84.
153. Rawadi G, Vayssiere B, Dunn F, Baron R, Roman-Roman S. BMP-2 controls alkaline phosphatase expression and osteoblast mineralization by a Wnt autocrine loop.

Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research, 2003, 18: 1842-1853.

154. Itokazu M, Ohno T, Tanemori T, Wada E, Kato N, Watanabe K. Antibiotic-loaded hydroxyapatite blocks in the treatment of experimental osteomyelitis in rats. *Journal of medical microbiology*, 1997, 46: 779-783.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı : Irmak FERAH Doğum tarihi : 27.10.1985 Doğum yeri : Erzurum Medeni hali : Bekar Uyruğu : T.C. Adres : Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel : 0442 344 87 23 Faks : 0442 236 13 01 E-mail : irmakferah@atauni.edu.tr</p>
Eğitim
<p>Lise : Erzurum Anadolu Lisesi (2003) Lisans : Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2004-2009) Yüksek lisans : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı (2010-2012) Doktora : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı (2012-2015)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce : İyi derecede (ÜDS 78.750, Mart 2010) Almanca : Rusça :</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>Türk Farmakoloji Derneği.....</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>.....</p>

EK-2. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-126

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

31.07.2014
ERZURUM


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 24.06.2014 tarih ve 42190979-01-02/2901 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Moleküler Farmakoloji Laboratuvarında yürütülecek olan "**Ratlarda Deneysel Olarak Açık Femur Kırığı Zemininde Oluşturulan Osteomiyelit Modelinde Farklı Oranlardaki Hidroksiapatit ve/veya Bor Nitrür'ün Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 25.07.2014 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 102 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.


Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
24.08.2014

Toplantı Tarihi : 25.07.2014

Toplantı Sayısı : 5

KARAR NO : 102- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Moleküler Farmakoloji Laboratuvarında yürütülecek olan "**Ratlarda Deneysel Olarak Açık Femur Kırığı Zemininde Oluşturulan Osteomiyelit Modelinde Farklı Oranlardaki Hidroksiapatit ve/veya Bor Nitrür'ün Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 24.06.2014 tarih ve 42190979-01-02/2901 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

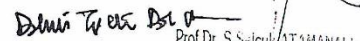
Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM

Telefon : 0-442-231 47 30

Fax : 0-442-231 55 63

e-mail: hadyek@atauni.edu.tr


Prof. Dr. S. Selçuk ATAMANALI
Dekan
08 Ağustos 2014