

DENEYSEL KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ASETİL SALİSİLİK ASİT'İN ETKİSİ

Mehmet Tuncel*, Ali Baktır**, Eyüp S Karakaş**, Mahmut Argün*, Turhan Okten***, Ömer Akbeyaz****, Figen Öztürk*****

The effect of acetylsalicylic acid on experimental fracture repair

Özet: Asetil salisilik asit (ASA) tedavisinin kırık iyileşmesi üzerine etkisini belirlemek için yapılan bu deneysel çalışmada; kullanılan her bir tavşanın sağ arka bacağında standart tibia kırığı oluşturuldu. Deney grubu tavşanlara 60 mg/kg/gün dozunda ASA serum fizyolojik emülsiyon haline getirilerek verildi. Aynı miktarda serum fizyolojik kontrol grubuna plasebo olarak verildi. Yedi, ondört, yirmisekiz ve elli altı gün sonra tavşanlar öldürülerek; kırık kemik ve çevre adale dokusundan Prostaglandin E₂ (PGE₂) izolasyonu, radyolojik inceleme ve histokantitatif ölçümler yapılarak kırık iyileşme durumu belirlenmeye çalışıldı.

Sonuçta deney grubu tavşanlarda PGE₂ değerlerinin kontrol gruplarına göre daha düşük seviyelerde olduğu görüldü. Radyolojik ve histolojik ölçümler sonucunda; 60 mg/kg/gün dozundaki ASA'nın, kırık iyileşme hızıyla birlikte yeni kemik sentezini azalttığı ve bu etkisini PGE₂ sentezini inhibe ederek yaptığı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kırık iyileşmesi, asetil salisilik asit

Summary: This experimental study is planned to evaluate the effects of acetylsalicylic acid (ASA) treatment upon fracture healing. Standart tibia fracture was made at right legs of all rabbits. ASA was administered as an emulsion prepared with 0.9 % sodium chloride to experimental groups of rabbits in a dosage of 60 mg/kg/day. Same amounts of 0.9 % sodium chloride was given to control group as placebo. After the rabbits are killed on 7th, 14th, 28th, and 56 th days, we tried to determine the healing of the bone by isolating PGE₂ from the broken bone and surrounding muscle tissue, with X-ray examination, and histoquantitative measurements.

As a result of radiological and histological measurements, it was concluded that ASA in 60 mg/kg/day dose reduced new bone formation and prolonged the fracture healing by inhibiting the PGE₂ synthesis.

Key words: Fracture repair, acetylsalicylic acid

* E.Ü. Tıp Fak. Ort. ve Travmatoloji ABD Öğretim Görevlisi

** E.Ü. Tıp Fak. Ort. ve Travmatoloji ABD Öğretim Üyesi

*** E.Ü. Tıp Fak. Patoloji ABD Öğretim Üyesi

**** E.Ü. Tıp Fak. Biyokimya ABD Araştırma Görevlisi

***** E.Ü. Tıp Fak. Patoloji ABD Öğretim Görevlisi

Kırık iyileşmesi, kırığa neden olan travmayla birlikte başlamaktadır. Travmadan sonra ödemle şişliği azaltmak ve analjezik etki sağlamak için nonsteroid antienflamatuvar ilaçlar (NSAID) sıklıkla kullanılmaktadır. Bu gruptan özellikle Indometazin ile yapılan çalışmalarda deneysel kırık iyileşmesinin, dozun yüksekliğiyle ilişkili olarak geciktiği gösterilmiştir (1,13,24,30). Klinikte indometazinin bu etkisinden, özellikle kalça cerrahisinden sonra istenmeyen heterotopik kemik oluşumunu önlemek amacıyla faydalanılmış ve iyi sonuçlar alınmıştır (18,23). Bunun yanında ratlarda asetil salisilik asit (ASA) ile yapılan deneysel çalışmada, bu ilacın yüksek dozda kullanıldığı zaman kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (1). Travma sonrası kullanılacak NSAID'lerin kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği her zaman göz önünde tutulmalıdır (20).

Bu çalışmada ucuz ve etkin bir NSAID olan ASA'nın tavşanlarda kırık iyileşmesi üzerine 60 mg/kg/gün dozda olan etkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 48 erkek Yeni Zelenda tipi albino, immatür tavşan kullanıldı. Tavşanların yaşları 3-4 ay, ağırlıkları 2100-2900 g arasındaydı.

Deneysel kırık oluşturmak için Dekel'in oluşturduğu kırık modeli kullanıldı. Açıketer anestezi altında tibia cismi 1/3 orta bölgesinden transvers olarak osteotomize edilerek intramedüller kirshner teli ile tesbit edildi (5). Ameliyattan sonraki günlerde deneklerin kırık bacakları üzerine basmalarına izin verildi ve kafeslerinde serbest bırakıldı. Tavşanlara profilaktik amaçla ameliyatın 1 saat öncesinden

başlamak üzere 60 mg/kg/gün Sefradin® 4 gün süreyle intramüsküler olarak verildi. Toplam 48 tavşanın 24'ü deney, 24'ü kontrol grubu olarak ayrıldı. Deney grubu tavşanlara ameliyattan bir gün sonra başlayarak sabah-akşam 2 doz halinde 60 mg/kg/gün ASA verildi. ASA iğnesi çıkarılan enjektörde 1 cc serum fizyolojik emülsiyon haline getirildi ve enjektörün ucu hayvanın ağzına sokularak emülsiyon boşaltıldı (26). Kontrol grubuna da 1 cc serum fizyolojik plasebo olarak aynı şekilde verildi. Deney grubu ve kontrol grubu tavşanlar kendi aralarında dört alt gruba ayrıldılar. Böylece her birinde altı tavşan bulunan dört deney, dört de kontrol alt grubu teşekkül ettirildi.

Her bir tavşan deney süresi tamamlandıktan sonra son dozu takiben, yüksek doz pentotal verilerek öldürüldü. Tavşanın sağ tibiası, tibialis anterior adalesiyle beraber alındı ve radyolojik inceleme için 2 yönlü röntgen grafileri çekildi. Daha sonra tibialis anterior adalesiyle birlikte, kırık hattı ortaya gelecek şekilde tibianın her iki tarafından 2 cm'lik bir kısım uzunlamasına ortadan olacak şekilde bir yarısı kemik makasıyla kesildi ve kemik ile adelede Prostaglandin E₂ tayini için Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'na götürüldü. Geri kalan tibia etraf yumuşak dokulardan temizlenerek histolojik inceleme için Patoloji Bölümünde rutin doku takibine alındı.

Kemik ve adale dokusundan, PGE₂ izolasyonu ve kantitatif ölçümü, Dekel ve arkadaşları (5)'nin yöntemi modifiye edilerek, radioimmünoassay metoduyla, " (3H) Prostaglandin E Radioimmünoassay Kit Cat. no CA-501 DAde Baxter Travenol Diagnostics Inc" isimli kit kullanılarak yapıldı.

Her bir tavşandan etraf adale dokusuyla

birlikte çıkarılan sağ tibianın iki yönlü röntgen grafileri çekildi. Kantitatif tayinde Molster ve ark'nın (19) metodu kullanılarak her bir ön-arka grafide kırık bölgesindeki en geniş kal dokusunun çapı ölçüldü ve ölçülen kal dokusunun yan gralideki kesitinde çapı tekrar ölçüldü. Bulunan bu iki çap aracılığıyla kal dokusunun en geniş bölgesinde elips şeklindeki kesit alanı bulunarak her bir hayvanın kırık hattından geçen en geniş transvers kesitteki kallus dokusu yüzey alanı hesaplandı. Ayrıca radyolojik görüntüde kallus dokusunun düzenliliği değerlendirildi. Tavşanlardan çevre adale dokusuyla beraber alınan sağ tibia yumuşak dokulardan tamamen temizlenerek % 5'lik formalinle 1 gün tespit edildi. Sonra % 5'lik nitrik asitle muamele edilerek dekalsifiye edildi ve parçalar distile suda yıkandı. Kırık hattı ortaya gelecek şekilde her iki fragmanda katedilecek şekilde mikrotomla longitudinal kesitler alınarak Hematoksilen Eozin ile boyandı. Kallus dokusunun ışık mikroskopunda histolojik incelenmesi yanında "lane sampling" metodu kullanılarak kallus dokusu komponentlerinin kantitatif tayini yapıldı (25). Kantitatif inceleme, preparat kod numaraları hakkında bilgi sahibi olmayan patoloğ tarafından Carl-Zeiss Jena marka mikroskopta 6.3 büyütmede "eyepiece screw micrometer" ekipmanı kullanılarak gerçekleştirildi. Longitudinal kesit preparatları üzerinde birer mikroskop alanı genişliğinde transvers istikamette ve eşit aralıklı en az 4 adet saha belirlendi. Her bir sahadaki lineer transvers çizgiye karşılık gelen kallus komponentleri; kemik boşluğu, fibröz doku, hyalin kıkırdak dokusu, kalsifiye kıkırdak dokusu ve yeni kemik dokusu olmak üzere yüzde oranları şeklinde belirlendi. Bu lineer yüzde ölçüm ortalamaları her bir tavşan için hesaplanarak deney ve kontrol grubu hayvanların histokantitatif karşılaştırılmalarında kullanıldı. Kırık

modelimizdeki iyileşme daha ziyade eksternal kallusla olduğundan kemik iliği oluşumlarını kemik boşluğu olarak değerlendirdik (7).

Bu çalışmamızda bulgular değerlendirilirken;

- Mann-Whitney U testi,
- Student t testi kullanıldı (28).

BULGULAR

Çalışmamızın yapıldığı 48 erkek tavşandan 8'i çeşitli sebeplerden dolayı (5 tavşan ishalden, birisi sebebini bilemediğimiz bir nedende öldü, birisinde osteomyelit gelişti) çalışmadan çıkarıldı. Ölen tavşanlara yapılan otopside ASA'nın gastrointestinal sistemde makroskopik yan etkisine rastlanmadı.

a. Kemik ve Adale Dokusunda Prostaglandin E2 (PGE2) Ölçüm Sonuçları

Yedi, 14, 28 ve 56 günlük deney ve kontrol gruplarında kemik ve adelede ayrı ayrı PGE2 seviyeleri tayin edildi (Tablo I ve II). Ortalama PGE2 seviyelerini bütün deney gruplarımızda kendi kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde düşük olarak bulduk ($P < 0.05$) (Tablo I, II).

b. Radyolojik Sonuçlar

Yedi günlük deney ve kontrol grubu hayvanların röntgen grafilerinde görülebilen yeterli kallus dokusu oluşmadığından radyolojik ölçüm yapılamadı. Ondört günlük deney grubu tavşanlarda ölçülen kallus dokusu kesit alanı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha azdı ($P < 0.05$) (Tablo III). Yirmisekiz ve 56 günlük deney ve kontrol grupları arasında kallus dokusu kesit alanı yönünden istatistiki bir fark yoktu. Fakat röntgen grafileri gözden geçirildiğinde 28 ve 56 günlük deney gruplarında, kontrol gruplarına göre kırık hattı civarındaki kallus

Tablo I. Kemik Dokusunda Bulunan PGE2 Sonuçları (nanogram / 1 gram yaş doku)

Alt Gruplar	DENEY GRUBU		KONTROL GRUBU		t	P
	n	$\bar{X} \pm SD$	n	$\bar{X} \pm SD$		
7 günlük	6	8.7 ± 1.10	5	13.8 ± 1.56	5.29	< 0.05
14 günlük	5	8.32 ± 1.22	5	16.82 ± 1.69	9.12	< 0.05
28 günlük	5	4.52 ± 0.80	4	8.37 ± 1.11	5.85	< 0.05
56 günlük	6	4.75 ± 0.36	4	6.93 ± 1.18	3.59	< 0.05

n: Denek sayısı, \bar{X} : Ortalama, SD: Standart sapma

Tablo II. Adale Dokusunda Bulunan PGE2 Sonuçları (nanogram / 1 gram yaş doku)

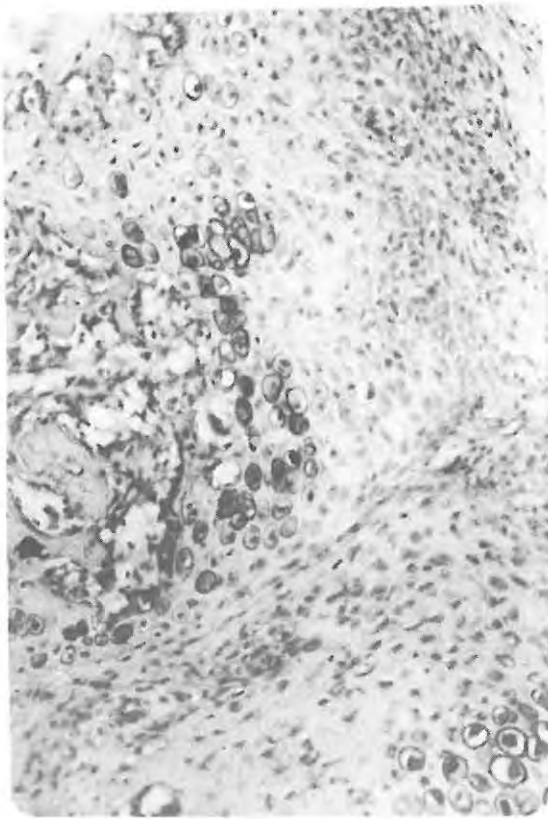
Alt Gruplar	DENEY GRUBU		KONTROL GRUBU		t	P
	n	$\bar{X} \pm SD$	n	$\bar{X} \pm SD$		
7 günlük	6	42.48 ± 3.76	5	84.72 ± 5.60	14.37	< 0.05
14 günlük	5	50.32 ± 3.59	5	83.38 ± 6.10	10.45	< 0.05
28 günlük	5	2.64 ± 0.19	4	3.90 ± 0.47	5.01	< 0.05
56 günlük	6	4.05 ± 0.56	4	5.5 ± 0.79	3.19	< 0.05

n: Denek sayısı, \bar{X} : Ortalama, SD: Standart sapma

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

Alt Gruplar	DENEY GRUBU		KONTROL GRUBU		t	P
	n	$\bar{X} \pm SD$	n	$\bar{X} \pm SD$		
14 günlük	5	60.6 ± 7.15	5	73.95 ± 7.30	2.92	< 0.05
28 günlük	5	94.98 ± 11.23	4	99.10 ± 4.52	0.75	> 0.05
56 günlük	6	77.32 ± 10.07	4	84.19 ± 15.15	0.80	> 0.05

n: Denek sayısı, \bar{X} : Ortalama, SD: Standart sapma



a



b

Resim 1. 28 Günlük Deney (a) ve Kontrol (b) Grubuna Ait İki Tavşan Tibiasının Radyolojik Görünümü. (a)'da kallus dokusunun kırık hattı yakınlarında fuziform görünümü kısmen kaybettiği görülmektedir. (b)'de normal kırık iyileşmesi görülmektedir.

dokusunun düzensizliği göze çarpıyordu ve özellikle kırık hattı etrafında fuziform kallus görüntüsü bozulmuştu (Resim 1). Kontrol gruplarındaki kallus düzenli ve fuziform görünümdeydi.

c. Histolojik Sonuçlar

Yedi Günlük Bulgular: Bir haftalık gruptaki tavşanların histolojik kesitleri incelendiğinde, kırık uçları arasında fibröz doku ve hyalin kıkırdak daha yoğunlukta idi. Yeni kemik

oluşumuna rastlanmadı. Deney grubunda, kontrol grubuna göre hyalin kıkırdak anlamlı olarak azdı (U=26, P < 0.05) (Grafik 1).

Ondört Günlük Bulgular: Deney grubunda hyalin kıkırdak kontrol grubuna göre belirgin olarak daha fazlaydı ve kantitatif ölçüm yapılan alanın yarısı hyalin kıkırdaktı. Kontrol grubunda deney grubuna göre kalsifiye kıkırdak hayli çoktu ve yeni kemik teşekkülü istatistiki bakımdan anlamlı olarak fazlaydı (U=25, P<0.05).

Yirmisekiz Günlük Bulgular: Her iki grupta da hakim olan histolojik doku, oluşan yeni kemik dokusudur. Kantitatif ölçümde fibröz doku, hyalin kıkırdak ve kalsifiye kıkırdak deney grubunda istatistiki olarak anlamlı şekilde kontrol grubuna göre fazlaydı. Deney grubunda % 35.51 oranında yeni kemik teşekkülü varken, kontrol grubunda bu oran % 40.16 olarak bulunmuştur. Aradaki fark istatistiki yönden yine anlamlıydı (U=22, P<0.05).

Elliüç Günlük Bulgular: Histolojik alanlarda yeni kemik dokusu iyice belirginleşmişti. Fibröz doku ve kalsifiye kıkırdak yine belirgin olarak deney grubunda fazlaydı. Buna karşılık deney grubu tavşanlarda yeni kemik doku oranı % 42.89 iken, kontrol grubunda % 50.52 idi. Aradaki fark yine anlamlıydı (U=24, P<0.05) (**Resim 2**).

TARTIŞMA

Kırık iyileşmesi; mekanik ve moleküler-biyolojik faktörler arasında karşılıklı yardımlaşmayla oluşturulan kompleks bir mekanizmadır (11). Kırık iyileşmesine en uygun model, kemik remodelinginin hızlı oluşan bir şekli gibi düşünülmektedir (16).

Kemik fonksiyonel veya metabolik taleplere göre yapısını ve bileşimini değiştirebilme yeteneğindedir. Kemik rezorbsiyonu ile oluşumu lokal hormonal faktörlerin etkisiyle düzenlenir ve yıkım ile yapım arasında kenetleyici faktörlere gereksinme vardır (9,21). Bilinen kenetleyici faktörler arasında Kemik Morfojenetik Proteini (BMP), growth faktörler ve PGE2 sayılabilir (21, 22). Vaes (31)'e göre TGF- β haricindeki growth faktörler etkilerini PGE2 üzerinden göstermektedir. Drvaric ve arkadaşları (6) Patent Ductus Arteriosus'lu bir vakalarında tedavi amacıyla oral PGE2 vermiş ve uzun

kemiklerde subperiostal yeni kemik yapımında artma bulmuşlardır. Chyun ve Raisz (4) oral PGE2 verilmesinin deneysel kırık iyileşmesini hızlandırdığını göstermişlerdir.

Daha önce yapılan araştırmaların çoğunda yüksek doz antiinflamatuvar kullanıldığında kırık oluşması ve ilaç tedavisinin devam etmesi durumunda olabilecek değişiklikleri gözlemek amacıyla; kırık modeli oluşturulmadan 4-5 gün önce ilaç verilmesine başlanılmıştır (13-15, 21, 30). Bir kısım araştırmacı da kırık modellerini oluşturdukları gün ilaç vermeye başlamışlardır (1, 8, 24, 30). Çalışmamızda hayvanlara NSAID'lerin özellikle erken devrede kırık iyileşmesine olumsuz etki yaptığı (21, 24) ve kırık bölgesindeki kanamanın 24 saat devam ettiği (7) göz önüne alınarak, kırık modelini oluşturduktan 1 gün sonra ilk doz ilaç verildi.

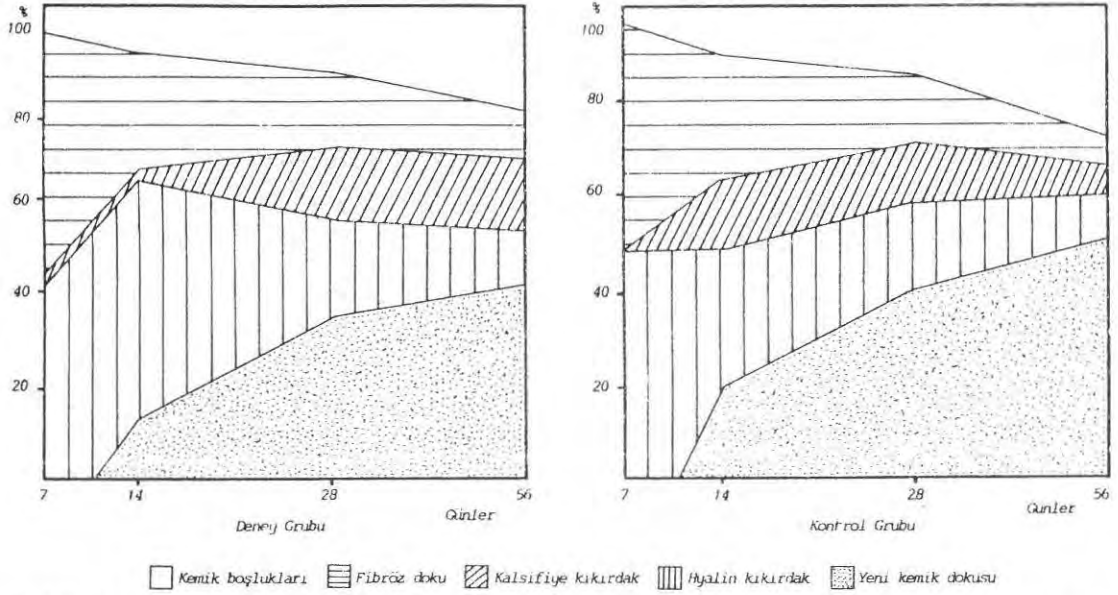
Deneysel kırık iyileşmesini araştırmak için değişik yazarlar, çeşitli metodlar kullanmışlardır (1, 12, 14, 15, 21, 24, 30). Biz Dekel ve ark.nın (5) kullandığı kırık modelini oluşturduk. Bu modelde kırıktan sonra rijit olmayan bir intramedüller tespit yapıldığından iyileşme daha ziyade eksternal kallusla oluşmakta, radyolojik ve histolojik bulguların değerlendirilmesinde faydalar sağlamaktadır. Yedinci ve 14.günlerde kemikte ve özellikle adelede normal seviyelerden hayli yüksek PGE₂ değerleri bulduk. Bunun direkt travmanın etkisi yanında K teliyle rijit yapılan intramedüller tespitden dolayı yük bindirmeye hemen izin verilmesi ve kırık uçlar arasında az miktarda devamlı mevcut olan hareket sonucu olduğu görüşü öne sürülmüştür (5,11). Başlangıçta adele dokusunun direkt hasara uğramamasına rağmen PGE₂ seviyelerinin kemik dokusuna göre daha yüksek olmasında temel sebebin, gelişen

kallus dokusunun adale dokusunu direkt olarak etkilemesi ile kırık uçlarındaki minimal fakat devamlı olarak bulunan hareketliliğin adalede mikrotravmalara sebep olması ve kırık uçlarında bu hareket devam devam ettiği sürece PGE₂ değerlerinin de yüksek olarak seyredeceği öne sürülmektedir (5,10).

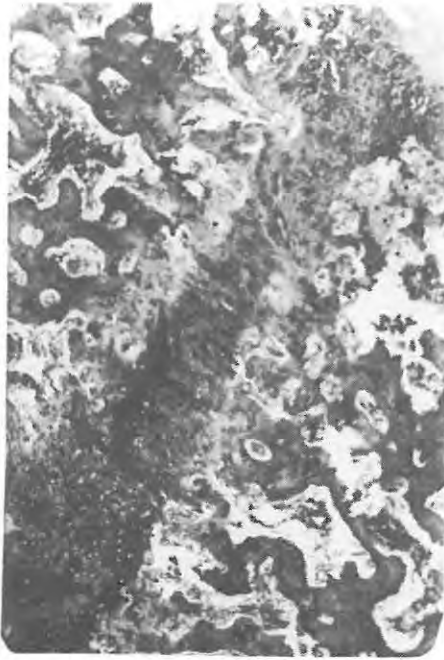
Kırık sonrası etraf adalelerin mezenkimal hücrelerinde çoğalma gösterilmiştir (29). Bu PG'lerin hücre bölünmesini etkileyerek hücre çoğalmasını uyarmasıyla ilgili olabilir (2,5). Buna bağlı olarak 7. ve 14. günlerde deney gruplarımızda ASA'nın etkisiyle daha düşük olarak bulduğumuz PGE₂ seviyelerinin hücre çoğalmasını daha az uyaracağı düşünülebilir. İndometazin'le yapılan deneysel çalışmalarda 2 mg/kg/gün üzerindeki dozlarla tedavi edilen hayvalarda histolojik olarak daha çok fragmanların çevresinde fibröz doku oranında artma bulundu ve özellikle erken dönemde olumsuz etkinin görüldüğü söylendi (1, 14, 21, 24). ASA ile yapılan deneysel çalışmada 300 mg/kg/gün dozla kırık iyileşmesinin bozulduğu . 100 mg/kg/gün ve 200 mg/kg/gün dozda da olumsuz biyolojik etkilerin olduğu, kırık uçların çevresinde daha ziyade kırık dokusu hakimiyetinin bulunduğu kaydedilmiştir. Kırık dokusu hücreleri 4. günde görülmeye başlamaktadır (10). Yedi günlük deney ve kontrol grubunda yaptığımız histokantitatif ölçümde, hyalin kırık dokusunu miktarını deney grubunda daha az olarak bulduk. Bu fibröz dokudan, hyalin kırık dokuya farklılaşmada bir gecikme olduğunun göstergesi olabilir. Dolayısıyla bizim verdiğimiz dozdaki ASA'yla meydana gelen düşük PGE₂ seviyesi, bilinen hücre çoğalmasına etkisi yanında, hücre farklılaşmasını da yavaşlattığı sonucunu düşündürülebilir. Ondört günlük deney grubumuzda hyalin kırık dokusu, ölçüm yapılan sahanın yarısını oluşturmaktaydı. Yine bu gruptaki kalsifiye kırık dokusu miktarı ölçüm

yapılan sahanın % 1.52'sini meydana getirmektedir. Ondört günlük kontrol grubumuzda ise hyalin kırık dokusu ölçüm yapılan sahanın % 28.77'sini, kalsifiye kırık dokusu % 14.46'sını oluşturmaktadır. Bu durum, deney grubunda kallus doku mineralizasyonunda bir gecikme olabileceğini düşündürmektedir. PG'lerin kalsiyumun hücre zarı içine veya dışına hareketini kolaylaştırması ve NSAID'lerin hücre zarlarındaki kalsiyum bağlayıcılarını inhibe ederek mineralizasyonu etkilemesiyle izah edilebilir (2,17). Keller ve arkadaşları deneysel kırık iyileşmesi üzerine indometazinin etkisini araştırdıkları çalışmalarında kemik mineral içeriğinin deney grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır (13). Röntgende kallus görüntüsü kalsiyum içeriğinden dolayı olmaktadır (9). Ondört günlük deney grubunda en geniş kallus doku alanının transvers kesitteki miktarını kantitatif olarak ölçtük ve kontrol grubumuza göre anlamlı olarak düşük bulduk. Bu mineralizasyonda bir gecikmeyle izah edilebilir ve histolojik bulgularımızla da uyumludur. Ro ve arkadaşları, ratlarda tespit edilmemiş kapalı femur kırıklarının iyileşmesi üzerine 2 mg/kg/gün dozunda indometazin'in etkisini araştırdıkları çalışmalarında da bu gecikmeyi tespit etmişlerdir (24).

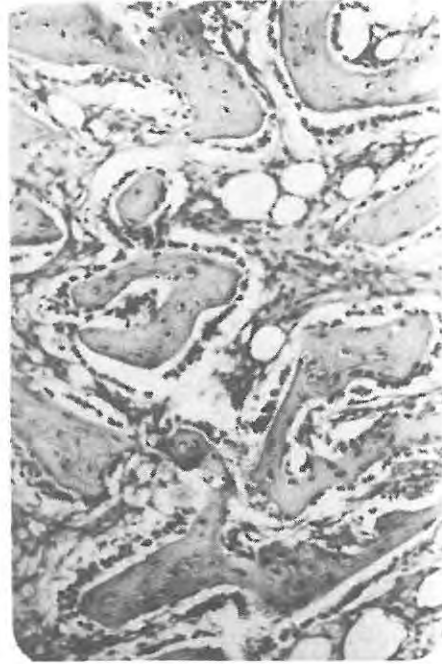
Yirmisekiz günlük deney ve kontrol gruplarında, kemik ve özellikle adale dokularında PGE₂ seviyelerinde, 7 ve 14 günlük deney ve kontrol gruplarına göre ani bir düşme görülmektedir. Bu durum artık belirli bir kaynamanın meydana gelmesiyle beraber kırık uçlarında bulunan devamlı az miktardaki hareketin kaybolması ve buna bağlı olarak sürekli mikrotravmalarla adalede meydana gelen irritasyonun ortadan kalkmasına bağlanabilir (5,15). Radioimmünoassay yöntemiyle bulduğumuz



Şekil 1. Kontrol Grubu ve Asetil Salisilik Asit Uygulanan Guruptaki Tavşanların Kallus Dokularını Oluşturan Komponentlerin Yüzde Oranları Görülmektedir.



Resim 2. 56 Günlük Deney Grubu Tavşanda Histolojik Görünüm Yeni kemik gelişimiyle birlikte kırık hattında kıkırdak ve kalsifiye kıkırdak dokusu izleniyor (HEX175)



Resim 3. 56 Günlük Kontrol Grubu Tavşanda Histolojik Görünüm: İyi gelişmiş yeni kemik dokusu, osteoblastik aktivite belirgin. Kemik iliği alanları gelişmekte (HEX175)

PGE₂ seviyesindeki kantitatif ölçüm değerlerimiz; bu konuda değerli çalışmaları bulunan Dekel ve ark (5)'nin benzer yöntemle yaptıkları çalışma ile Berkman ve ark (3)'nin elde ettikleri sonuçlarla değişik doku ve zamanla ilgili, artma ile azalmaların karşılaştırılması yönünden paralellik göstermektedir. Ayrıca deney gruplarımızda, kontrol gruplarımıza göre olan anlamlı düşme, ilaç verme yöntemimiz ve seçilen dozun uygun olduğunu göstermektedir.

Yirmisekiz günlük röntgen grafilerinde yaptığımız kantitatif ölçümlerde anlamlı bir fark tespit etmedik. Röntgen grafilerini kantitatif olarak değerlendirdiğimizde, deney grubumuzdaki hayvanlarda genel olarak kırık hattı civarında, kallus doku görüntüsü fuziform görünümünü bir miktar kaybetmişti. Kontrol grubumuzda bulunan hayvanlarda ise normal fuziform kallus görüntüsü devamlıydı. Bu durum deney grubunda kallus doku düzenliliğinin az da olsa bozulduğunu düşündürebilir. Yirmisekiz günlük deney grubumuzda histokantitatif ölçüm yaptığımız alanda fibröz doku, hyalin kırık ve kalsifiye kırık kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazlaydı. Yeni kemik oluşumu deney grubunda daha az bulundu. Burada yine deney grubumuzda mevcut olan daha düşük PGE₂ seviyesi sonucu, hücre çoğalması ve farklılaşması üzerine uyarıcı etkisinin, kontrol grubuna göre daha az olduğunu düşünebiliriz (2,5).

Ellialtı günlük gruplarımızdaki PGE₂ seviyeleri, 28 günlük gruplarımızdaki seviyelerle hemen hemen aynıdır. Röntgen kantitatif bulgularımızda anlamlı bir farklılık yoktu. Sadece deney grubu kallusunda az da olsa düzensizlik mevcuttu. Yirmisekiz günlük deney ve kontrol grubu tavşanlara göre 56 günlük deney ve kontrol grubu tavşanlarda

görülen kallus dokusundaki azalma beklenen bir sonuç olup, ilk bir aydan sonra görülen remodelizasyon hadisesine ve fazla kallus dokusunun rezorbsiyonuna bağlıdır. Histokantitatif olarak deney grubumuzda kontrol grubuyla karşılaştırılınca daha fazla fibröz doku ile kalsifiye kırıkta, daha az hyalin kırıkta ve yeni kemik dokusu oluşmuştu. Tavşanlarda sağ radiusta yapılan osteotomiyle oluşturulan kırık hattının, kallus dokusuyla köprülenmesinden sonra 5 mg/kg/gün indometazin tedavisi uygulanan bir deneysel çalışmada, haversian remodelizasyonun inhibe edildiği gösterilmiştir (26).

Sonuç olarak; tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan kırık üzerine 60 mg/kg/gün dozundaki ASA ile PGE₂ seviyelerinde meydana gelen düşmeye paralel olarak kırık iyileşmesi ve yeni kemik oluşumunun, mikroskopik seviyelerde daha belirgin olmak üzere yavaşladığı kanaatine vardık.

Kaynaklar

1. Allen HL, Wase A, Bear WT: *Indomethacin and Aspirin: Effect of nonsteroidal antiinflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. Acta Orthop Scand* 51: 595-600, 1980.
2. Bennett A, Harvey W: *Prostaglandins in orthopaedics. J Bone Joint Surg* 63-B: 152-154, 1981.
3. Berkman M, Rodopman A, Altuğ T: *LAserin prostaglandinlerle olan ilişkisinin tavşan fibula kırıkları üzerinde incelenmesi. Acta Orthop Traum Turc* 21: 40-42, 1987.
4. Chyun YS, Raisz LG: *Stimulation of bone formation by prostaglandin E₂. Prostaglandins* 27:97-103, 1984 (Abstract).

5. Dekel S, Lenthall G, Francis MJD: Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture an experimental study in rabbit. **J Bone Joint Surg** 63-B: 185-189, 1981.
6. Drvaric DM, Parks WJ, Wily JB: Prostaglandin-Induced hyperostosis. A case report. **Clin Orthop** 246: 300-304, 1989.
7. Ege R: **Travmatoloji, kırıklar, eklem yaralanmaları**. Kadioğlu Matbaası, Ankara 1989, ss 25-63.
8. Elves MW, Bayley I, Roylance PJ: The effects of indomethacin upon experimental fractures in the rat. **Acta Orthop Scand** 53: 35-41, 1982.
9. Frost HM: The biology of fracture healing an overview for clinicians, Part I. **Clin Orthop** 248: 283-293, 1989.
10. Ham AW: **Histology**. JB Lippincott, Philadelphia 1974, pp 378-433.
11. Hulth A: Current Concepts of fracture healing. **Clin Orthop** 249: 265-284, 1989.
12. Karakaş E.S: Yeni Kemik Yapımı Üzerine L-Dopa ve Kalsitonin'in etkisi. **Erciyes Tıp Dergisi** 7: 367-381, 1985.
13. Keller J, Bayer-Kristensen I, Bank B, et al: Indomethacin and bone remodeling enfect on cortical bone after osteotomy in rabbits. **Acta Orthop Scand** 60: 119-121, 1989.
14. Keller J, Bünger C, Andreassen TT, et al: Bone repair inhibited by indomethacin enfects on bone metabolism and strength of rabbit osteomies. **Acta Orthop Scand** 58: 379-383, 1987.
15. Keller J, Kjaergaard-Anderson P, Bayer-Kristensen I, et al: Indomethacin and bone trauma. **Acta Orthop Scand** 61: 66-69, 1990.
16. Kelly PJ, Montgomery RJ, Bronk JT: Reaction of the circulatory system to injury and regeneration. **Clin Orthop** 254: 275-288, 1990.
17. Kirtland SI, Baum H: Prostaglandin E, may act a "calcium ionophore". **Nature** 236: 47-49, 1972.
18. McLaren AC: Prophylaxis with indomethacin for heterotropic bone. **J Bone Joint Surg** 72-A: 245-247, 1990.
19. Molster A, Gierdet NR, Raugstad TS, et al: Effect of instability on experimental fracture healing. **Acta Orthop Scand** 53: 521-526, 1982.
20. More RC, Kody MH, Kabo JM, et al: The effects of two nonsteroidal antiinflammatory drugs on limb swelling, joint stiffness, and bone torsional strength following fracture in a rabbit model. **Clin Orthop** 247: 306-312, 1989.
21. Nilsson OS, Persson PE, Ekelund A: Heterotopic new bone formation causes resorption of the inductive bone matrix. **Clin Orthop** 257: 280-285, 1990.
22. Northover BJ: The effect of antiinflammatory drugs on the binding of calcium to cellular membranes in various human and guinea-pig tissues. **Br J Pharmacol** 48: 496-504, 1973.
23. Ritter MA, Vaughan RB: Ectopic ossification after total hip artrosplasty. Predisposing factors, frequency and effect

on results. **J Bone Joint Surg** 59-A: 345-351, 1977.

24. Ro J, Sudmann E, Marton PF: Effect of indomethacin on fracture healing in rats. **Acta Orthop Scand** 47: 588-599, 1976.

25. Rokkanen P, Slatis P: The repair of experimental fractures during long-term anticoagulant treatment. **Acta Orthop Scand** 35: 21-38, 1964.

26. Sudmann E, Bang G: Indomethacin induced inhibition of haversian remodelling in rabbits. **Acta Orthop Scand** 50: 621-627, 1979.

27. Sudmann E, Tveita T, Hald I Jr: Lack of effect of indomethacin on ordered growth of the femur in rats. **Acta Orthop Scand** 53: 43-49, 1982.

28. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: **Biyoistatistik**. Çağ Matbaası, Ankara 1987, ss 58-117.

29. Tonna EA, Cronkite EP: Cellular response to fracture studied with tritiated thymidine. **J Bone Joint Surg** 43-A : 352-362, 1961.

30. Törnkvist H, Bauer H, Nilsson D: Influence of indomethacin on experimental bone metabolism in rats. **Clin Orthop** 193: 264-270, 1985.

31. Vaes G: Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. **Clin orthop** 231: 239-272, 1988.