

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PARASETAMOLÜN FETAL KEMİK GELİŞİMİ ÜZERİNE OLASI  
TERATOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
İlyas UÇAR**

**Danışman  
Prof. Dr. Erdoğan UNUR**

**Doktora Tezi**

**EKİM 2018  
KAYSERİ**

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PARASETAMOLÜN FETAL KEMİK GELİŞİMİ ÜZERİNE OLASI  
TERATOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
İlyas UÇAR**

**Danışman  
Prof. Dr. Erdoğan UNUR**

**Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından TDK-2017-7379 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**EKİM 2018  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

**Adı-Soyadı:** İlyas UÇAR

**İmza:**

X X X X

## YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Parasetamolün Fetal Kemik Gelişimi Üzerine Olası Teratojenik Etkilerinin Araştırılması” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

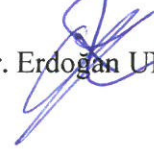
**Tezi Hazırlayan**

İlyas UÇAR



**Danışman**

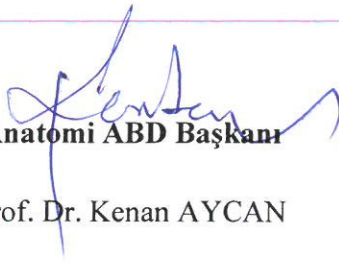
Prof. Dr. Erdoğan UNUR



---

**Anatomi ABD Başkanı**

Prof. Dr. Kenan AYCAN



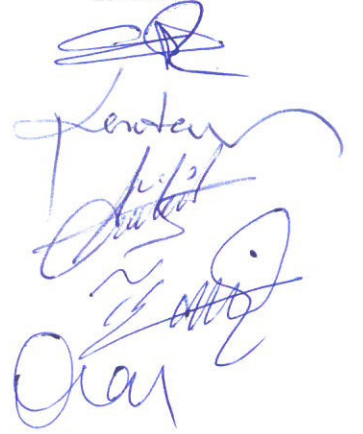
**KABUL VE ONAY**

Prof. Dr. Erdoğan UNUR danışmanlığında İlyas UÇAR tarafından hazırlanan **“Parasetamolün Fetal Kemik Gelişimi Üzerine Olası Teratojenik Etkilerinin Araştırılması”** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

08 / 10 / 2018

**JÜRİ:**

**Danışman** : Prof. Dr. Erdoğan UNUR  
**Üye** : Prof. Dr. Kenan AYCAN  
**Üye** : Prof. Dr. Ayhan DÜZLER  
**Üye** : Doç. Dr. Tolga ERTEKİN  
**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Ozan TURAMANLAR

**İMZA****ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.... / ..... / 2018

**Enstitü Müdürü**

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

## TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Erdoğan UNUR'a,

Anatomi Anabilim Dalında geçirdiğim süre boyunca yetişmemde büyük emekleri olan Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Kenan AYCAN, Anabilim Dalı değerli hocaları sayın Prof. Dr. Nihat EKİNCİ, sayın Prof. Dr. Harun ÜLGER, sayın Prof. Dr. Niyazi ACER, sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehtap NİSARİ'ye,

Tezimin yapılmasında büyük katkıları olan Veteriner Fakültesi'nden sayın Prof. Dr. Ayhan DÜZLER'e, Histoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Doç. Dr. Arzu YAY'a ve Uzm. Dr. Esra BALCIOĞLU'na,

Afyon Kocatepe Üniversitesi'nden kıymetli Ağabayım ve Hocam olan sayın Doç. Dr. Tolga Ertekin'e,

Ahi Evran Üniversitesi'nden değerli Hocam sayın Prof. Dr. Hatice Rana ERDEM ve Dr. Anıl ÖZÜDOĞRU'ya,

Bu çalışmayı yaparken benden emeğini esirgemeyen Muhammet DEĞERMENCİ, Gökçe BAĞCI UZUN, Dr. Öğr. Üyesi Seher YILMAZ, Arş. Gör. Sümeyye UÇAR, Arş. Gör. Özge AL'a,

Anatomi Anabilim Dalı çalışanları Hüseyin ÇELEBİ, Kazım KARABULUT ve Ferhat ÇAKMAKKAYA'ya,

Tez çalışmasına maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, çalışmamızın yapılmasında katkıları olan DEKAM yöneticileri ile çalışanlarına,

Varlıkları bana daima güç veren, yolumu gözleyen sevgili kızlarım Zeynep Tusem UÇAR ve Zülal Beyza UÇAR'a; evlenme teklif ettiğim günden beri tüm zorluklara benimle birlikte göğüs geren kıymetli eşim Dilek UÇAR'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## PARASETAMOLÜN FETAL KEMİK GELİŞİMİ ÜZERİNE OLASI TERATOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**İlyas UÇAR**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Anatomi Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi, Ekim 2018**

**Danışman: Prof. Dr. Erdoğan UNUR**

### ÖZET

Parasetamol, gebeliğin her döneminde ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak ilk tercih edilen farmakolojik bir ajandır. İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda parasetamolün kırık sonrası kemikleşme ve kemik mineral yoğunluğu üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Biz bu çalışmada parasetamolün erken gelişim dönemlerindeki sıçan embriyoları üzerinde oluşturabileceği olası kemik hasarını, ikili boyama metodu ve immünohistokimyasal analiz ile araştırmayı amaçladık.

Bu amaçla 20 adet gebe sıçan rastgele kontrol grubu, 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplar olmak üzere 5 gruba ayrıldı (n=4). Gebeliğin 1-20. günlerinde kontrol grubuna serum fizyolojik (SF), deney gruplarına ise belirtilen dozlarda parasetamol SF içinde çözündürülerek gavaj yoluyla verildi. Protokolün sonunda sezaryen ile uterustan çıkartılan yavruların iskelet gelişimlerini inceleyebilmek amacıyla ön ekstremitte (clavicula, scapula, humerus, radius ve ulna) ve arka ekstremitte uzun kemiklerine (femur, tibia, fibula) ikili boyama ve femur'lara immünohistokimyasal boyama protokolü uygulandı.

Çalışmamızda fetüs ve plasenta ağırlığı ile fetüs morfometrik değerlerinin deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu belirlendi. İkili boyama analizine göre parasetamol uygulanan gruplarda kemikleşme gösteren bölgeye ait değerlerin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve bu düşüşün ilaç dozu arttıkça daha da belirginleştiği tespit edildi. Yaptığımız alan ölçümlerinde kontrol grubu, düşük doz (50 mg/kg) ve yüksek doz (500 mg/kg) parasetamol gruplarında kemikleşme oranı sırasıyla clavicula'larda %72.32, %72.60, %57.18; scapula'larda %34.37, %35.35, %26.54; humerus'larda %43.40, %42.39, %34.07; radius'larda %46.07, %43.73, %32.36; ulna'larda %42.76, %41.72, %32.99; femur'larda %33.31, %32.98, %26.90; tibia'larda %37.56, %37.49, %29.57 ve fibula'larda %37.40, % 37.57, %28.32 olarak hesaplandı. Tüm kemiklerde özellikle 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). İmmünohistokimyasal boyamada ise; ALP ve TRAP immünoreaktivite yoğunluğunun doz artışına bağlı azaldığı belirlendi. ALP yoğunluğunda gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı ancak TRAP immünoreaktivite yoğunluğunda kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamlı fark olduğu saptandı ( $p<0.05$ ).

Bu veriler gebelikte uzun süre parasetamol kullanımının doz artışına bağlı olarak mevcut dengeyi bozduğu ve kemikleşmeyi olumsuz yönde etkilediği sonucunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Parasetamol, ikili boyama, sıçan, kemik gelişimi, teratojenik etki

## INVESTIGATION OF POSSIBLE TERATOGENIC EFFECTS OF PARASETAMOL ON FETAL BONE DEVELOPMENT

İlyas UÇAR

Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Anatomy

Doctorate Thesis, October 2018

Supervisor: Prof. Dr. Erdoğan UNUR

### ABSTRACT

Paracetamol is the first pharmacological agent to be used as pain reliever and fever reducer in every period of your pregnancy. Studies in humans and animals have reported that paracetamol has adverse effects on ossification and bone mineral density after fracture. In this study, we aimed to investigate possible bone damage on rat embryos during early development of paracetamol by dual staining method and immunohistochemical analysis.

For this purpose, 20 pregnant rats were randomly divided into 5 groups including 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg and 500 mg/kg paracetamol applied groups (n = 4). During days 1-20 of gestation, serum physiologic (SF) was administered to the control group and paracetamol was dissolved in SF and applied via gavage to experimental groups at the indicated doses. At the end of the protocol, in order to be able to examine the skeletal development of the fetuses that extracted from uterus by cesarean, dual staining method was applied to the long bones of anterior extremities (clavicula, scapula, humerus, radius and ulna) and the posterior extremities (femur, tibia, fibula) and using immunohistochemical protocol for the femurs.

In our study, it was determined that the morphometric values of fetus and placental weight and fetus were statistically significant in experimental groups. According to double staining analysis, it was detected that the values of the ossification region in paracetamol administered groups were lower than the control group and this decline became even clearer as the drug dose increased. In our field measurements, ossification rates in control group, low dose (50 mg / kg) and high dose (500 mg / kg) paracetamol groups were calculated as %72.32, %72.60, %57.18 in the clavicula; %34.37, %35.35, %26.54 in the scapula; %43.40, %42.39, %34.07 in the humerus; %46.07, %43.73, %32.36 in the radius; %42.76, %41.72, %32.99 in the ulna; %33.31, %32.98, %26.90 in the femur; %37.56, %37.49, %29.57 in the tibia and %37.40, %37.57, %28.32 in the fibula respectively. In all bones there was a significant difference between control group and especially in the 250 mg/kg and 500 mg/kg paracetamol groups (p<0.05). In immunohistochemical staining, it was determined that the intensity of ALP and TRAP immunoreactivity decreased due to the dose increase. There was no significant difference in ALP intensity between the groups but in the TRAP immunoreactivity intensity, it was found that there was a significant difference between the control group and experimental groups (p<0.05).

These datas shows that depending on the dose increase of paracetamol use for a long time in pregnancy caused the current balance to deteriorate and affected the ossification in the negative direction.

**Key words:** Paracetamol, double staining, rat, bone development, teratogenic effect

## İÇİNDEKİLER

|                                                     |      |
|-----------------------------------------------------|------|
| İÇ KAPAK.....                                       | iv   |
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....                        | ii   |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....                       | iii  |
| KABUL VE ONAY .....                                 | iv   |
| TEŞEKKÜR.....                                       | v    |
| ÖZET.....                                           | vi   |
| ABSTRACT.....                                       | vii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                   | viii |
| KISALTMALAR ve SİMGELER .....                       | xii  |
| TABLolar LİSTESİ.....                               | xiv  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                              | xv   |
| GRAFİKLER LİSTESİ.....                              | xvii |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ .....                              | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                             | 3    |
| 2.1. PARASETAMOL .....                              | 3    |
| 2.1.1. Parasetamolün Tarihçesi .....                | 3    |
| 2.1.2. Parasetamolün Yapısal Özellikleri.....       | 3    |
| 2.1.3. Parasetamolün Farmakokinetiği.....           | 4    |
| 2.1.4. Parasetamolün Metabolizması .....            | 5    |
| 2.1.5. Parasetamolün Etki Mekanizması .....         | 6    |
| 2.1.6. Parasetamolün Kemikleşme Üzerine Etkisi..... | 7    |
| 2.1.7. Parasetamolün Terapötik Kullanımı.....       | 7    |
| 2.1.8. Parasetamolün Gebelikte Kullanımı .....      | 8    |
| 2.1.9. Parasetamolün Yan Etkileri.....              | 9    |
| 2.1.10. Parasetamol Toksisitesi.....                | 9    |

|                                                        |    |
|--------------------------------------------------------|----|
| 2.2. KEMİK DOKU.....                                   | 10 |
| 2.2.1. Kemik Dokunun Tanımı ve Genel Özellikleri.....  | 10 |
| 2.2.2. Kemğin Yapısı.....                              | 10 |
| 2.2.2.1. Primer (olgunlaşmamış, immatür) Kemik.....    | 10 |
| 2.2.2.2. Sekonder (olgun, matür, lamellar) Kemik.....  | 11 |
| 2.2.2.2.1. Kortikal (kompakt, sıkı) Kemik.....         | 11 |
| 2.2.2.2.2. Kanselöz (spongiyöz, süngerimsi) Kemik..... | 12 |
| 2.2.3. Kemik Matriksi.....                             | 13 |
| 2.2.3.1. Organik Matriks .....                         | 13 |
| 2.2.3.2. İnorganik Matriks.....                        | 13 |
| 2.2.4. Kemik Hücreleri.....                            | 14 |
| 2.2.4.1. Osteoprogenitör Hücreler.....                 | 14 |
| 2.2.4.2 Osteoblastlar.....                             | 14 |
| 2.2.4.3. Osteositler.....                              | 15 |
| 2.2.4.4. Osteoklastlar.....                            | 15 |
| 2.2.5. Kemik Zarları.....                              | 16 |
| 2.2.5.1. Periosteum.....                               | 16 |
| 2.2.5.2. Endosteum.....                                | 17 |
| 2.2.6. Kemik Doku Gelişim Evreleri.....                | 18 |
| 2.2.6.1. Kemğin Şekillenmesi .....                     | 18 |
| 2.2.6.2. Yeniden Şekillenme .....                      | 18 |
| 2.2.7. Kemik Oluşum Tipleri.....                       | 18 |
| 2.2.7.1. İntramembranöz Kemikleşme.....                | 19 |
| 2.2.7.2. Endokondral Kemikleşme.....                   | 19 |

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3. KIKIRDAK DOKU .....                                                 | 21 |
| 2.3.1. Kıkırdak Doku Histolojisi.....                                    | 21 |
| 2.3.2. Kıkırdak Hücreleri.....                                           | 22 |
| 2.3.3. Kıkırdak Türleri .....                                            | 22 |
| 2.3.3.1. Hiyalin Kıkırdak.....                                           | 22 |
| 2.3.3.2. Elastik Kıkırdak .....                                          | 24 |
| 2.3.3.3. Fibröz Kıkırdak .....                                           | 24 |
| 2.3.4. Kıkırdak Doku Gelişimi.....                                       | 24 |
| 2.4. SIÇANLARIN EMBRİYONİK VE İSKELET GELİŞİMİ.....                      | 25 |
| 2.4.1. EMBRİYONİK GELİŞİM.....                                           | 25 |
| 2.4.2. İSKELET SİSTEMİ GELİŞİMİ .....                                    | 26 |
| 2.4.2.1. Skeleton axiale (Aksiyal İskelet) .....                         | 26 |
| 2.4.2.2. Skeleton appendiculare (Appendiküler İskelet).....              | 28 |
| 2.5. İKİLİ İSKELET BOYAMALARI.....                                       | 30 |
| 2.6. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA.....                                     | 31 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM.....                                                  | 33 |
| 3.1. DENEY HAYVANLARININ SEÇİMİ VE ÇİFTLEŞTİRİLMESİ.....                 | 33 |
| 3.2. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI.....                                        | 34 |
| 3.3. DENEKLERİN ELDE EDİLMESİ.....                                       | 36 |
| 3.4. İKİLİ İSKELET BOYAMA YÖNTEMİ.....                                   | 37 |
| 3.4.1. İkili İskelet Boyama İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler .....      | 37 |
| 3.4.2. İkili İskelet Boyama Süreci .....                                 | 38 |
| 3.4.3. İkili İskelet Boyamaya Ait Morfolojik Ölçümlerin Yapılması.....   | 41 |
| 3.5. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMİ.....                             | 43 |
| 3.5.1. İmmünohistokimyasal Boyama İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler..... | 43 |
| 3.5.2. Histolojik (immünohistokimyasal süreç için) Doku Takibi.....      | 43 |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 3.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Süreci .....                 | 46 |
| 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....                                | 48 |
| 4. BULGULAR .....                                              | 49 |
| 4.1. MORFOMETRİK ÖLÇÜMLERE AİT BULGULAR .....                  | 49 |
| 4.2. İKİLİ İSKELET BOYAMA METODUNA AİT BULGULAR .....          | 52 |
| 4.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMİNE AİT BULGULAR .....   | 77 |
| 4.3.1. H&E ile Boyanmış Gruplara Ait Histolojik Bulgular ..... | 77 |
| 4.3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular .....                      | 80 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....                                     | 88 |
| 6. KAYNAKLAR .....                                             | 95 |
| EKLER                                                          |    |
| ÖZGEÇMİŞ                                                       |    |

## KISALTMALAR ve SİMGELER

|                                   |                                                       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>FDA</b>                        | : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi                       |
| <b>APAP</b>                       | : N-asetil-p-aminofenol                               |
| <b>gr</b>                         | : Gram                                                |
| <b>cm<sup>3</sup></b>             | : Santimetre Küp                                      |
| <b>CYP450</b>                     | : Sitokrom P450 Enzimi                                |
| <b>NAPQI</b>                      | : N-asetil-P-benzokinonimin                           |
| <b>GSH</b>                        | : Glutasyon                                           |
| <b>MSS</b>                        | : Merkezi Sinir Sistemi                               |
| <b>COX</b>                        | : Siklooksijenaz                                      |
| <b>NSAİİ</b>                      | : Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaç                    |
| <b>AM404</b>                      | : N-arachidonoylphenolamine                           |
| <b>PG</b>                         | : Prostaglandin                                       |
| <b>NMDA</b>                       | : N-metil D-aspartat                                  |
| <b>NO</b>                         | : Nitrik Oksit                                        |
| <b>ABD</b>                        | : Amerika Birleşik Devletleri                         |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen peroksit                                   |
| <b>OH•</b>                        | : Hidroksil radikali                                  |
| <b>PGES</b>                       | : Prostaglandin Endoperoksit Sentaz                   |
| <b>cAMP</b>                       | : Siklik Adenosin Monofosfat                          |
| <b>IGF</b>                        | : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü                      |
| <b>PTH</b>                        | : Paratiroid Hormon                                   |
| <b>PTHrP</b>                      | : Paratiroid Hormon ile ilgili Protein                |
| <b>PTH1R</b>                      | : Paratiroid Hormon Reseptörü                         |
| <b>FGF-18</b>                     | : Fibroblast Büyüme Faktörü 18                        |
| <b>FGFR3</b>                      | : Fibroblast Büyüme Reseptörü                         |
| <b>VEGF</b>                       | : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü                  |
| <b>CTGF</b>                       | : Bağ Dokusu Büyüme Faktörü                           |
| <b>BMP</b>                        | : Kemik Morfogenetik Protein                          |
| <b>PAP</b>                        | : Peroksidaz-Antiperoksidaz                           |
| <b>APAAP</b>                      | : Alkalen Fosfataz-Antialkalen Fosfataz               |
| <b>DEKAM</b>                      | : Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi |
| <b>SF</b>                         | : Serum Fizyolojik                                    |

|                       |                                    |
|-----------------------|------------------------------------|
| <b>mg</b>             | : Miligram                         |
| <b>kg</b>             | : Kilogram                         |
| <b>ml</b>             | : Mililitre                        |
| <b>SEM</b>            | : Steroelektron Mikroskop          |
| <b>KOH</b>            | : Potasyum Hidroksit               |
| <b>µm</b>             | : Mikrometre                       |
| <b>H&amp;E</b>        | : Hemotoksilen-Eosin               |
| <b>TRAP</b>           | : Tartarata Rezistan Asit Fosfataz |
| <b>ALP</b>            | : Alkalin Fosfataz                 |
| <b>cm</b>             | : Santimetre                       |
| <b>mm</b>             | : Milimetre                        |
| <b>mm<sup>2</sup></b> | : Milimetre Kare                   |
| <b>SS</b>             | : Standart Sapma                   |
| <b>µmol</b>           | : Mikromol                         |
| <b>pg</b>             | : Pikogram                         |

## TABLOLAR LİSTESİ

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 3.1.</b> İkili İskelet Sistemi Boyama Yöntemi.....                                                  | 39 |
| <b>Tablo 3.2.</b> Rutin Histolojik Takip Aşamaları.....                                                      | 44 |
| <b>Tablo 3.3.</b> H&E Boyama Aşamaları .....                                                                 | 45 |
| <b>Tablo 3.4.</b> İmmünohistokimyasal Boyama Aşamaları .....                                                 | 47 |
| <b>Tablo 4.1.</b> Fetüslere ait morfometrik ölçümler.....                                                    | 50 |
| <b>Tablo 4.2.</b> Fetüs ve plasenta ağırlık değerleri ve istatistiksel analizleri.....                       | 51 |
| <b>Tablo 4.3.</b> Biparietal, occipito-frontal ve baş-kıç uzunluk değerleri ve istatistiksel analizleri..... | 51 |
| <b>Tablo 4.4.</b> Clavicula'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri.....                       | 55 |
| <b>Tablo 4.5.</b> Clavicula'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri .....                         | 55 |
| <b>Tablo 4.6.</b> Scapula'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri.....                         | 58 |
| <b>Tablo 4.7.</b> Scapula'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri.....                            | 58 |
| <b>Tablo 4.8.</b> Humerus'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri.....                         | 61 |
| <b>Tablo 4.9.</b> Humerus'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri.....                            | 61 |
| <b>Tablo 4.10.</b> Radius'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri.....                         | 64 |
| <b>Tablo 4.11.</b> Radius'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri .....                           | 64 |
| <b>Tablo 4.12.</b> Ulna'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri .....                          | 66 |
| <b>Tablo 4.13.</b> Ulna'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri.....                              | 66 |
| <b>Tablo 4.14.</b> Femur'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri.....                          | 70 |
| <b>Tablo 4.15.</b> Femur'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri .....                            | 70 |
| <b>Tablo 4.16.</b> Tibia'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri.....                          | 73 |
| <b>Tablo 4.17.</b> Tibia'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri .....                            | 73 |
| <b>Tablo 4.18.</b> Fibula'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri .....                        | 76 |
| <b>Tablo 4.19.</b> Fibula'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri .....                           | 76 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 2.1.</b> Parasetamolün kimyasal formülünü gösteren şematik çizim.....                                       | 4  |
| <b>Şekil 2.2.</b> Parasetamolün metabolizmasını gösteren şema.....                                                   | 5  |
| <b>Şekil 2.3.</b> Kompakt kemiğin şematik çizimi.....                                                                | 12 |
| <b>Şekil 2.4.</b> Periosteum ve kemiğin beslenmesi.....                                                              | 17 |
| <b>Şekil 2.5.</b> Endokondral kemikleşme aşamaları .....                                                             | 20 |
| <b>Şekil 2.6.</b> Hiyalin kıkırdak ve perikondrium .....                                                             | 23 |
| <b>Şekil 2.7.</b> Sıçan iskelet sisteminin görünümü .....                                                            | 26 |
| <b>Şekil 3.1.</b> Grupların oluşturulması .....                                                                      | 34 |
| <b>Şekil 3.2.</b> Sıçanlara gavaj ile parasetamol uygulaması .....                                                   | 35 |
| <b>Şekil 3.3</b> Fetüslerin anne karnından çıkartılması .....                                                        | 36 |
| <b>Şekil 3.4.</b> Morfometrik ölçümlerin yapılması.....                                                              | 37 |
| <b>Şekil 3.5.</b> İkili boyama için fetüslerin derileri soyulmuş, iç organları ve gözleri çıkartılmış görüntüsü..... | 38 |
| <b>Şekil 3.6.</b> İkili boyama prosedürü uygulanmış fetüsün %100'lük gliserin içerisindeki görüntüsü.....            | 40 |
| <b>Şekil 3.7.</b> Görüntünün ImageJ programında kalibrasyonu ve morfometrik ölçümler ....                            | 42 |
| <b>Şekil 4.1.</b> İkili boyama ile elde edilen alt ve üst ekstremiteye ait görüntülerde belli başlı oluşumlar.....   | 52 |
| <b>Şekil 4.2.</b> Clavicula'lara ait görüntüler .....                                                                | 54 |
| <b>Şekil 4.3</b> Scapula'lara ait görüntüler.....                                                                    | 57 |
| <b>Şekil 4.4.</b> Humerus'lara ait görüntüler.....                                                                   | 60 |
| <b>Şekil 4.5.</b> Radius ve Ulna'lara ait görüntüler.....                                                            | 63 |
| <b>Şekil 4.6.</b> Femur'lara ait görüntüler .....                                                                    | 68 |
| <b>Şekil 4.7.</b> Tibia ve Fibula'lara ait görüntüler .....                                                          | 72 |
| <b>Şekil 4.8.</b> Kontrol grubuna ait kemikleşme .....                                                               | 77 |
| <b>Şekil 4.9.</b> 50 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme.....                                         | 78 |
| <b>Şekil 4.10.</b> 125 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme.....                                       | 78 |

|                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.11.</b> 250 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme.....                                                                                      | 79 |
| <b>Şekil 4.12.</b> 500 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme.....                                                                                      | 79 |
| <b>Şekil 4.13.</b> Kontrol grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu.....                        | 81 |
| <b>Şekil 4.14.</b> 50 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu .....    | 81 |
| <b>Şekil 4.15.</b> 125 mg/kg parasetamol verilen grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu ..... | 82 |
| <b>Şekil 4.16.</b> 250 mg/kg parasetamol verilen grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu ..... | 83 |
| <b>Şekil 4.17.</b> 500 mg/kg parasetamol verilen grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu ..... | 83 |
| <b>Şekil 4.18.</b> Kontrol grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu .....                      | 85 |
| <b>Şekil 4.19.</b> 50 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu .....   | 85 |
| <b>Şekil 4.20.</b> 125 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu .....  | 86 |
| <b>Şekil 4.21.</b> 250 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu .....  | 87 |
| <b>Şekil 4.22.</b> 500 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu .....  | 87 |

**GRAFİKLER LİSTESİ**

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Grafik 4.1.</b> Kontrol ve deney gruplarına ait ortalama ALP immünoreaktivite yoğunluğu ..... | 80 |
| <b>Grafik 4.2.</b> Kontrol ve deney gruplarına ait ortalama TRAP immünoreaktivite yoğunluğu..... | 84 |



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Geçen yüzyılın ortalarına kadar konjenital anomalilerin açığa çıkmasında daha çok genetik faktörlerin etkili olduğu fikri hâkimdi. Dışarıdan gelebilecek tehditlere karşı anne karın duvarı, uterus, plasenta ve fetal zarların mutlak koruyucu olduğu böylece embriyonun olası zararlı etkenlerden korunduğu düşünülürdü (1). Ancak 1941 yılında Gregg (2), embriyo gelişiminin kritik döneminde Rubella virüsünün konjenital anomalilere neden olabileceğini göstermiştir. 1950'lerde ise Thalidomide faciasının yaşanmasıyla birlikte farmakolojik ajanların ve diğer çevresel etkenlerin de benzer durumlara neden olabileceği anlaşılmıştır. Bu yaşananlar 'Teratoloji Bilimi'nin doğmasına neden olmuştur. Bu bağlamda yapılan araştırmalar konjenital anomalilerin %7-10'unun toksik ajanlar, ilaçlar, iyonize radyasyon ve kimyasal ajanlar gibi çevresel faktörlere bağlı oluştuğunu göstermektedir (3).

Farmakolojik ajanların ve diğer endüstriyel kimyasalların teratojenik ve toksikolojik etkilerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri de iskelet sisteminde oluşturdukları malformasyonların incelenmesidir (4, 5, 6). Son yıllarda, kemik kısımlarının Alizarin Red-S, kıkırdak kısımlarının ise Alcian Blue ile boyandığı 'ikili iskelet boyama metodu' en sık kullanılan ve son derece güvenilir sonuçlar veren yöntemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (6).

Gebelik her sağlıklı kadın için doğal bir olay olmasına rağmen fizyolojik, mekanik, psikolojik ve sosyal birçok değişikliği beraberinde getirmektedir. Hamilelik döneminde ortaya çıkan ağrılara sebep olarak, anne adayının vücudunda meydana gelen postural ve hormonal değişimler, intervertebral disk patolojileri, kemik yoğunluğundaki değişimler ve symphysis pubis genişlemeleri gösterilmektedir (7). Anne adayında ortaya çıkan bu ve benzer durumlarda semptomları ortadan kaldırmak için genellikle ağrı kesici ilaçların kullanımı tercih edilmektedir (8).

Gebeliğin her döneminde kısa süreli ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak ilk tercih edilen parasetamol (9, 10), dünyada en yaygın kullanılan ve reçetesiz olarak ulaşılabilen ‘tezgâh-üstü’ bir ilaçtır. Bu nedenle parasetamol, gebelikte aşırı doz kullanım vakalarında ilk sırada yer alır. Aşırı dozlarda plasentayı geçerek fetal ve maternal hepatotoksositeye neden olabilmektedir (11). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ilaçları teratojenik etkilerinin ciddiyetine göre A’dan X’e doğru 5 kategori içinde gruplandırmıştır. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı da ilaç prospektüslerinde ilacın içinde bulunduğu gebelik kategorisinin uyarılar bölümünde belirtilmesini zorunlu tutmaktadır (8). Buna göre deney hayvanlarında yapılan çalışmalarla fetotoksik etkisi gösterilmiş ancak bu etki hamilelerde yapılan kontrollü klinik çalışmalar ile doğrulanamamış ilaçların yer aldığı ‘kategori B’de yer alan parasetamol, gerekli hallerde gebelikte kullanılabilmektedir (12).

Parasetamolün gebelik döneminde kullanılan en güvenilir ilaçlardan biri olarak bilinmesine karşın, son yıllarda yayınlanan bazı çalışmalar dikkatlerin tekrar parasetamol üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur (10). Ayrıca hayvanlarda yapılan deneysel kırık modellerinde ve insanlarda kırık sonrası yapılan çalışmalarda parasetamolün kemikleşmeyi olumsuz etkilediğini gösteren veriler bulunmaktadır (13, 14, 15). Çalışmamızda gebelik süresince verilen parasetamolün fetüslerin iskelet sistemi üzerindeki etkisini, ikili iskelet boyama metodu ve immünohistokimyasal incelemeyle ortaya koymayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. PARASETAMOL

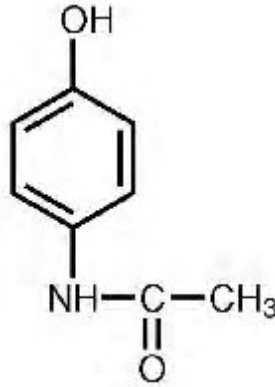
#### 2.1.1. Parasetamolün Tarihçesi

Parasetamol yüz yılı aşkın süredir analjezik ve antipiretik olarak kullanılan güvenilir bir ilaçtır (13). Günümüzde sık kullanılan ilaçlardan biri olan parasetamol ilk kez 1878 yılında sentezlenmiş (16) olmasına rağmen tıbbi kullanıma 1893 yılında girmiştir (17). Güçlü bir analjezik/antipiretik olarak kullanılan asetanilid ve fenasetinin aktif metabolitinin parasetamol olduğu 1950'li yıllarda anlaşılınca kadar kullanımı sınırlı olmuştur. Bu yıllarda, fenasetinin nefrotoksik etkisi nedeniyle kullanımdan kalkması sonucu analjezik, antipiretik olarak tıp literatüründeki yerini almıştır (18). Aspirin ve Reye sendromu ilişkisinin tespit edilmesinden sonra tıbbi kullanımdaki yeri daha da kuvvetlenen parasetamol (19) 1955 yılında 'Tylenol' adıyla ABD'de ve 1956 yılında 'Panadol' adıyla İngiltere'de ilaç sektöründeki yerini almıştır (20). Türkiye'de de, tedavi edici doz aralığında güvenle kullanılabilen bir ilaç olarak kabul edilmekte ve reçetesiz olarak da satılmaktadır (21). Parasetamol özellikle çocuk, yaşlı, gebe gibi özel gruplar başta olmak üzere tıbbi kullanımdaki en güvenilir analjezik/antipiretik ilaçlardan biri olarak tüm dünyada milyonlarca hasta tarafından kullanılmaktadır (22). Hafif ve orta şiddetteki ağrılarda enteral formülasyonlarıyla kullanılmakta olan parasetamol son yıllarda geliştirilen parenteral formunun kullanıma girmesiyle birlikte postoperatif şiddetli ağrılarda da kullanılmaya başlanmıştır (23).

#### 2.1.2. Parasetamolün Yapısal Özellikleri

Kömür katranı analjeziği diye adlandırılan fenasetinin aktif metaboliti olan parasetamol; asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol, APAP isimleriyle de bilinir. Parasetamol sentetik non-opioid olan p-aminofenol türevi bir ilaçtır.  $C_8H_9NO_2$  formülüne sahip (Şekil 2.1), molekül ağırlığı 151,2 g/mol olan sentetik bir bileşiktir (24). Fizyolojik pH'da zayıf bir

asit olması nedeniyle aniyonize şekilde bulunur. Erime noktası 170°C, sudaki çözünürlüğü 20°C'de 1,4 gr/100 ml, yoğunluğu 21°C'de 1.263 gr/cm<sup>3</sup>'tür (25). Parasetamol kokusuz, acımsı bir tadı olan beyaz kristalize bir yapıya sahiptir (26).



**Şekil 2.1.** Parasetamolün kimyasal formülünü gösteren şematik çizim (24)

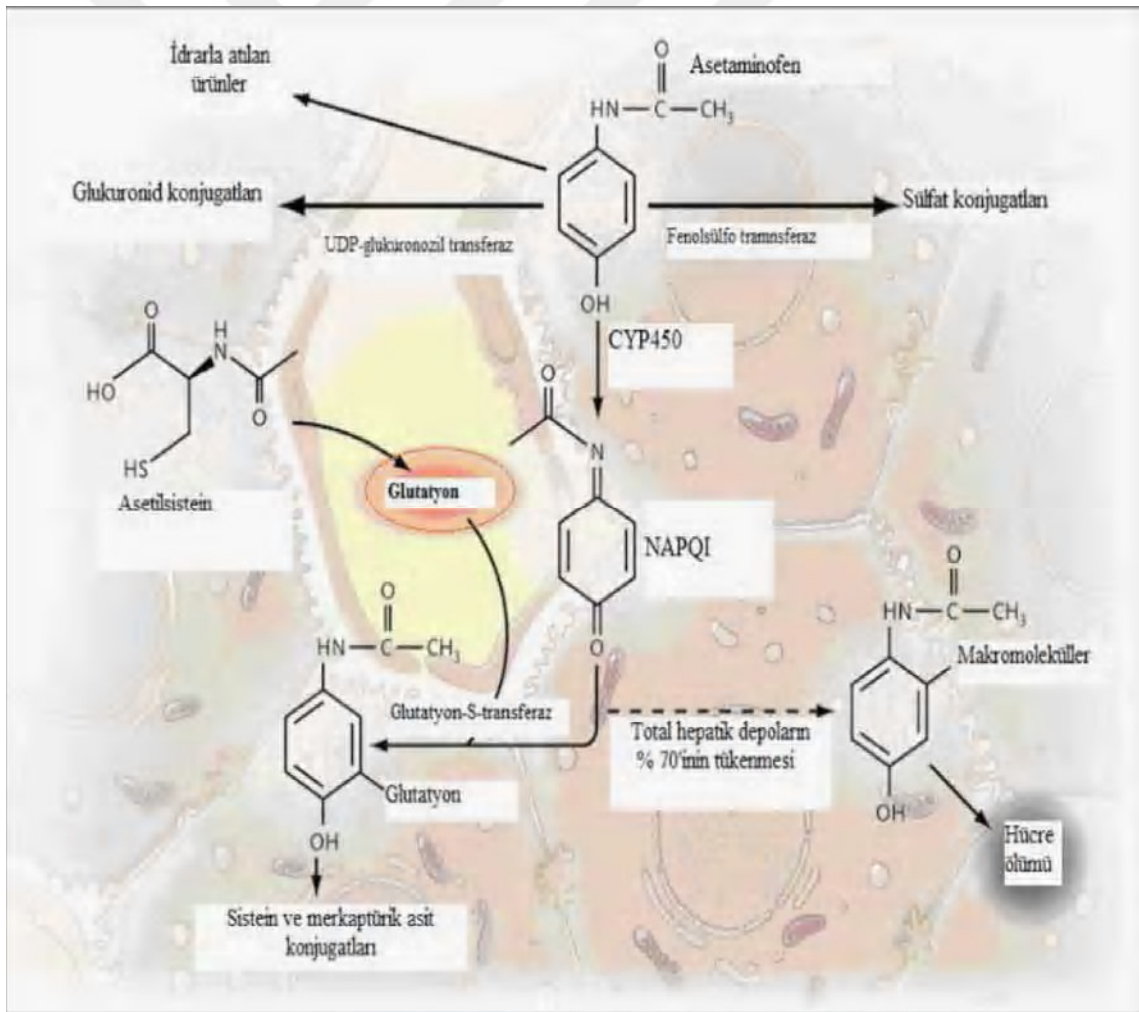
### 2.1.3. Parasetamolün Farmakokinetiği

Parasetamol, insanda oral yolla alındığında gastrointestinal yoldan hızlı bir şekilde emilir ancak tamamen emilimi açlık, tokluk ve antikolinergik ilaçlara bağlı olarak 4 saate kadar uzayabilir (27). Ağızdan alınımını takiben 5-10 dakika içinde ağrı kesici etkisini gösterir ancak plazmadaki en yüksek konsantrasyonuna 30-60 dakika içerisinde ulaşır. Uygulamayı takiben yarım saat içinde ateşi düşürür ve antipiretik etkisi de en az 6 saat kadar sürer. Birçok vücut sıvısında yaygın dağılım gösterirken plazma proteinlerine %25 oranında bağlanır fakat tutunması uzun süreli değildir (20, 28).

Gastrointestinal toksisitesinin düşük olmasından ötürü tam dozda, antiinflamatuvar analjeziklerin düşük dozları ile birlikte kullanılabilir (28). Yapılan deneysel çalışmalarda en yüksek ilaç konsantrasyonunun karaciğer, böbrek ve gastrointestinal kanalda olduğu saptanmıştır. Diğer dokuların aksine beyne geçişinin çok daha yavaş olduğu belirtilmiştir (29, 30). Yarılanma ömrü iki saat olan parasetamolün analjezik etkisi 4-6 saat kadar devam eder. Verilen dozun %90-100'ü ilk günün sonunda hepatik konjugasyona uğrayarak idrarla birlikte atılmış olur (28).

#### 2.1.4. Parasetamolün Metabolizması

Ağız yoluyla alınımını takiben gastrointestinal yoldan hızla absorbe edilen parasetamol esas olarak karaciğerde, bir kısmı da bağırsak ve böbreklerde metabolize edilen bir ilaçtır. Karaciğerde metabolize olan parasetamol toksik metabolit olan N-asetil-P-benzokinonimin'e (NAPQI) dönüşür (31). Karaciğerde hasar oluşturan NAPQI, metabolit glutatyon (GSH) tarafından 7 inaktif metabolite indirgenerek toksik etki göstermeden safrayla birlikte atılır (32). İlacın metabolitlerinin başlıca atılım yolu ise idrardır. Önerilen doz aralığında kullanıldığında yaklaşık %80-85'i 24 saat içinde glukuronid-sülfat konjugasyonu şeklinde böbreklerden süzülerek idrarla atılır (Şekil 2.2), (33, 34).



Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizmasını gösteren şema (34)

### 2.1.5. Parasetamolün Etki Mekanizması

Parasetamolün ilk sentezinin üzerinden yaklaşık 140 yıl geçmiş olmasına rağmen etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak analjezik ve antiinflamatuvar etki mekanizmasında periferik ve/veya santral yolların yer aldığını belirten çalışmalar mevcuttur (22, 35). Bununla birlikte primer olarak merkezi sinir sistemine (MSS) santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu yoluyla ve olasılıkla serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla da etki ettiği sanılmaktadır (36, 37, 38). Periferik dokularda ise zayıf bir COX inhibitörüdür (39).

Parasetamolün analjezik ve antipiretik etkisi aspirine eşdeğerdir. Ancak antiinflamatuvar etkinliği aspirin kadar güçlü olmadığından inflamasyona bağlı endikasyonlarda kullanımı yoktur. Fakat nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlarla (NSAİİ) birlikte alındığında analjezik etkinliğinin arttığı belirtilmiştir (40, 41, 42).

Ağrı kesici özelliği ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda parasetamolün endojen kannabinoid sistemini düzenleyerek analjezik etki gösterdiği belirtilmektedir. Vücutta anandamidlerin nöronlar tarafından tutulumu, vücudun ana ağrı reseptörlerinin aktivasyonu sonucu oluşur. Parasetamol ise anandamidlerin nöronlar tarafından tutulumunu inhibe eden N-arachidonoylphenolamine'e (AM404) metabolize olarak etkinliğini gösterir. Bununla birlikte AM404'lerin anesteziklere benzer şekilde sodyum kanallarını inhibe ederek de ağrı kesici özellik gösterdiği belirtilmektedir (43, 44).

Parasetamolün antiinflamatuvar etkisi hala açıklığa kavuşmamış olmasına rağmen diğer NSAİİ'lere göre periferde daha zayıf prostaglandin (PG) sentez inhibisyonu yaptığı iddia edilmektedir (45). Bazı çalışmalarda ise asıl etkinin periferik PG sentez inhibisyonundan ziyade, santral PG sentezi inhibisyonu üzerinden meydana geldiği ve bu santral etkinin de analjezik ve antiinflamatuvar etki oluşturmak için yeterli olabileceği savunulmaktadır (46, 47). Romatoid artrit gibi şiddetli inflamasyonun meydana geldiği romatizmal bozukluklarda parasetamolün inflamasyonu önleyecek kadar etki göstermediği bilinmektedir (48). Bu şekilde periferik inflamasyonlara karşı reaksiyon göstermemesi antiinflamatuvar özelliğinin zayıf olduğuna işaret etmektedir (45) ancak COX inhibitörlerinin etki göstermediği bazı ağrı modellerinde analjezik etki oluşturduğu tespit edilmiştir (48, 49, 50). Bununla birlikte klinik uygulamada parasetamol, NSAİİ'lerde tipik olarak gözlenen ve periferik COX inhibisyonuna bağlı

olarak ortaya çıktığı düşünölen yan etkileri oluşturmaz (36). Bu nedenle tipik COX inhibisyonundan farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğu da düşünölmektedir (22).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda beyin ve kalp gibi spesifik dokularda yüksek oranda bulunan üçüncü bir siklooksijenaz (COX-3) tespit edilmiştir. Parasetamolün COX-1 ve COX-2'nin yanında COX-3 enzimini de bloke ettiğı birçok araştırmacı tarafından kabul görmüştür (35, 45, 51). Bu bilgiler ışığında parasetamolün COX enzim inhibisyonu yaptığı kesin olmasına rağmen bu etki mekanizması tam olarak açıklanamamış olup çalışmalar halen devam etmektedir (22).

Parasetamolün etki mekanizması ile ilgili anlatılanların dışında farklı görüşler de mevcuttur. Bunlar; 1-P maddesi veya N-metil-D aspartat (NMDA) aracılığı ile (52). 2- Endojen opioidergik sistemle etkileşimi ile (53). 3-İnen inhibitör serotonergik yollar aracılığı ile (54). 4-L-arjinin/nitrik oksit (NO) yolu üzerine etkisi ile (50) şeklinde sıralanabilir.

#### **2.1.6. Parasetamolün Kemikleşme Üzerine Etkisi**

Mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış olsa da insan ve hayvanlarda yapılan kırık sonrası çalışmalarda parasetamolün kemik gelişimi ve kemikleşme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı (55) veya olumsuz etkisinin olduğu bildirilmektedir (15, 56). Olumsuz etki konusundaki görüşler ve muhtemel mekanizma şu şekilde izah edilmektedir. Parasetamol farmakolojik olarak COX inhibitörleriyle ortak özellikler göstermektedir (45). COX-2 aktivitesi de normal kemik iyileşmesi için gerekli olduğundan parasetamolün COX-2 inhibitörlerini taklit ederek kemik iyileşmesini geciktirebileceğı ifade edilmektedir (57).

#### **2.1.7. Parasetamolün Terapötik Kullanımı**

Terapötik dozda genellikle iyi tolere edilen parasetamol analjezik veya antipiretik amaçlı kullanımlarda aspirine alternatif bir ilaçtır. Özellikle aspirin kullanımının sakıncalı olduğu gastrointestinal sistem ülserleri veya kanamaları olan hastalarda daha değerlidir. Yetişkinlerde bir defada oral yolla alınan miktar 325-1000 mg iken rektal alımlarda 650 mg'dır. Çocuklarda ise kiloları dikkate alınarak 40-480 mg arasında değişiklik gösterir. Hastanın yaşına ve kilosuna bağılı olarak 24 saat içinde 5 doza kadar çıkılabilir (58).

Yapılan çalışmalar tek veya tekrarlanan terapötik dozların solunum sistemi ve kardiyovasküler sistem üzerine herhangi bir olumsuz etkisini göstermemiştir. Oral alımlarda gastrik rahatsızlık, erozyon veya salisilatların kullanımının neden olduğu kanamalara da yol açmaz. Asit-baz dengesini değiştirmeyen parasetamolün kanama zamanı veya ürik asit salgısı üzerine de bilinen bir etkisi yoktur (43).

#### **2.1.8. Parasetamolün Gebelikte Kullanımı**

Gebelik dönemi; annenin daha önceden varolan kronik rahatsızlıkları veya gebelikte birlikte gelişen yeni durumları nedeniyle çeşitli ilaçların yaygın olarak kullanıldığı bir zaman dilimidir. Bu nedenle gebelik planlandığı dönemden doğuma kadar geçen sürede tartışılan en önemli konulardan biri 'ilaç kullanımı'dır (8). Özellikle gebeliğin ilk haftalarında ilaç kullanımı bebeğin gelişimini olumsuz etkileyerek düşüğe ya da organ gelişiminde ağır anomalilere neden olurken daha geç dönemde ise embriyoda fizyolojik anomaliler ya da organlarda fonksiyon bozuklukları oluşturabilmektedir (59).

Dokuz aylık gebelik süresi boyunca kadın vücudunda anatomik, fizyolojik, mekanik, hormonal ve psikolojik bazı değişiklikler görülür. Bu değişikliklerin neden olduğu ağrı en sık karşılaşılan şikâyetlerden biridir. Bu ağrıya karşı tercih edilen yöntemlerden birisi de ağrı kesici ilaçların kullanılmasıdır (60). Ağrı kesici ilaçlar çokta masum (basit) ilaçlar değildir ve içerdikleri etken maddeler anne organlarına zarar verebilir, hatta plasental bariyeri geçerek fetüs organları üzerine çeşitli teratojenik etkiler oluşturabilir. Parasetamol piyasaya çıkışından bu yana ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak tüm yaş grubundaki hastalarda kullanılmakta olup (9) gebeliğin her döneminde ağrı ve ateş için ilk tercih edilen ilaçtır (9, 10).

Yapılan hayvan çalışmalarında, gebelikte parasetamol kullanımının konjenital malformasyonu artırdığına dair herhangi veri saptanmamıştır. Ancak önerilen maksimum insan dozunun 2 katı kullanımının fetotoksisteye neden olabileceği gösterilmiştir (61). Ayrıca intrauterin dönemde parasetamole maruz kalmanın çocukluk döneminde veya adölesan dönemde astım görülme riskini arttırdığını iddia eden çalışmalar da mevcuttur (62, 63).

### 2.1.9. Parasetamolün Yan Etkileri

Parasetamol önerilen doz aralığında alındığında güvenli bir ilaçken doz aşımı ölümle sonuçlanabilen hepatik nekroza (64), aynı zamanda hematolojik bozukluklara, hipoglisemiye ve böbrek yetmezliğine neden olabilir (65). İlacın alınımını takiben nadir de olsa ilaç ateşi, kızarıklık ve basit deri döküntüleri gibi alerjik cilt reaksiyonlarına bağlı mukozal lezyonlar görülebilmektedir (64, 66). Ancak mide mukozası üzerine diğer NSAİİ'ler gibi herhangi bir olumsuz etkisi yoktur ve kanamaya neden olmaz (67).

### 2.1.10. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol 1960'lardan beri sıklıkla kullanılan ve aspirinden daha az toksik etkiye sahip bir ajandır. Buna rağmen yüksek doz alımlar sebebiyle oluşan parasetamol zehirlenmelerine bağlı oluşan akut karaciğer yetersizliği son yıllarda hızla artmaktadır (9, 68, 69). Günlük 4000 mg üzerinde parasetamol alımı yetişkin bir insanda hepatotoksisite riski oluşturabilirken (27) hayvanlarda ise oral kullanımda farelerde 400-900 mg/kg, sıçan ve tavşanlarda 2000 mg/kg ölüme neden olabilmektedir (70).

Yapılan çalışmalarda yüksek dozda alınan parasetamolün antioksidan savunma sistemini etkilediği rapor edilmiştir (71, 72). Vücutta en çok etkilenen organların başında karaciğer ve böbrek yer alır. Hepatotoksisite nedenleri arasında oksidatif stres, kalsiyum dengesizliği ile NAPQI hücrel proteinlerin ve hepatositlerin lipid tabakalarına kovalen bağlanması sayılabilir. Oksidatif stres, parasetamol hepatotoksisitesinin oluşumuna neden olan en önemli mekanizmalardan biridir. Parasetamolün oluşturduğu karaciğer toksisitesinde lipid peroksidasyonu oksidatif stresle aynı anda oluşabilmektedir. Parasetamolün karaciğerde sitokrom P450 (CYP450) enzim sistemi ile metabolizasyonu sonucu NAPQI ve süperoksit açığa çıkar. Süperoksit artışı hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) düzeyinde yükselmeye sonuçlanır. Artan  $H_2O_2$  konsantrasyonu hidroksil radikalinin ( $OH\bullet$ ) artmasına ve buna bağlı lipid peroksidasyonunun başlamasına neden olur (71, 72).

Aşırı doz hepatotoksisitenin yanında akut renal toksisiteye de neden olabilir (73). Sadece aşırı doz değil uzun süreli düşük dozlar da nefropati riskini artırmaktadır (29). Yüksek doza bağlı renal toksisite mekanizmasında; prostaglandin endoperoksit sentaz (PGES), N-deasetilaz ve CYP450 enzimleri yer alırlar. Farelerde ve sıçanlardaki renal toksisitenin parasetamolün CYP450'ye bağlı bioaktivasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (73, 74).

## 2.2. KEMİK DOKU

### 2.2.1. Kemik Dokusunun Tanımı ve Genel Özellikleri

Canlılar ile cansızlar arasındaki önemli farklardan biri de canlıların uzayda ve mekânda yer değiştirebilme özelliğidir. İnsan vücudunda bu fonksiyondan sorumlu olan mekanizma hareket sistemidir. Hareket sisteminin üç temel unsuru bulunmaktadır. Bunlar hareket için gerekli enerjiyi sağlayan kaslar, kaslara mekanik destek olan kemikler ve kemikler arasındaki bağlantıyı sağlayan eklemlerdir. Kemik dokusu bağ dokusunun özelleşmiş bir şekli olup onu diğer bağ dokularından ayıran en önemli özelliği, sertliğini sağlayan hücreler arası maddenin kalsifikasyonudur. Bu özelliği sayesinde vücudun dışlardan sonra en sert dokusu olan kemik, hayati öneme sahip organların barındığı vücudun önemli boşluklarını dışarıdan kuşatarak korur ve onlara destek görevi görür. Aynı zamanda yapısında kan hücrelerinin sentezlenmesinde aktif rol oynayan kemik iliğini de barındırır (75). Kalsiyum, fosfat ve diğer temel iyon ve minerallerin vücuttaki konsantrasyonunun dengede tutulmasını sağlayarak bir depo görevi görür. Kemik; hormonal, metabolik ve besinsel koşullara oldukça duyarlı, üzerine gelen fizyolojik ve mekanik uyarılara göre kendini şekillendirebilen aktif bir dokudur (76).

Bir dokunun iki temel unsuru bulunmaktadır. Bunlar dokuyu oluşturan hücreler ve hücreler arası matrikstir. Bu açıdan kemik dokusu, hücreler arası kalsifiye olmuş matriks (organik maddeler ve inorganik tuzlar) ve bu matriks içindeki lakünlerde dizilim gösteren hücrelerden (osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar) oluşmaktadır (77).

### 2.2.2. Kemiğin Yapısı

Kemik doku; fetal dönemden itibaren sürekli kendini yenileyen, gelişen ve büyüyen bir dokudur. Kemikler embriyolojik dönemden yetişkinliğe kadar uzanan süreçte mikroskobik yapılarına göre primer (olgunlaşmamış, immatür, woven) kemik ve sekonder (olgun, matür, lamelli) kemik olmak üzere iki gruba ayrılır (78, 79, 80).

#### 2.2.2.1. Primer (olgunlaşmamış, immatür) Kemik

Primer kemik embriyonik dönemde iskeletin esas yapısını oluşturur ve doğumdan sonraki 3-4 yıl içinde yerini sekonder kemiğe bırakır (78). Yetişkinlerde sadece tendon ve ligamentlerin yapışma yerlerindeki büyüme plaklarında, kırık iyileşmesi esnasında

oluşan kallus yapısında ve implantların osteointegrasyon sahasında bulunur (79, 80). Primer kemik dokusunda kolajen iplikler rastgele seyrettikleri için örgülü yapıdadır. Osteositler fazla sayıdadır ve doku içinde düzensiz şekilde dağılmışlardır. Yapım ve yıkım döngüsü oldukça artmıştır. Temel madde yeterince sertleşmemiş olup sekonder kemiğe göre daha zayıf ve esnektir. Bu nedenle primer kemik strese daha az dayanıklıdır ve kolay deforme olabilen bir yapıya sahiptir (80).

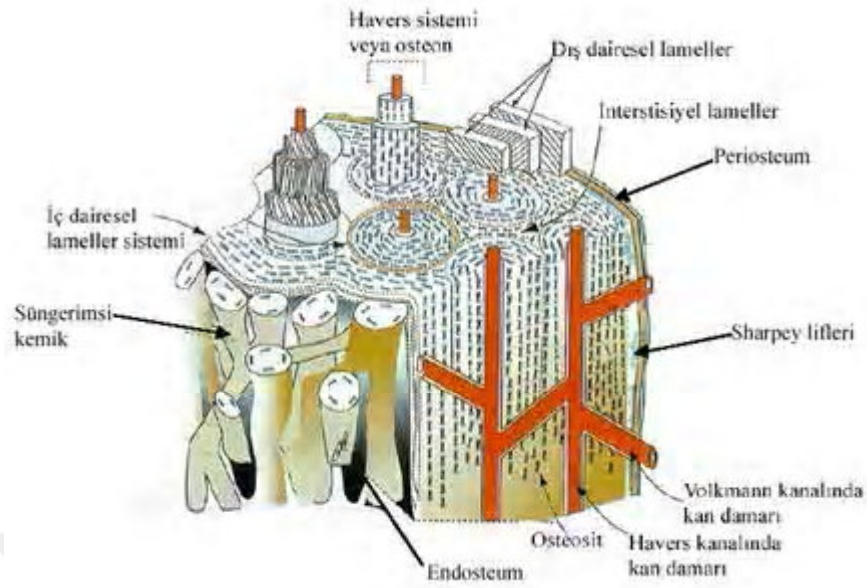
#### **2.2.2.2. Sekonder (olgun, matür, lamelli) Kemik**

Sekonder kemik doğumdan sonra görülmeye başlar. Lamelli bir yapı gösterdiğinden dolayı lamelli kemik adı da verilir. Sekonder kemikte 3-5 milimikron genişliğinde tabakalar halinde paralel dizilimli yoğun kolajen fibriller bir lamel içinde birbirine paralel seyrederken, komşu lameller arasındaki lifler çapraz veya spiral şeklinde seyreder. Liflerin bu şekildeki seyirleri kemiğin dayanıklılığını artırır (78, 79, 80). Kalsiyum tuzlarının hidroksipatit kristalleri şeklinde kolajen lifler üzerinde birikmesiyle mineralizasyon tamamlanır (78).

Sekonder kemik dokusu bulunduğu yere ve fonksiyona göre kortikal (kompakt, sıkı) kemik ve kansellöz (spongioz, süngerimsi) kemik şeklinde özelleşerek ikiye ayrılır (81).

##### **2.2.2.2.1. Kortikal (kompakt, sıkı) Kemik**

Vücudumuzdaki kemiklerin yaklaşık %80'i kompakt kemik yapısındadır. Organizmada bulunan tüm kemiklerin dış yüzeylerini ve uzun kemiklerin gövde kısmı olan diyafizi kompakt kemik oluşturur (Şekil 2.3). Diyafizin cavum medullare'ye bakan yüzünde ise çok az miktarda spongioz kemik bulunur (75, 78, 81).



**Şekil 2.3.** Kompakt kemiğin şematik çizimi (75)

Kortikal kemik, Volkmann kanallarıyla bağlantılı sıkıca sarılmış osteon veya havers sistemleri olarak isimlendirilen silindirik birimlerden oluşur. Havers sistemi; içinde arterioller, venüller, kapillerler, lenfatikler ve sinirler bulunduran yapının adıdır. Yaklaşık olarak 400  $\mu\text{m}$  boyunda ve 200  $\mu\text{m}$  genişliğindeki bu yapılar kemiğin uzun eksenine dikey ve paralel 10-20  $\mu\text{m}$  çapında kanallar içerir (81). Havers sisteminin etrafı ise 3-7  $\mu\text{m}$  kalınlıktaki lamellerden, hücrelerden ve sert bir matriksten meydana gelir (82).

#### **2.2.2.2.2. Kansellöz (spongioz, süngerimsi) Kemik**

Kansellöz kemik genellikle uzun ve kısa kemiklerin epifiz ve metafizi ile yassı kemiklerin iç kısımlarında yer alır. İçerisinde Havers ve Volkman kanalları bulunmaz (79, 82). Düzensiz anastomozlarla ağ oluşturan kansellöz kemik %50-90 oranında trabeküllerden meydana gelir. Bu trabeküllerin arasında ise kemik iliği ile dolu düzensiz boşluklar bulunur. Bu boşluklar nedeniyle makroskobik görünümü süngere benzer ve süngerimsi kemik doku olarak da tanımlanır. Kortikal kemiğe göre yoğunluğu oldukça azdır ve daha yavaş bir yaşam döngüsü vardır.

### 2.2.3. Kemik Matriksi

Kemiğin hücreleri arasını dolduran, kalsifiye olmuş ara maddeye kemik matriksi denir. Kemik matriksi; kemiğe sertliğini veren mineralize inorganik maddeler ve esnekliğini veren mineralize olmamış organik maddelerden meydana gelir. Kemiğin yaş ağırlığının %65'ini inorganik, %20'sini organik, %5'ini diğer organik moleküller ve amorf inorganik tuzlar oluştururken kalan %10'u ise sudur (79, 80, 82).

#### 2.2.3.1. Organik Matriks

Büyük bir kısmını kolajen liflerin (%90-95'i Tip I kolajen) oluşturduğu organik matriks, erişkinlerde kemik doku ağırlığının %25'ini, hacminin ise %38'ini oluşturur (83). Bununla birlikte kondroitin sülfat, keratan sülfat, hyaluronik asitten zengin proteoglikanlar ve kolajen olmayan proteinler içerir (84). Kemiğin karakteristik sertliğini ve dayanıklılığını içerdiği aminoasitler (özellikle de hidroksiapatit) ile kolajen lifler arasında bulunan sıkı bağlar sağlar. Söz konusu aminoasitlerin miktarında azalma ya da yapısında bozulma kemiği kırılgan hale getirmektedir. Dolayısıyla kemiğin organik kısımlarının ortadan kaldırılması kemiğin orijinal şeklinde herhangi bir deformite oluşturmaz ancak kolayca kırılabilir duruma getirir (79, 85).

#### 2.2.3.2. İnorganik Matriks

İnorganik matriks kemik dokusunun mineralize kısmı olup yapısını büyük oranda kalsiyum ve fosfat oluşturur. Ayrıca bikarbonat, sitrat, mangnezyum, potasyum ve sodyum gibi mineralleri de içermektedir. Bu mineraller kolajen lifleri boyunca iğne, plak ve çubuk şeklinde hidroksiapatit kristalleri olarak uzanır (75, 86).

Röntgen ışını difraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalar, kemiğin hidroksiapatit kristallerinin; kalsiyum ve fosforun  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  şeklinde birleşmesinden oluştuğunu ortaya koymuştur. Bu kristaller elektron mikrograflarda ise 40x25x3 nm boyutlarında plakalar halinde görülür. Hidroksiapatit kristalleri üzerinde su ve iyonlardan oluşan hidrasyon kabuğu adında bir tabaka bulunur. Vücudun sıvı-iyon dengesi bu tabaka ile sağlanır (75).

#### 2.2.4. Kemik Hücreleri

Kemik dokusunda dört tip hücre bulunur. Bunlar;

- 1- Kemiğin ana hücresi olan mezenkimal kaynaklı osteoprogenitör hücreler,
- 2- Kemik dokusunda matriksin yapımından sorumlu olan osteoblast hücreleri,
- 3- Kemiğin esas hücreleri olan osteositler ve
- 4- Hematopoetik sistem kaynaklı osteoklast hücreleridir (75, 86).

##### 2.2.4.1. Osteoprogenitör Hücreler

Osteoprogenitör hücreler henüz spesifik bir doku hücresine farklılaşmamış, yaşamları boyunca çoğalabilme özelliğine sahip hücrelerdir. Farklılaşmamış kök hücre klonları, kemik, kıkırdak, ligament ve tendon gibi bağ dokusu hücrelerini de oluşturabilirler (87). Hatta bu hücrelerin fibroblast ve kemik iliğindeki kan yapıcı hücelere dönüşebildiği de gösterilmiştir (88).

İğsi şekilli osteoprogenitör hücreler mitoz bölünme yaparak çoğalma ve olgun kemik hücrelerine farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Periosteumun selüler iç tabakasında ve havers kanallarını çevreleyen endosteumda bulunan bu hücreler, postnatal yaşam boyunca kemiğin yapısında varlığını sürdürürler. Kırık iyileşmesi ve kemik büyümesi dönemlerinde osteoblast veya osteoklast gibi diğer tip kemik hücrelerine de dönüşebilirler (83).

##### 2.2.4.2. Osteoblastlar

Mezenkimal dokudan köken alan osteoblastlar; kemik matriksinin üretimini sağlayan hücrelerdir (81). Kübik, prizmatik ya da silindirik şekilli olabilirler. Tek tabaka halinde sıralanan osteoblast hücreleri aktif kemik oluşumunun olduğu bütün bölgeleri kaplarlar. Özellikle de aktif kemik oluşumu olan ve yeniden yapımın olduğu yerlerde daha yoğun olarak bulunurlar (83, 86).

Osteoblastlar; kemik proteinlerini (kolajen lifler, proteoglikan, glikoprotein, kemik sialoprotein, osteopontin ve osteokalsin) ve hormon reseptörlerini sentezleyerek kemik matriksinin organik kısımlarının üretimini sağlamaktadır. Kemiğin inorganik kısımları da yine osteoblastlar tarafından sentezlenmektedir. Sentezlenen bu inorganik bileşenlerin organik matriks içerisine çökmesi (yani  $Ca^{+2}$  tuzlarının çökmesi) ile kalsifikasyon tamamlanır (89). Ayrıca osteoblastlar bulundukları paratiroid hormon

reseptörleri ile kemik rezorbsiyonunun (yıkımının) hormonal kontrolünü sağlarken, kemiğin depozisyon ve rezorbsiyon safhasında ise osteoklast aktivitesinin inhibisyonu ve stimülasyonu gibi görevleri üstlenmektedir (90, 91).

Osteoblast hücreleri sitoplazmik uzantıları sayesinde komşu osteoblastlarla temas halinde bulunmaktadır. Hücreler ürettikleri matriks ile kendi etrafını sarmaya başladığı zaman bu uzantılar daha da belirgin hale gelmektedir. Yeni sentezi yapılmış matriks ile sarılan osteoblast hücreleri osteosit adını alırlar (85).

#### **2.2.4.3. Osteositler**

Olgun iskelette hücrelerin %90'ını oluşturan osteositler; aktif kemik gelişimi esnasında mineralize olmayan osteoblastlardan farklılaşarak oluşurlar. Osteositlerin perinükleer sitoplazmaları az olduğu için diğer kemik hücrelerinden tipik olarak daha küçüktür. Matriks lamelleri arasında bulunan laküna adı verilen kovuklar içine yerleşmişlerdir ve her lakünada sadece bir osteosit yer almaktadır. Osteositler, lakünalarda bulunan kanalcıklar yardımıyla kan damarlarıyla ve diğer lakünalarla bağlantı kurarken, osteositlerin sitoplazmik uzantıları ise bu kanalcıkları kullanarak komşu osteositler ile ilişkiyi sağlar. Bununla birlikte kan damarları ile osteositler arasında süren moleküler düzeydeki alışveriş, osteositler ile kemik matriksi arasında bulunan ekstrasellüler madde vasıtasıyla da gerçekleşebilir. Böylece hücreler arası iletişim, besin maddelerinin hücreden hücreye geçişi ve kalsiyum ile fosforun ekstrasellüler konsantrasyonunun sürekliliği sağlanır (86, 92).

Osteositler kemik dokunun mekanosensör hücreleridir. Kemiğe herhangi bir kuvvet etki ettiğinde siklik adenosin monofosfat (cAMP), osteokalsin ve IGF salgırlar. Bu faktörlerin salgılanmasıyla öncül osteoblastların sayısı artarak kemikte yeniden şekillenme ve kemik apozisyonu gerçekleşir (83, 93).

#### **2.2.4.4. Osteoklastlar**

Osteoklastlar kemik iliğindeki monosit-makrofaj progenitör hücrelerden köken alan, çok çekirdekli (5-50 veya daha fazla sayıda), ileri derecede dallanmış ve hareketli büyük hücrelerdir. Hücrelerin dalları farklı biçimde ve kalınlıkta olup oldukça düzensizdir. Bu hücreler kemik rezorbsiyonunun başladığı bölgelerdeki Howship lakünalarında bulunurlar. Howship lakünaları, rezorbsiyon sahasının yüzeyinde, enzimatik faaliyetlerle ortaya çıkan çukurcuklardır (75, 86).

Osteoklastların asıl görevi kemik rezorbsiyonudur. Kemik rezorbsiyonu birtakım hücrel olayların birbirini takip etmesiyle gerçekleşir (94). Yüzeyde yerleşmiş olan bu hücrelerin kemik matriksine bakan yüzünde düzensiz yapıda fırçamsı kenarlar bulunur. Bu bölgenin görevi kemik rezorbsiyonu için mikro çevre oluşturmaktır. Osteoklastlarca kemik matriksini rezorbe edebilen asitler, kolajenaz ve diğer proteolitik enzimler salgınır. Rezorbsiyon için gerekli olan asidik çevre (pH: 3,5) bu enzimlerin hedef kemik matriksine bağlanmasıyla sağlanır. Böylece kalsifiye olmuş temel madde çözünerek serbest hale getirilir. Daha sonra kemik rezorbsiyonu sırasında oluşan atıklar da ortadan kaldırılır. Bu süreci osteoblastlar tarafından gerçekleştirilen yeni kemiğin oluşumu takip eder. Böylece osteoklastlar ve osteoblastlar kemiğin yapım ve yıkım olayları sonucu yeniden şekillenmesinde birlikte rol almış olurlar. Bu yolla kemik büyümesi, kırık onarımı, diş çıkması ve kalsiyum dengesi sağlanır (94, 95, 96).

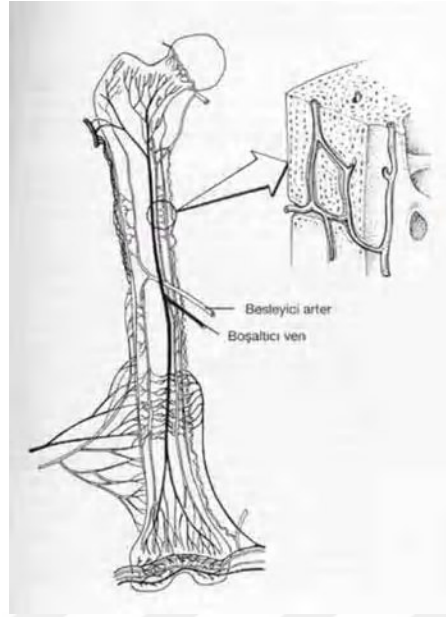
Osteoklastların aktiviteleri, hormonlar ve yerel protein olan sitokinler tarafından düzenlenir. Osteoklastik etkinlik bu hormonlardan kalsitonin ve östrojenin etkisiyle azalırken; paratiroid, tiroksin ve D vitamininin etkisiyle artar (75, 83, 93).

#### **2.2.5. Kemik Zarları**

Bağ dokusu liflerinden ve kemiği oluşturan hücrelerden oluşan kemik zarları, kemiğin iç ve dış yüzeylerini bir örtü şeklinde kaplayan yapılardır. Bu zarlardan dışta olanına periosteum, içte olanına ise endosteum denir (75).

##### **2.2.5.1. Periosteum**

Periosteum, eklem yüzeyleri hariç tüm kemiği dıştan çevreleyen vasküler bir bağ doku tabakasıdır. Kemiğe destek sağlama, kemiğin beslenmesi, gelişimi ve tamiri gibi önemli görevleri vardır (Şekil 2.4). Periosteumun iç ve dış olmak üzere iki tabakası bulunur (83, 97).



**Şekil 2.4.** Periosteum ve kemiğin beslenmesi (98)

Periosteumun kalın olan dış tabakasına ‘stratum fibrosum’ denir. Bu tabakada bol miktarda kan ve lenf damarları, sinir lifleri, kolajen lifler ve fibroblastlar bulunmaktadır. Periosteumdan kemiğin içine doğru uzanan ve periosteumun kemiğe tutunmasını sağlayan bu liflere ‘Sharpey lifleri’ denir. Bu lifler kolajen yapısında olup, özellikle tendonların kemiğe tutunduğu yerde çok yoğun olarak bulunurlar (83, 93).

Daha ince ve zayıf olan iç tabakaya ise ‘stratum osteogenicum’ denir. Hücrelerden daha zengin olan iç tabaka, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturabilme potansiyeline sahip osteoprogenitör hücreleri barındırır. Bu yönüyle yeni kemik oluşumuna ve kemik doku onarımına katkıda bulunur (86, 93).

#### **2.2.5.2. Endosteum**

Kemiğin içinde bulunan tüm boşlukları (Havers kanalları, Volkman kanalları ve süngerimsi kemiğin ilik boşlukları) döşeyen zara endosteum denir. Periosteum tabakasına göre oldukça ince bir yapıya sahiptir. Endosteum, tek katlı yassı ya da kübik osteoprogenitör hücrelerden ve az miktarda retiküler bağ dokusundan oluşmaktadır. Ayrıca bu tabakanın kemik dokuyla birlikte hemopoetik hücreler yapabilme özelliği de vardır (97, 93).

### **2.2.6. Kemik Doku Gelişim Evreleri**

Kemik dokusunun gelişimi yapım ve yıkım olaylarının birlikte olması ile sürdürülür. Gelişme döneminde kemik yapım miktarı kemik kaybından daha fazladır. Böylece çocuklarda daha hızlı olmak üzere kemiğin büyümesi ve şeklinin korunması sağlanır. Kemiğin enine büyümesi periosteum tabakasında bulunan osteoblast hücreleri; boyuna uzaması ise kıkırdak taslağın zamanla yerini kemik dokuya bırakması sayesinde olur (85, 99).

#### **2.2.6.1. Kemiğin Şekillenmesi**

Şekillenme, kemik yüzeylerine daha fazla kemik dokusu eklenmesi veya var olan kemik doku miktarının azalması şeklinde oluşabilmektedir. Böylece kemiklerin ve eklemlerin büyüklüğü, şekli ve hacmi kontrol edilir. Kişinin doğumundan olgunlaşma dönemine kadar oldukça etkin olan bu süreç zamanla azalarak erişkin dönemde görülmez (85, 99).

#### **2.2.6.2. Yeniden Şekillenme**

Hayat boyu devam eden bu süreç kemiğin biyomekanik ve metabolik olarak çevre şartlarına uygun olmasını sağlar. Bu dönemde kemikte eksilen dokunun yerine konması ve düşük kaliteli kemiğin yerine yeni lamelli kemik yapımı gibi olaylar gerçekleşerek kemiğin mikro mimari yapısı düzenlenmiş olur (85, 99).

### **2.2.7. Kemik Oluşum Tipleri**

İlk kemikleşme emarelerinin görüldüğü yerlere primer kemikleşme merkezi denir ve bunlar intrauterin hayatın 7-12. haftasında görülmeye başlar. Bu döneme kadar kemik dokunun geliyeceği bölgelerde bağ dokusu hâkimdir. Bağ dokusundan kemik dokusuna geçiş iki farklı şekilde ortaya çıkmaktadır. Birincisi bağ dokusundan doğrudan kemik dokusuna geçiş şeklinde ortaya çıkan intramembranöz kemikleşme; ikincisi ise bağ dokusundan önce kıkırdak dokuya, daha sonra kıkırdak dokudan kemik dokuya geçiş şeklinde ortaya çıkan endokondral kemikleşmedir. Her iki kemikleşme çeşidinde de ilk olarak ortaya çıkan primer kemiktir. Daha sonra primer kemiğin yerini sekonder kemik alır. İntramembranöz kemikleşme daha çok yassı kemiklerde, endokondral kemikleşme ise genellikle uzun ve kısa kemiklerde görülür (75, 85).

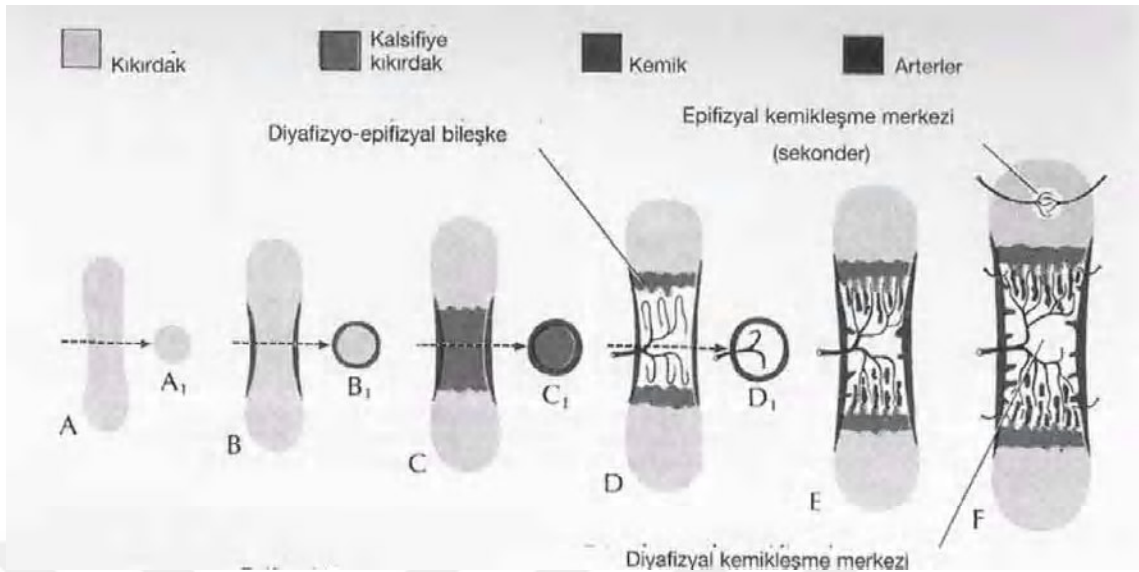
### **2.2.7.1. İntramembranöz Kemikleşme**

İntramembranöz kemikleşmede kıkırdak bir model bulunmayıp kemikler embriyodaki mezenkimal bağ dokusundan farklılaşarak direkt kemik haline dönüşürler. Yassı kemiklerin birçoğunun oluş mekanizması olan intramembranöz kemikleşme, mezenkimal doku yoğunlaşmaları içinde gerçekleştiğinden bu şekilde adlandırılmıştır. Kısa kemiklerin büyümesi ve uzun kemiklerin kalınlaşması intramembranöz kemikleşme ile sağlanır. Frontal ve parietal kemiklerin tamamı ile maksilla, mandibula, oksipital ve temporal kemiklerin bazı kısımları bu şekilde meydana gelir (75, 100).

Mezenkimal doku yoğunlaşmalarının olduğu alandaki ossifikasyonun başladığı ilk nokta olan primer kemikleşme merkezinde mezenkim hücreleri önce hızlı bir bölünme göstererek osteoprogenitör hücreye dönüşürler, daha sonra da osteoblastlara farklılaşarak kemik matriksini şekillendirirler. Primer kemikleşme merkezi damar ağı bakımından oldukça zengindir. Bu damar ağları ile bölgeye kalsiyum ve fosfor iyonları taşınır. Osteoblastlardan salınan alkalen fosfataz bu iyonları kalsiyum fosfat moleküllerine dönüştürerek kalsifikasyonu sağlar. Kalsifikasyonun tamamlanmasıyla matriks içinde kalan osteoblastlar olgun kemik hücrelerine (osteositlere) dönüşür (101). Histolojik kesitlerdeki görüntülerinden ötürü gelişmekte olan bu hücre adacıklarına spikül adı verilir. Kemikleşme merkezinde birkaç spikül hemen hemen aynı zamanlarda ortaya çıkar. Zamanla birleşerek bir araya gelen bu spiküller süngerimsi yapıyı oluştururlar. Kemik spikülleri arasında bulunan bağ dokusuna kan damarları ve farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesiyle de kemik iliği hücreleri oluşur (85).

### **2.2.7.2. Endokondral Kemikleşme**

Kafatası kemikleri hariç, memeli iskeletinin çoğunluğu kıkırdağın yerini kemik dokunun almasıyla meydana gelen endokondral kemikleşmeyle oluşur. Bu tip kemikleşme modelinde, önce mezenkim dokudan taslak olarak mineralize hiyalin kıkırdağın oluşması daha sonra bu yapının kemik dokuya dönüşmesi gerçekleşir (Şekil 2.5), (79, 102).



**Şekil 2.5.** Endokondral kemikleşme aşamaları (103)

Endokondral kemikleşme temel olarak iki aşamada (kıkırdak yıkımı ve kemik oluşumu) gerçekleşir. İlk aşamada kıkırdak modeldeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyeti söz konusudur. İkinci aşamada ise dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinin yerini osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerinden oluşan osteojenik tomurcuklar alır. Osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kıkırdak matriks üzerinde aralıksız bir tabaka oluştururlar. Oluşan bu yeni tabaka kemik matriksini sentezler. Böylece kalsifiye olmuş kıkırdak alanlarında primer kemik sentezi başlamış olur (79, 80).

Embriyonal gelişimin sonraki dönemlerinde, epifizlerin ortasında sekonder kemikleşme merkezleri oluşur. Bu merkezlerin fonksiyonları da yine primer merkezlerinkine benzerdir ancak büyüme uzunlamasına olmayıp ışınsal yönde gerçekleşir. Epifizlerdeki kemikleşme eklem yüzeylerine kadar devam etmez. Böylece kemiğin uç bölgelerindeki kıkırdak, hayat boyu eklem kıkırdağı olarak varlığını devam ettirir. Sonuç olarak hiyalin kıkırdak modelin iki yer hariç tamamen kemikleştiği görülür. Bunlardan biri hayat boyu kalıcı olan eklem kıkırdağı diğeri ise kemiğin epifiz ve diyafizi arasında 1-2 mm kalınlığındaki epifizyal plaklardır. Epifizyal plak insanlarda uzun kemiklerin büyümesinden sorumlu olup yirmili yaşlarda kapanır. (75, 79, 80, 83).

Tüm kemikleşme süreci hormonal denetim altındadır. Dolaşım yoluyla taşınan hormonlar ve lokal olarak üretilen sinyal faktörleri (Hhntkirpi: Ihh), paratiroid hormon (PTH), paratiroid hormon ile ilgili protein (PTHrP) ve bunların reseptörü (PTH1R), fibroblast büyüme faktörü 18 (FGF-18), fibroblast büyüme reseptörü (FGFR3), vasküler

endotelial büyüme faktörü (VEGF), bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF), kemik morfogenetik proteinleri (BMP) ve Wnt proteinleri tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir (102, 104).

### **2.3. KIKIRDAK DOKU**

Kemik doku kadar sert olmayan ancak daha dayanıklı ve esnek olan damarsız bağ dokusuna kıkırdak denir. Kıkırdak, diğer bağ dokuları gibi mezenkimden gelişir ve hareket sisteminin pasif unsurlarından birisidir. Fetüs iskeletinin yapısını büyük oranda kıkırdak doku oluşturur. Embriyonal dönemde desteklik ve koruma görevini üstlenirken gelişimle birlikte bu görevi kemiğe bırakır. Diğer bağ dokularına göre daha sert olmasına rağmen sıvı içeriğinin fazla olması nedeniyle belli bir dereceye kadar esneme kabiliyetine sahiptir. Bu özelliğinden ötürü eklemlerde şok absorbe etmek ve kayganlık sağlamak; solunum yollarında, kulakta ve kaburgalarda ise şekil ve esneklik vermek gibi farklı görevler üstlenir. Ayrıca uzun kemiklerin büyüme ve gelişmesinde önemli rol alır (89).

#### **2.3.1. Kıkırdak Doku Histolojisi**

Kıkırdak, kolajen matriks içerisinde glikozaminoglikan kümeleri ile karakterize bağ dokusudur. Kondrositler, kondroblastlar ve bunların sentezlediği ekstraselüler matriksten meydana gelir. Proteoglikan ve kolajen fibrillerden oluşan ekstraselüler matriks, kıkırdak tipleri arasında farklılık gösterir (89, 105).

Kıkırdak dokusunun gelişeceği yerde mezenkim hücreleri yoğunlaşır ve hücre içinde kolajen fibriller birikir. Kondroblast olarak isimlendirilen bu hücreler, ara madde ve kolajen fibrilleri üretirler. Daha sonra soluk sitoplazmalı, küçük çekirdekli, olgun kıkırdak hücreleri olan kondrositlere dönüşürler (89, 106).

Kıkırdağın kendine ait kan damarları, lenf damarları ve sinirleri yoktur. Bu nedenle kıkırdağın beslenmesi komşu dokular içinde yer alan kan damarlarından veya eklemlerde olduğu gibi sinoviyal sıvıdan difüzyonla gerçekleşir (76).

### 2.3.2. Kıkırdak Hücreleri

3 tip kıkırdak doku hücresi bulunur.

Kondrojenik hücreler; mezenkimal hücrelerden farklılaşmış dar, iğ şekilli, az sitoplazmalı ve bir veya iki nukleuslu hücrelerdir. Bu hücreler hem kondroblast hem de osteoprogenitör hücrelere farklılaşabilme özelliğine sahiptirler (76, 107).

Kondroblast hücreler; mezenkimal hücrelerden ve kondrojenik hücrelerden köken alan ve sentez aktivitesine sahip bölünebilen hücrelerdir. Daha şişkin ve protein sentezi için gerekli organellere sahip bu hücre grupları kıkırdak matriksini oluşturan içerikleri salgılamakla görevlidir. Ayrıca hücrel faaliyetlerde büyüme hormonu olarak görev alırlar. Kondroblastlar iyi gelişmiş golgi organı, bol miktarda mitokondri ve salgı vezikülleri içerirler (76, 107).

Kondrositler; matriks ile çevrili laküna içine yerleşmiş olgun kıkırdak hücreleridir. Kıkırdağın periferik bölgelerinde oval, daha derin bölgelerinde ise yuvarlak şekillidirler. Genç kondrosit hücreleri açık boyanan sitoplazmaya, bol mitokondriye ve glikojene ayrıca iyi gelişmiş golgi kompleksine sahiptir. Yaşlı kondrositlerde ise aktivite daha düşük olup organellerde belirgin azalma vardır (107).

### 2.3.3. Kıkırdak Türleri

İnsan vücudunun farklı bölgelerinde biyomekaniksel uyum nedeniyle üç farklı kıkırdak doku bulunur.

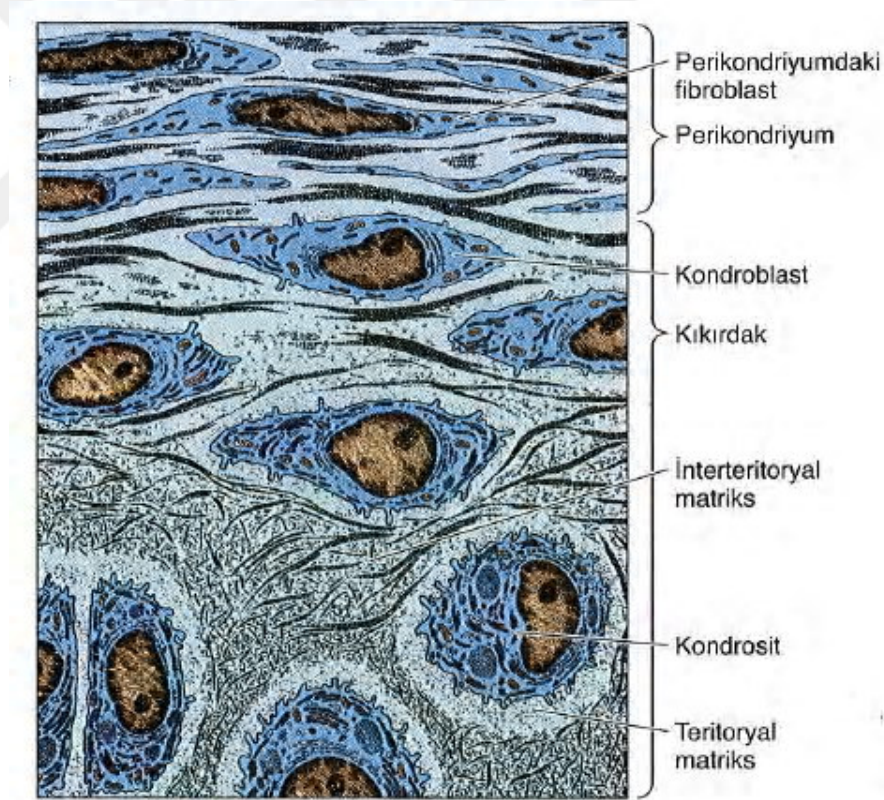
#### 2.3.3.1. Hiyalin Kıkırdak

İnsan vücudunda en yaygın bulunan kıkırdak tipidir. Adını Grekçedeki ‘hyalos’ yani ‘cam’ kelimesinden alır. Taze iken yarı saydam mavimsi beyaz renkte olması nedeniyle bu isim verilmiştir (105, 108).

Fetüste geçici iskeleti oluşturan hiyalin kıkırdak, daha sonra endokondral kemikleşmeyle kemik dokusuna dönüşür (76). Adölesan döneme kadar uzun kemiklerin şeklini ve büyümesini sağlayan büyüme plağının ayrılmaz bir parçasıdır (109). Erişkinlerde ise düşük sürtünme özelliği ve darbe emici özelliğinden dolayı sinoviyal eklemlerin yüzeyini eklem kıkırdağı olarak örter. Ayrıca burun, larinks, trakea ve bronş kıkırdakları ile kıkırdak kaburgalar hiyalin kıkırdak özelliğindedir. Hiyalin kıkırdağın yaklaşık %60-80’i sudur. Kıkırdağın esnekliği ile içerdiği su miktarı arasında doğrusal

bir orantı vardır. Bu oranda yaşa bağlı azalmalar görülür (76, 105). Hücrelerarası temel maddesi, glikozaminoglikan ve glikoprotein içeren kolajen liflerden oluşur. Bunlar homojen yapıya sahiptir ve %40'ını (ciltteki kolajenin yaklaşık beş katı) Tip II kolajen lifler oluşturmaktadır. Ayrıca az miktarda da olsa Tip IX, X ve XI kolajen lifler içerir. Metabolizması oldukça düşük olup rejenerasyon kabiliyeti yoktur (108).

Hiyalin kıkırdak yoğun bir bağ dokusu tarafından sıkı bir şekilde sarılmıştır. Bu yapıya perikondrium adı verilir (Şekil 2.6). Perikondrium; kıkırdığın korunmasını, çevre dokular ile bağlantısını, taşıdığı kan damarları ile beslenmesini ve rejenerasyonunu sağlar. Ayrıca gelişim döneminde kıkırdığın enine büyümesi de perikondrium sayesinde olur. Ancak eklem yüzeyini kaplayan kıkırdaklarda perikondrium bulunmaz ve kıkırdak direkt olarak kemik dokuyla bağlantı kurar (76).



**Şekil 2.6.** Hiyalin kıkırdak ve perikondrium (103)

### 2.3.3.2. Elastik Kıkırdak

Genel olarak hiyalin kıkırdağa benzeyen elastik kıkırdakta farklı olarak tip II kolajen liflerle birlikte matriks içinde balık ağına benzer çok sayıda elastik lif bulunur. Elastik lifleri içerdiği elastin nedeniyle taze halde bakıldığında sarımsı renkte görülür. Elastik kıkırdağın hücreleri yuvarlak şekilli ve kapsüllüdür (76). Ayrıca hiyalin kıkırdağa oranla hücre sitoplazmasında daha az miktarda yağ ve glikojen bulundurur. Bu durum, elastik kıkırdağın hem sağlam hem de esnek olmasını sağlar. Böylece kulak kepçesi, dış kulak yolu, östaki borusu, burun kanatları, epiglottis ve ses tellerinin tutunduğu processus vocalis’lerde olduğu gibi organların yapısal bütünlüğünü ve şeklini korurken aynı zamanda bükülebilmesine de olanak sağlar (110, 111).

### 2.3.3.3. Fibröz Kıkırdak

Fibröz kıkırdak, diğer kıkırdak tiplerine göre yapısında çok yoğun oranda kolajen lifler bulundurur. Adını oldukça yoğun fibröz doku içermesinden alır. Taze iken grimsi beyaz renkte görülür ve bu nedenle beyaz kıkırdak olarak da anılır. Sıkı bağ dokusundan zengin olan fibröz kıkırdak diğer kıkırdak tiplerinin aksine perikondrium bulundurmaz. Kıkırdak hücreleri ya tek başına ya da izogen gruplar şeklinde dizilmiş haldedir. Bu hücreler fibröz kıkırdağın matriksinde bolca bulunan tip I kolajen lifler ile birbirinden ayrılmışlardır (112, 113).

Vücutta yük dağıtabilme özelliğinden ötürü symphysis intervertebralis’lerde discus intervertebralis’in; art. temporomandibularis, art. sternoclavicularis, art. radiocarpalis ve symphysis pubis’te discus articularis’in ve art. genus’da meniscus’lerin yapısında bulunur. Ayrıca tendonların kemiğe tutunma alanlarında da fibröz kıkırdak bulunur (76, 113). Fibröz kıkırdak yaralandığında yerini sıkı fibröz bağ doku alır (79, 114).

### 2.3.4. Kıkırdak Doku Gelişimi

Kıkırdağın gelişeceği alanlarda mezenkimal hücreler uzantılarını kaybederek yuvarlaklaşırlar. Bu yuvarlak hücreler bir araya gelerek kondrifikasyon (kıkırdaklaşma) merkezini oluştururlar (3). Daha sonra bu hücre grupları kondroblastlara dönüşür. Kondroblastlar kendi çevrelerinde matriks sentezi yaparak kendilerine ait lakünalar oluşturur ve bu lakünalar içerisine hapsolurlar. Bu süreç tamamlandıktan sonra artık kondrosit olarak isimlendirilirler. Bu hücreler halen bölünme yeteneğini sürdürdüklerinden dolayı bir laküna içinde 2-8 adet hücre içeren izogen gruplar

oluştururlar. İzogen grup bir tek ana hücrenin 1-2 veya daha fazla bölünmesiyle meydana gelen yapıdır. İzogen grupların matriks üretimine devam etmesiyle lakünalar da birbirlerinden uzaklaşır ve kıkırdak içerden büyümeye başlar. Bu büyüme şekline interstisyel (içsel) tip büyüme denir (3, 110).

Apozisyonel büyümede ise ilk önce mezenkimal hücreler fibroblastlara farklılaşırlar. Gelişmekte olan kıkırdağın periferinde yer alan fibroblastlar, kıkırdağın varlığını ve büyümesini sürdürmesinden sorumlu perikondriumu şekillendirirler. Perikondrium iç ve dış olmak üzere iki tabakadan oluşur (110). Dış tabaka tip I kolajenden zengin olup fibroblast ve kan damarları içerir. İç tabaka ise kondrojenik hücrelerden oluşur ki bu hücreler bölünerek kondroblastlara dönüşürler ve matriks sentezleyerek kıkırdağın periferine ilave yapılar oluştururlar. Bu büyüme tipine apozisyonel büyüme denir ve kıkırdağın yaşamı boyunca devam eder (3, 110).

## **2.4. SIÇANLARIN EMBRİYONİK VE İSKELET SİSTEMİ GELİŞİMİ**

### **2.4.1. EMBRİYONİK GELİŞİM**

Siçanların gebelik süreleri ortalama olarak 21-22 gündür. Organların ana taslakları gebeliğin 9. veya 10. günlerinde gelişmeye başlar ve 16. günde tamamlanır. Yine aynı dönemde somit gelişimi de gerçekleşir ve bu süre içerisinde yaklaşık 65 adet somit oluşur. Bu somitlerin dağılımı 4'ü oksipital, 8'i servikal, 13'ü torakal, 6'sı lumbal, 4'ü sakral ve 30'u kaudal bölgede olacak şekildedir (109, 115).

10,5 günlük bir embriyoda; kas-iskelet sistemi, nöral krest, kalp, ön bağırsak ve karaciğer tomurcukları ile sayıları 7-9 arasında değişen somitlerin olduğu görülür. Bu dönemde embriyonun ventral olarak konveks olan konumu katlanmaya başlayarak 11,5. güne kadar tamamlanır ve dorsal olarak konveks hale gelir (115, 116).

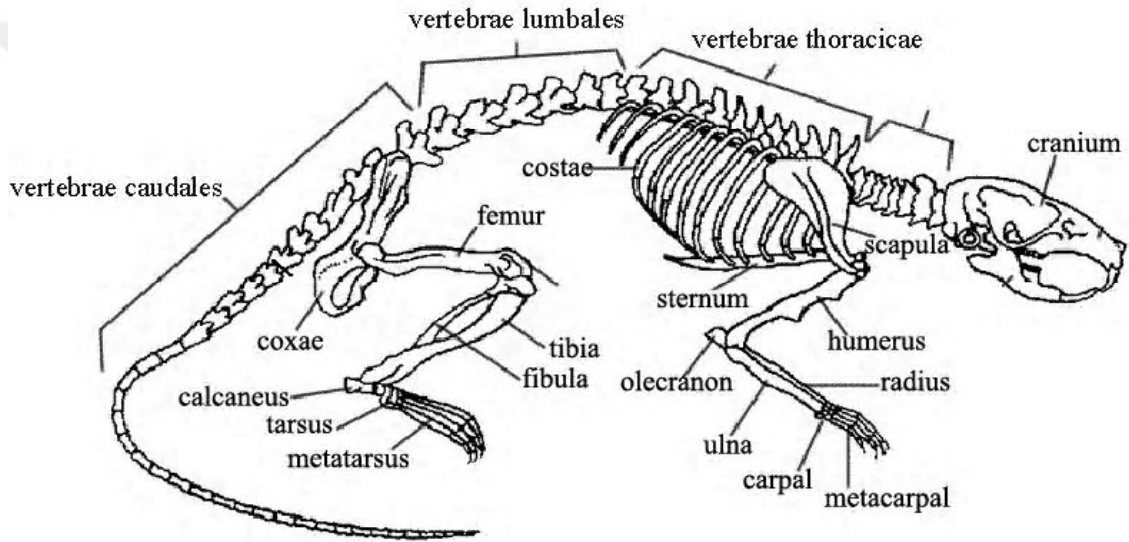
12,5 günlük embriyoda ise bütün organlar belirgin hale gelmiştir. Siçan embriyosunun bu dönemi insan embriyosunda hemen hemen 8. haftaya denk gelir (3, 109, 115).

16. gün metamorfozun son evresidir ve artık somit gelişimi tamamlanır. İlk kemikleşme merkezleri görülmeye başlar. İlk kemikleşme merkezleri; clavicula, kaburgalar ve kafatasının bazı kemiklerinde ortaya çıkar. Aynı zamanda omuz, dirsek, kalça ve diz eklemlerine ait eklem boşlukları da belirginleşmeye başlar (109, 115).

17. günden itibaren ekstremitelerinde ve kafatasının diğer kemiklerinde de kemikleşme görülmeye başlar. Yine el ve ayak bileğine ait eklemlerin boşlukları da belirginleşir. 18. günde kafatası hızla büyür ve damak taslakları kaynaşır. 19. ve 20. günlerde ise ön ve arka ekstremitelerin parmak eklemlerine ait boşluklar oluşmaktadır (115, 116).

#### 2.4.2. İSKELET SİSTEMİ GELİŞİMİ

Sıçan iskelet sistemi diğer memelilerde olduğu gibi skeleton axiale ve skeleton appendiculare olmak üzere iki kısımda incelenir (Şekil 2.7), (116, 117).



Şekil 2.7. Sıçan iskelet sisteminin görünümü (118)

##### 2.4.2.1. Skeleton axiale (Aksiyal İskelet)

Sıçanların aksiyal iskeleti; cranium (kafatası), columna vertebralis (omurga) ve thorax'tan (göğüs kafesi) oluşur. Sıçan iskeletinde toplam 223 kemik bulunur.

**Kafatası kemikleri:** Sıçanların kafatasını, bir kısmı tek bir kısmı çift olmak üzere, toplam 28 kemik oluşturur. Tek olan kemikler; os ethmoidale, os occipitale, os hyoideum, os interparietale, os palatinum ve vomer iken çift olanlar ise os parietale, os sphenoidale, os temporale, os lacrimale, os incisivum, os nasale, os zygomaticum, os pterygoideum, os frontale, maxilla ve mandibula'dır. Bununla birlikte stapes, incus, malleus ve os lenticulare olmak üzere 4 çift kulak kemikçigi bulunur. Bu kemiklerin

önde yer alanları splancnocranium'u (yüz iskeleti) oluştururken arka tarafta yer alan kemikler neurocranium'u oluşturur. (116, 117).

**Omurga:** Sıçan omurgasını 7'si servikal, 13'ü torakal, 6'sı lumbal, 4'ü sakral ve 27-31'i kaudal bölgede olmak üzere toplam 57-61 kemik oluşturur. Omurga; baş ile gövdenin desteklenmesini, ağırlığın dengeli olarak aktarılmasını ve diğer aksiyal unsurların bağlanmasını sağlayan aksiyal iskelet parçasıdır (116).

Omurgayı oluşturan vertebralar arasında genel olarak benzerlik vardır ancak bölgesel olarak şekil ve boyut açısından farklılık göstermektedir. Servikal vertebraların en önemli ayırt edici özelliği kan damarlarının geçtiği foramen transversarium'ları bulundurmasıdır. Servikal vertebralar içerisinde en büyük olanı atlas ve axis'tir. Torakal vertebralarda kuyruk kısmına doğru gittikçe 2 mm'den 7 mm'ye kadar artış gösteren boy uzunluğu dikkat çeker. Gövdelerinde ve transvers çıkıntılarında kaburgalarla eklem yapmaya yarayan eklem yüzlerinin varlığı torakal vertebraları diğer vertebralardan ayırt eden en önemli özelliktir. Canalis vertebralis'in çapı servikal bölgeden daha dar olup 3,3 mm'ye kadar düşer. Lumbal vertebraların gövdeleri diğer vertebralara göre daha büyük ve geniştir. Ayrıca belirgin çıkıntıları vardır. Sakrum, 4 adet sakral vertebranın üst üste gelmesiyle oluşur. Toplam uzunluğu 20-23 mm'dir. Transvers çıkıntıları ve eklem çıkıntıları oldukça belirgin olup pelvis iskeletinin yapısına katılır. Kaudal bölgeye ait ilk dört vertebra sacral vertebralarla benzerlik gösterir. Sayısı kuyruk uzunluğuna bağlı olarak değişmektedir. Bu vertebraların sadece ilk ikisinde arcus vertebralis tam olarak gelişme gösterir ve kapanır. Kuyruğa doğru gittikçe diğer vertebraların arcus vertebralis'i tam olarak kapanmayıp arka kısımları 'U' şeklinde açık kalmaktadır (117).

**Göğüs kemikleri:** Sıçanların göğüs iskeleti toplam 27 adet kemikten meydana gelir. Bu kemikleri dorsalde torakal vertebralarla, ventralde ise sternum ile eklem yapan 13 çift costa ve 1 adet sternum oluşturur. İlk 7 çift costa sternum ile direkt eklem yaparak gerçek costa (costae verae), son 6 çifti ise sternumla direkt eklem yapmayarak yalancı costa (costae spuriae) adını alır. Yalancı costaların ilk 3 çifti 7. kaburgaya tutunmak suretiyle sternumla bağlantı kurarken, son 3 çifti (costae fluctuantes) ise sternuma tutunmayarak serbest sonlanır. Sternum göğüs kafesinin ventralinde orta hatta bulunur (117, 118).

#### 2.4.2.2. Skeleton appendiculare (Appendiküler iskelet)

Sıçanlarda appendiküler iskeleti ön ekstremitte ve arka ekstremitte kemikleri oluşturmaktadır (117).

**Ön ekstremitte kemikleri:** Ön ekstremitte toplam 64 kemik bulunur. Bu kemikler kranialden kaudale doğru; clavícula, scapula, humerus, radius, ulna ve ön ayak kemikleri şeklinde yer alır (117, 118).

**Clavícula:** İskelet sisteminde ilk kemikleşmenin görüldüğü kemiktir. Clavícula proksimalde sternum ile eklem yaparak ön ekstremitteyi aksiyal iskelete bağlar. Bu ucu daha kalın ve kaşık şeklindedir. Distalde ise scapula ile eklem yapan yassı bir uca sahiptir. Clavícula'nın proksimal kısmı kalın distal kısmı ise yassıdır (118).

**Scapula:** Üçgene benzeyen yassı bir kemiktir. Göğüs kafesinin dış yüzünün ön tarafında bulunan scapula'nın üç kenarı, üç köşesi ve iki yüzü vardır. Sıçan scapula'sının kenarları margo dorsalis, margo cranialis ve margo caudalis olarak adlandırılır. Scapula'nın dış yüzünde orta hattan dışa doğru gittikçe kalınlaşan spina scapulae adında belirgin bir çıkıntı vardır. Spina scapulae'nın yassılaşılarak son bulan uç kısmına acromion denir. Scapula'nın üst kenarında, omuz eklemine dıştan kuşatan processus coracoideus isimli bir çıkıntı ve dış kenarında humerus ile eklem yapan fossa glenoidalis adı verilen bir çukur bulunur (117).

**Humerus:** Ön ekstremitte scapula'dan sonra en uzun kemik humerus'tur. İki ucu ve bir gövdesi bulunur. Proksimal uçta caput humeri, tuberculum majus, tuberculum minus, tuberositas deltoidea ve ayrıca yaşlı sıçanlarda tuberositas teres isimli oluşumlar yer alır. Caput humeri, scapula'nın fossa glenoidalis'i ile articulatio humeri'yi oluşturur. Önkol kemikleri ile eklem yapan distal uçta ise iyi gelişmiş iki ayrı epikondil bulunur. (118).

**Radius ve Ulna:** Ön ekstremitte iskeletinde iç tarafta bulunan kemiğe ulna, dış tarafta bulunan kemiğe radius denir. Ulna ve radius'un kalınlıkları hemen hemen aynı olsa da ulna radius'tan 1/6 oranında daha uzundur. Bu uzunluğun sebebi olecranon'un varlığıdır. Bu kemik yapılar arasında dar bir aralık vardır ve burası fibröz bir membran tarafından kapatılmıştır.

Ön ekstremitte iskeletinde ön ayağa ait 27 adet kemik bulunur. Bu kemiklerin dağılımı; ossa carpi (8 adet), ossa metacarpi (5 adet) ve ossa digitorum manus (14 adet) şeklindedir (117).

**Karpal kemikler:** Distal ve proksimal olmak üzere iki sıra halinde dizilmiştir. Proksimal sırada 3 adet kemik bulunur. Bu kemikler dıştan içe doğru sırasıyla; intermediolateral (sacpholunatum: radial ve intermediolateral kemiklerin birleşmesiyle oluşur), ulnar (triquetrum) ve aksesuar (psiforme) kemiklerdir. Distal sıra ise 5 adet kemikten oluşur. Bunlar; os carpale primum, secundum, tertium ve quartum ve ossa carpi centralis'tir. Bunların dışında kanca şeklinde iki tane de sesamoid kemik vardır. Bu kemiklerden medialdekine os falciforme veya os marginale, lateraldekine ise phalanx postminimi denir (117, 118).

**Metakarpal kemikler:** 5 adet metakarpal kemik bulunur. Bunlar en kısıdan en uzuna doğru 1, 5, 2, 4, 3 şeklinde sıralanır (118).

**Parmak kemikleri:** 5 parmakten oluşur. Başparmakta iki diğer parmaklarda üçer adet olmak üzere toplam 14 falanks bulunur (117).

**Arka ekstremitte kemikleri:** Sağda ve solda 32'ser adet olmak üzere toplam 64 kemik bulunur. Bunlar, os coxae, femur, tibia, fibula, patella ve arka ayak kemikleridir (117, 118).

**Os coxae:** Pelvis iskeletinin ön yan kısmını oluşturan bir çift kemiktir. Os coxae; ilium, ischium ve pubis kemiklerinden oluşur. Arka tarafta sacrum kemiği ile eklem yapar. Acetabulum ile caput femoris arasında art. coxae'yı oluşturarak pelvis ile arka ekstremitte arasında bağlantıyı kurar (118).

**Femur:** Arka ekstremitteye ait en uzun kemiktir. İki ucu ve bir gövdesi bulunur. Proksimal uçta; caput femoris ve collum femoris ile birlikte trochanter major, trochanter minör ve trochanter tertius olmak üzere üç tane çıkıntı vardır. Distal uçta ise condylus medialis ve lateralis şeklinde iki kondili bulunur (116).

**Tibia ve Fibula:** Anatomik yapısı insandakinden biraz farklı olan tibia ve fibula birleşik olmalarından ötürü 'os tibiofibulare' olarak isimlendirilir. Çünkü bu iki kemik distalde ve proksimalde birbirleriyle bitişiktir. Genç hayvanlarda kısmi bir kemikleşme görülürken yaş ilerledikçe daha iyi kaynaşarak tek kemik halini alır. Bu birleşme kranialde fibröz eklemleşme, kaudalde ise tam birleşme şeklindedir (116).

Arka ektremite ayak iskeletinde toplam 27 adet kemik bulunur. Bunlar 8 adet ossa tarsi, 5 adet ossa metatarsi ve 14 adet ossa digitorum pedis'ten oluşur (116, 117).

**Ossa tarsi:** Ayak bileğine ait bu kemikler proksimal ve distal olarak iki sıra halinde dizilmiştir. Proksimal sırada; talus, calcaneus, os tibiale mediale tarsi ve os naviculare (os tarsi centrale) adlarında 4 adet kemik yer alır. Distal sıradaki kemikler ise medialden laterale doğru os cuneiforme mediale, os cuneiforme intermedium, os cuneiforme laterale ve os cuboideum (os tarsale I, os tarsale II, os tarsale III, os tarsale IV) şeklinde yine 4 adettir (117).

**Ossa metatarsi:** 5 adet metatarsal kemik bulunur. Bunların en kısısı I. metatars, en uzununu ise III. metatars'tır (116, 117).

**Ossa digitorum pedis:** Birinci parmakta iki, diğer dört parmakta üçer adet olmak üzere toplam 14 adet falanks bulunur (116).

## 2.5. İKİLİ İSKELET BOYAMALARI

Endüstriyel ve farmakolojik ajanların teratojenik etkilerinin fetüs ve yeni doğanlarda ortaya çıkardığı iskelet anomalileri gözlem, diseksiyon veya boyama teknikleri kullanılarak belirlenebilmektedir. Gözlem yapma bu yöntemlerden en basit olanıdır ve sadece major anomaliler tayin edilebilir. Bir diğer yöntem olan diseksiyon tekniğinde ise yumuşak dokuların uzaklaştırılmasından sonra incelemede bulunulur. Ancak bu yöntemle diseksiyon esnasında kemik ve kıkırdak dokuya zarar verilebileceği gibi bu iki dokunun birleşim sınırları da net olarak belirlenemez. Bu nedenle diseksiyon yönteminde kemik gelişiminin tayini oldukça zordur (118). İkili iskelet boyama tekniği ise iskeleti oluşturan kemik ve kıkırdak yapıların farklı renklerde ya da aynı rengin farklı tonlarında boyanması işlemidir ve hem teratojenik hem de gelişimsel anomalilerin incelenmesinde en sık kullanılan yöntemdir (5, 6).

Teratojenite çalışmalarında, çeşitli kimyasal maddelerin ve fiziksel etkenlerin iskelet sistemi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanır. Bu doğrultuda gebe deney hayvanları; gebelikleri boyunca veya gebeliklerinin belirli bir döneminde, sadece anneye veya yavruya veya her ikisine birden etki edebilen, kimyasal veya fiziksel ajanlara maruz bırakılır. Böylece gebeliğin belirli bir evresinde ya da sonunda fetüslerin iskelet sistemleri boyanarak herhangi bir malformasyonun olup olmadığı

incelenebilmektedir (6). Ayrıca abortus nedeniyle elde edilen insan embriyo ve fetüslerine de ikili iskelet boyaması uygulanarak farklı kemiklerdeki kemik ve kıkırdak alanlarının oranı, kemikleşme ve fetüs yaşı tespit edilebilmektedir (6, 119).

Teratojenik ve gelişimsel araştırmaların yapıldığı ilk çalışmalarda fetüslerin iskelet sistemini oluşturan yapılardan sadece kemiğin boyandığı Alizarin red-S ile boyama yapılmaktaydı. Ancak fetüs iskeletinin önemli bir bölümünün kıkırdaktan oluşması, tek başına kemiğin boyanması ile elde edilecek sonuçların güvenilir olamayacağını ortaya koymuştur. Ayrıca kıkırdak dokuda oluşabilecek anomalilerin gözden kaçabileceği de anlaşılmıştır. Bu nedenle iskeleti oluşturan kıkırdak ve kemik bölümlerin boyanmasını sağlayan yeni çalışmalar denenmiştir. Inouye (120) 1976 yılında tek aşamada kemik alanları Alizarin red S, kıkırdak alanları ise Alcian blue ile boyamayı başarılı bir şekilde gerçekleştirmiştir. 'İkili iskelet boyama metodu' olarak adlandırılan bu yöntem günümüzde sık kullanılan ve son derece güvenilir sonuçlar veren yöntemlerden biridir (6, 119, 120).

## 2.6. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA

İmmünohistokimyasal boyama, işaretlenmiş antikorlar vasıtasıyla hücre ve doku içinde bulunan bazı enzimlerin ya da makromoleküllerin lokalizasyonlarını incelemeye yardımcı olan bir boyama yöntemidir. Bu yöntemin asıl amacı; çeşitli hücre ve doku komponentlerinin lokalizasyonunu ve sayısal miktarını, antijen ve antikorun reaksiyonu yardımıyla tespit etmektir (121).

İlk olarak 1941 yılında Albert H. Coons ve arkadaşları tarafından uygulanan immünohistokimyasal boyama, bir antikoru flüoresan bir boya ile işaretleyerek doku kesitlerinde antijenleri işaretlemek için kullanılmıştır. Bu amaca yönelik kullanılan ilk flüoresan boya 'fluorescein isocyanate' idi (122). Ancak daha sonra 'fluorescein isothiocyanate'in antikora daha kolay bağlandığı anlaşılmış ve kullanımı yaygınlaşmıştır (121).

İmmünohistokimyasal boyama yönteminde doku antijenlerinin gösterilmesi için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlar; 1- Direkt Yöntem, 2- İndirekt Yöntem, 3- Çözünabilir Enzim İmmün Kompleks Yöntemi ve 4- Avidin-Biotin Yöntemi'dir (121, 123).

**Direkt Yöntem:** Bu yöntemde, primer antikora öncelikle peroksidaz, alkalen fosfataz gibi enzimler veya florokromlar işaretleyici olarak tutunur. Daha sonra ise işaretlenmiş olan primer antikör dokudaki antijene direkt olarak bağlanır. Böylece antijenin yeri ve sayısı belirlenebilir (121, 122).

**İndirekt Yöntem:** Bu yöntemde ise primer antikör işaretlenmez. Dokudaki antijene önce işaretli olmayan primer antikör bağlanır. Daha sonra ise işaretlenmiş olan sekonder antikör primere bağlanır. Bu yöntemle iki aşamada, dokudaki antijenin yeri ve sayısı belirlenebilir (121).

**Çözünabilir Enzim İmmün Kompleks Yöntemi:** Daha kompleks olan bu yöntemde, primer antikör, sekonder (bağlayıcı) antikör ve çözünabilir bir enzim–antienzim kompleksi yer alır. Önce primer antikör ve enzim–antienzim kompleksi aynı hayvandan elde edilir, daha sonra her ikisini de tanıyan sekonder antikora bağlanır. Peroksidaz–antiperoksidaz (PAP) ve alkalen fosfataz–antialkalen fosfataz (APAAP) kompleksleri, bu teknikte en yaygın kullanılan enzim–antienzim kompleksleridir (121, 123).

**Avidin-Biotin Yöntemi:** B grubu bir vitamin olan 'avidin'in biotine affinitesi oldukça yüksektir ve ikisi arasında irreversibl bir bağlanma gerçekleşir. Avidin-biotin yönteminde önceleri yumurta akından elde edilen 'avidin' kullanılırken günümüzde ise 'Streptomyces avidinii' adlı mikroorganizmadan izole edilen 'streptavidin' tercih edilmektedir. Primer antikora, biotinlenmiş sekonder antikörün bağlanmasıyla dokudaki antijen sayısı ve yeri tespit edilir (121, 122).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Çalışmamız Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 16/11/2016 tarih ve 16/145 nolu kararı ile onaylandı. Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının bakımı, beslenmesi, hayvanlara yapılacak ilaç uygulamaları ve deneyin sonunda hayvanların sakrifikasyonu Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEKAM) bünyesinde yapıldı. Çalışma süresince yapılan tüm işlemler etik kurul yönergesinde belirtilen kurallara uygun olarak gerçekleştirildi. Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2017-7379 nolu proje ile desteklendi.

#### **3.1. DENEY HAYVANLARININ SEÇİMİ VE ÇİFTLEŞTİRİLMESİ**

Çalışma kapsamında DEKAM bünyesinde yer alan, herhangi bir çalışmada kullanılmamış, ortalama 185-200 gr ağırlığına sahip ve en az 8 haftalık 20 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılacak olan dişi sıçanlar 20 gün süreyle erkek sıçanlardan ayrı olarak bekletildi. Gebe olmadığı belirlenen dişi sıçanlar, gebe kalmaları amacıyla akşam saat 17.00 sularında erkek sıçanlar ile birlikte (2 dişiye 1 damızlık erkek düşecek şekilde) aynı kafese alındı. Ertesi günün sabahı saat 08.00'e kadar sıçanlar aynı kafes içinde bekletildi. Bu sürecin sonunda dişi sıçanlardan alınan vaginal smear örnekleri mikroskop altında incelendi ve vaginal smearda spermium görülen dişiler 0.5 günlük gebe olarak belirlendi.

### 3.2. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI

Vaginal smearında spermium görülen dişi sıçanlar her grupta 4'er adet olacak şekilde rastgele 5 gruba ayrıldı (Şekil 3.1). Gruplardaki gebe sıçan sayısı; her grupta en az 15 fetüste ölçüm yapılmak üzere diseksiyon, ikili iskelet boyama ve immünohistokimyasal boyama aşamalarında oluşabilecek hasarlar hesap edilerek belirlendi.



**Şekil 3.1.** Grupların oluşturulması

**Kontrol Grubu:** Bu grupta bulunan sıçanlara gebeliklerinin 1-20. günlerinde 16.30-17.00 saatleri arasında 1 ml/gün serum fizyolojik (SF) gavaj ile oral yoldan verildi.

#### **Parasetamol Verilen Gruplar**

Deney gruplarında verilecek olan dozlar (50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg, 500 mg/kg) literatüre uygun olarak belirlendi (124, 125). Parasetamol (Doğa İlaç Hammadde Ltd. Şirketi, İstanbul) toz şeklinde elde edildi. Her gün uygulama öncesi, sıçan başına verilecek uygun dozdaki parasetamol miktarı, 1 ml SF içerisinde çözdürülerek 16.30-17.00 saatleri arasında gavaj yardımıyla oral yoldan verildi (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Sıçanlara gavaj ile parasetamol uygulaması

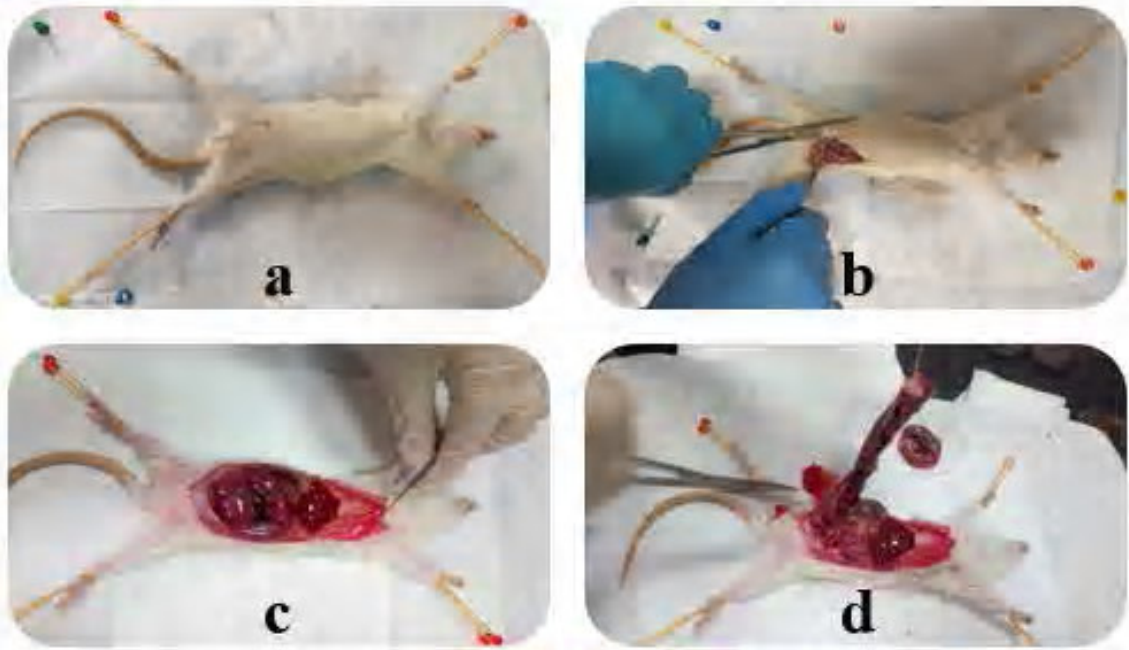
**50 mg/kg parasetamol grubu:** Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 50 mg/kg parasetamol uygulaması yapılan grup.

**125 mg/kg parasetamol grubu:** Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 125 mg/kg parasetamol uygulaması yapılan grup.

**250 mg/kg parasetamol grubu:** Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 250 mg/kg parasetamol uygulaması yapılan grup.

**500 mg/kg parasetamol grubu:** Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 500 mg/kg parasetamol uygulaması yapılan grup.

Hem kontrol grubunda ve hem de deney gruplarında SF ve parasetamol uygulaması bitimini (20. gün sonu) takip eden gün (21. gün) sabah saat 08.00'de gebe sıçanlara ketamin (75 mg/kg) + ksilazin (10 mg/kg) anestezisi uygulandı. Anestezi altına alınan gebe sıçanların karın bölgesi %70'lik alkol ile temizlendi. Daha sonra transvers bir kesi ile karın ön duvarları kaldırıldı. Uterus içerisine yerleşmiş olan fetüsler plasentaları ile birlikte diseke edildi. Tüm fetüsler petri kaplarına alındı (Şekil 3.3). Sezaryen ile fetüslerin karın içerisinden çıkarılmasını takiben tüm anne sıçanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildi.

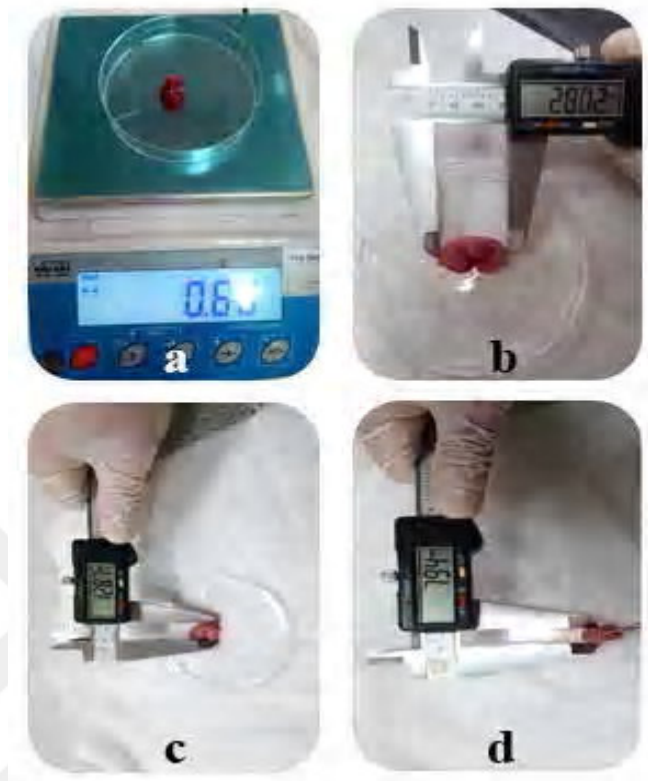


**a:** Anestezi altındaki sıçanın sırtüstü yatırılıp hazırlanması **b:** Pubis hizasından yukarıya doğru 'V' şeklinde kesi atılması **c:** Karın ön duvarının kaldırılması ve fetüslerin uterus içinde görünümü **d:** Fetüslerin anne karnından petri kabına alınması

**Şekil 3.3.** Fetüslerin anne karnından çıkartılması

### 3.3. DENEKLERİN ELDE EDİLMESİ

Petri kabı içerisine alınan fetüsler, plasentalarından ayrıldı. Fetüslerin ve ait oldukları plasentaların ağırlıkları tek tek tartılarak kayıt altına alındı. Ayrıca fetüslerin baş-kıç uzunlukları, occipito-frontal ve bilateral baş çapları dijital kumpas yardımıyla ölçülerek not edildi (Şekil 3.4). Bu aşamadan sonra fetüsler makroskopik olarak incelendi ve yüksek doz eter inhalasyonu ile sakrifiye edildi. Kontrol grubunda 53, 50 mg/kg parasetamol verilen grupta 51, 125 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 49, 250 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 48 ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupta ise 43 olmak üzere toplam 244 fetüs elde edildi. 108 tanesi ikili iskelet boyama prosedürüne tabi tutuldu. 10 tanesi diseksiyon ve boyama aşamalarında zarar gördükleri için değerlendirmeye alınmadı. İmmünohistokimyasal boyama analizleri için ise 75 fetüs kullanıldı. Kalan 61 adet fetüs ise bütçemiz yeterli olmadığı için daha sonra Steroelektron Mikroskop (SEM) altında incelenmek üzere saklandı. İki farklı analiz için ayrılan fetüsler gruplara rastgele dağıtılarak kontrol ve deney grupları oluşturuldu.



**a:** Fetüslerin ve plasentaların ağırlıklarının ölçülmesi **b:** Baş-kıç uzunluğu **c:** Occipito-frontal uzunluk **d:** Biparietal uzunluk ölçümü yapılması

**Şekil 3.4.** Morfometrik ölçümlerin yapılması

### 3.4. İKİLİ İSKELET BOYAMA YÖNTEMİ

#### 3.4.1. İkili İskelet Boyama İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Diethylether For Analysis Emsure Merck (Almanya)
- Etil Alkol %96 NECM (Türkiye)
- Acetic Acid (Glacial) %99 Merck (Almanya)
- Xylene For Analysis Emsure Sigma-Aldrich (Almanya)
- Alcian Blue 8 Gx Merck (Almanya)
- Alizarin Red S Sigma-Aldrich (Almanya)
- Potassium Hydroxide GR For Analysis Merck (Almanya)

- Gliserin %99.5 Merck (Almanya)

### 3.4.2. İkili İskelet Boyama Süreci

İkili boyamaya tabi tutulacak fetüslerin öncelikle diseksiyonla derileri soyularak iç organları çıkartıldı ve orbitaları boşaltıldı. Bu işlemler sırasında bütünlüğü bozulan ve hasar gören fetüsler çalışmaya dâhil edilmedi. Boyama işlemine geçmeden önce tüm fetüslerin tespiti ve dokularından sıvının çekilmesi için %70'lik etil alkol içinde 4-7 gün bekletilmesini takiben saf asetonda 1-3 gün bekletilerek yağlarından arınması sağlandı. Bu işlemin ardından fetüsler tekrar kontrolden geçirilerek üzerlerinde kalan artık deri parçaları ve iç organ kalıntıları temizlendi. (Şekil 3.5). Fetüs iskeletlerinin boyama işlemi aşağıda belirtilen protokole uygun olarak gerçekleştirildi (6, 115, 118, 126,), (Tablo 3.1).



**Şekil 3.5.** İkili boyama için fetüslerin derileri soyulmuş, iç organları ve gözleri çıkartılmış görüntüsü (Ölçekteki çizgiler arası 1 mm'dir)

**Tablo 3.1.** İkili İskelet Sistemi Boyama Yöntemi

| <b>Teknik Aşamalar</b>  | <b>Solüsyonlar</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <b>Süre</b>                                  |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| <b>Tespit</b>           | % 70'lik Etil Alkol                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 4-7 gün                                      |
| <b>Yağdan Arındırma</b> | Saf Aseton                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1-3 gün                                      |
| <b>Boyama</b>           | <b>Boyanın hazırlanışı</b><br><b>1. solüsyon:</b> 300 mg Alcian Blue + 100 ml %70'lik Etil Alkol<br><b>2. solüsyon:</b> 100 mg Alizarin Red-S + 100 ml %95'lik Etil Alkol<br><b>3. solüsyon:</b> 1. solüsyon + 2. solüsyon + 100 ml Glacial Asetik Asit<br><b>4. solüsyon:</b> Hazırlanan ilk üç solüsyonun içerisine 1700 ml %70'lik Etil Alkol ilave edilerek hazırlanır. | 7 gün süreyle 38-40 °C'de etüvde bekletildi. |
| <b>Şeffaflaştırma</b>   | <b>1)</b> %1'lik KOH<br><b>2)</b> %1'lik KOH (80 ml) + %20'lik Gliserin (20 ml)<br><b>3)</b> %1'lik KOH (50 ml) + %50'lik Gliserin (50 ml)<br><b>4)</b> %1'lik KOH (20 ml) + %80'lik Gliserin (80 ml)                                                                                                                                                                       | 1-3 gün<br>5-7 gün<br>5-7 gün<br>5-7 gün     |
| <b>Saklama</b>          | %100'lük Gliserin                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                              |

**Boya solüsyonunun hazırlanışı:** Boya solüsyonu belirtilen yöntemlerle ayrı ayrı hazırlanan solüsyonların birleştirilmesi ile elde edildi.

**Bu solüsyonların hazırlanması:**

**1. solüsyon:** 100 ml %70'lik etil alkol içerisinde 300 mg Alcian Blue'nun sürekli karıştırılarak eritilmesi ile hazırlandı.

**2. solüsyon:** 100 ml %95'lik etil alkol içerisinde 100 mg Alizarin Red-S'in sürekli karıştırılarak eritilmesi ile hazırlandı.

**3. solüsyon:** Daha önce hazırlanmış olan birinci solüsyonun içine ikinci solüsyon azar azar ilave edilerek elde edildi. Bu iki solüsyonun tamamen karıştırılması için bir süre beklendi. Daha sonra karışıma 100 ml Glacial Asetik Asit eklendi.

**4. solüsyon:** Üçüncü solüsyona 1700 ml %70'lik Etil Alkol eklenerek elde edildi.

**Boyama süreci:** Asetondan çıkarılıp kontrol edilen fetüsler cam kaplar içerisinde bulunan boya solüsyonuna alındı. Solüsyonun bulunduğu cam kaplar hava almaması için streç film ile sarıldı ve sıcaklığı 38-40°C'ye ayarlanmış olan etüve alındı. Etüv içerisinde 7 gün boyunca bekletilerek dokuların boyanması sağlandı. 7. günün sonunda fetüslerin, akan musluk suyu altında 2 saat süreyle yıkanarak, su ile tepkimeye girmesi sağlandı. Daha sonra şeffaflaştırma aşamasına geçildi.

**Şeffaflaştırma aşaması:** Toplam 4 aşamadan oluşur.

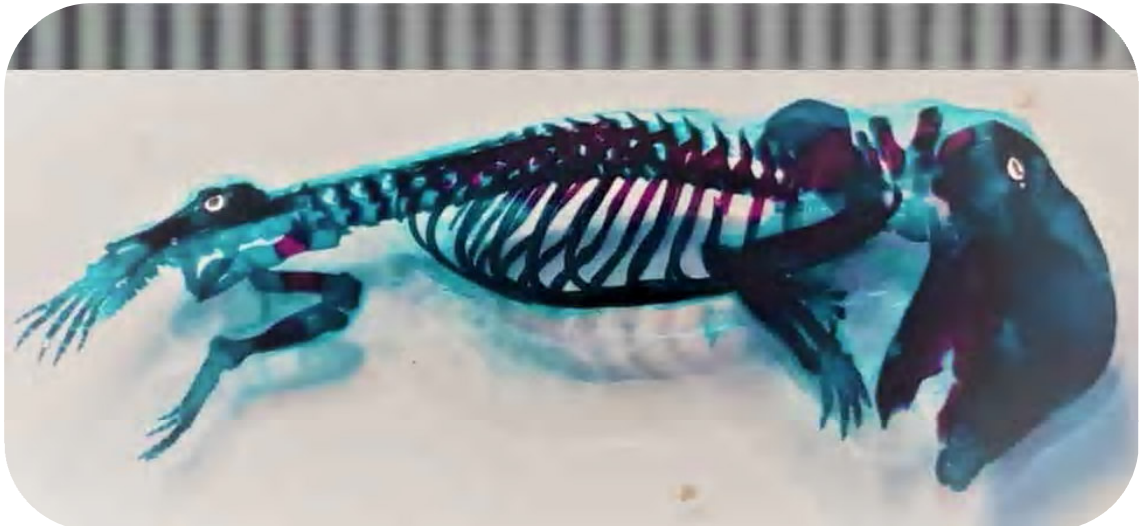
**1. aşama:** Boyama işlemi tamamlanmış olan fetüsler %1'lik KOH içerisinde 1 gün süreyle bekletildi.

**2. aşama:** 80 ml %1'lik KOH ve 20 ml %20'lik gliserinden oluşan karışım içinde 5 gün süreyle bekletildi.

**3. aşama:** 50 ml %1'lik KOH ve 50 ml %50'lik gliserinden oluşan karışımda 5 gün süreyle bekletildi.

**4. aşama:** 20 ml %1'lik KOH ve 80 ml %80'lik gliserinden oluşan solüsyonda 5-7 gün süreyle bekletildi.

Şeffaflaştırma işleminin tamamlanmasından sonra iskelet sistemi tamamen görünür hale gelen fetüsler %100'lük gliserin içerisine alınarak saklandı (Şekil 3.6).



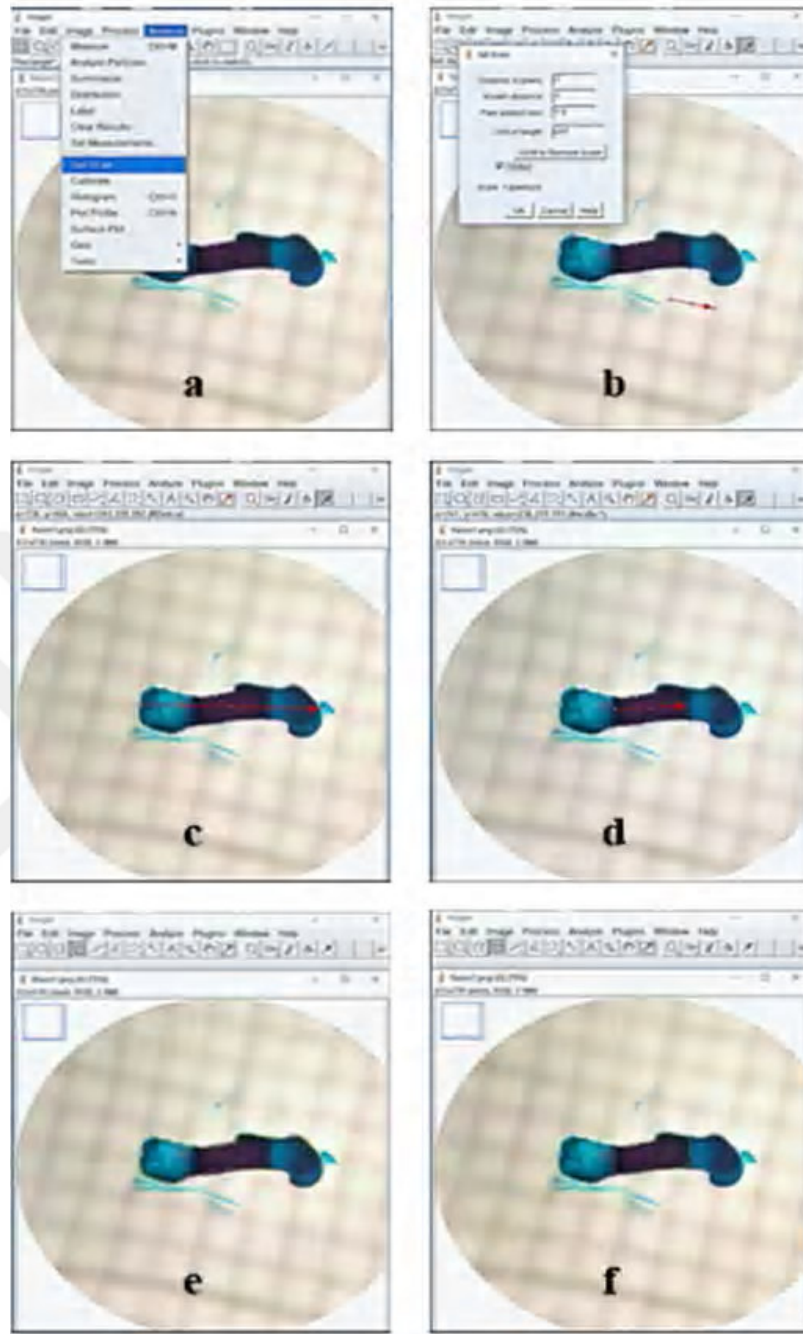
**Şekil 3.6.** İkili boyama prosedürü uygulanmış fetüsün %100'lük gliserin içerisindeki görüntüsü (Ölçekteki çizgiler arası 1 mm'dir)

### 3.4.3. İkili İskelet Boyamaya Ait Morfolojik Ölçümlerin Yapılması

Fetüs iskeletlerinin morfometrik ölçümlerinin yapılabilmesi için milimetrik kâğıt üzerine yerleştirilen ön ve arka ekstremiteye ait kemiklerin fotoğrafları çekildi. Fotoğraf çekimi Nikon E5700 marka fotoğraf makinesi ile yapılarak kayıt altına alındı. Daha sonra elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı ve ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) yazılım programı kullanılarak ölçümler gerçekleştirildi.

Kemik ve kıkırdak alanlar üzerinde yapılan ölçümlerin doğru sonuç verebilmesi için orijinal görüntü ile fotoğraf arasında kalibrasyon ayarı yapıldı (Şekil 3.7).

Kemikleşme uzunluğunun tüm kemik uzunluğuna oranını belirlemek için, 'Kemikleşme Uzunluğu / Tüm Kemik Uzunluğu x 100' formülü; kemikleşme yüzey alanının tüm kemik yüzey alanına oranını belirlemek için ise 'Kemikleşme Alanı / Tüm Kemik Alanı x 100' formülü kullanıldı.



**a:** Ölçüm yapılacak olan fotoğrafın ImageJ programı ile açılması ve fotoğraftaki milimetrik kâğıtta, orijinali 1 mm olan mesafenin Straight Line kullanılarak ölçülmesi

**b:** ImageJ programında yer alan Analize, Set Scala ve Known Distance menüleri kullanılarak kalibrasyon işleminin yapılması

**c, d:** 'Wand Tool' özelliği ile toplam kemik uzunluğunun ve kemikleşme görülen bölgenin uzunluğunun manuel olarak belirlenmesi

**e, f:** Toplam kemik alanının ve kemikleşme görülen bölgenin alanının manuel olarak belirlenmesi.

**Şekil 3.7.** Görüntünün ImageJ programında kalibrasyonu ve morfometrik ölçümler

### 3.5. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMİ

#### 3.5.1. İmmünohistokimyasal Boyama İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Aseton %99.5 Merck (Almanya)
- Anti-Alkanine Phosphatase Antibody 100 µl Abcam (Amerika)
- Phosphate Buffer Saline (PBS) Sigma-Aldrich (Almanya)
- EDTA Buffer, PH 8, 125 ml Thermo Fisher Scientific (Amerika)
- Citrat Buffer, pH 6, 125 ml Thermo Fisher Scientific (Amerika)
- Ultravision Polyvalent (Rabbit-Mouse) HRP Kit, 125 ml Thermo Fisher Scientific (Amerika)
- DAB Chromogen and Substrate System, 125 ml Thermo Fisher Scientific (Amerika)
- Rabbit Anti-TRAP/Tartrate Resistant Acid Phosphate Polyclonal Antibody Abcam (Amerika)
- ImmunoCruz™ Rabbit ABC Staining System Santa Cruz Biotechnology (Amerika)

#### 3.5.2. Histolojik (immünohistokimyasal süreç için) Doku Takibi

Histolojik değerlendirme için rastgele belirlenen fetüsler sakrifiye edildi ve arka ekstremitelerine ait kemik dokuları (femurlar) disekte edilerek ayrıldı. Daha sonra kemik dokular Tablo 3.2'de belirtilen 'Rutin Histolojik Takip Aşamaları'ndan geçirilerek (121) uygun pozisyonda parafine gömüldü ve bloklama yapıldı.

**Tablo 3.2.** Rutin Histolojik Takip Aşamaları

| Sıra     | Yapılan İşlem                    | Süre    | Sıra      | Yapılan İşlem                   | Süre      |
|----------|----------------------------------|---------|-----------|---------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | %10 Formaldehit ile doku tespiti | 72 saat | <b>8</b>  | Absolü Alkol ile dehidrate etme | 1saat     |
| <b>2</b> | Musluk suyu ile yıkama           | 1 gece  | <b>9</b>  | Absolü Alkol ile dehidrate etme | 1saat     |
| <b>3</b> | %50 Alkol ile dehidrate etme     | 1 saat  | <b>10</b> | Ksilen ile şeffaflaştırma       | 20 dakika |
| <b>4</b> | %70 Alkol ile dehidrate etme     | 1 saat  | <b>11</b> | Ksilen ile şeffaflaştırma       | 20 dakika |
| <b>5</b> | %80 Alkol ile dehidrate etme     | 1 saat  | <b>12</b> | Ksilen ile şeffaflaştırma       | 20 dakika |
| <b>6</b> | %96 Alkol ile dehidrate etme     | 1 saat  | <b>13</b> | Sıvı parafine gömme             | 1 gece    |
| <b>7</b> | Absolü Alkol ile dehidrate etme  | 1saat   | <b>14</b> | Bloklama işlemi                 |           |

Parafin bloklardan mikrotom bıçağı ile 5 µm'lik kesitler alındı ve polilizinli lamlara yerleştirildi. Hazırlanan bu lamalar Tablo 3.3'te belirtilen 'Hemotoksilen-Eosin (H&E) Boyama Aşamaları'ndan geçirildi (121, 123) ve entellan kullanılarak lamel yardımıyla kapatıldı.

**Tablo 3.3. H&E Boyama Aşamaları**

| <b>Sıra</b> | <b>Yapılan İşlem</b>                | <b>Süre</b> | <b>Sıra</b> | <b>Yapılan İşlem</b>            | <b>Süre</b> |
|-------------|-------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------|-------------|
| <b>1</b>    | Ksilen-I ile parafini uzaklaştırma  | 15 dakika   | <b>12</b>   | Musluk suyu ile yıkama          | 10 dakika   |
| <b>2</b>    | Ksilen-II ile parafini uzaklaştırma | 15 dakika   | <b>13</b>   | %50 Alkol ile . dehidrate etme  | 10 dakika   |
| <b>3</b>    | Absolü Alkol ile dehidrate etme     | 10 dakika   | <b>14</b>   | %70 Alkol ile . dehidrate etme  | 10 dakika   |
| <b>4</b>    | %96 Alkol ile dehidrate etme        | 10 dakika   | <b>15</b>   | %80 Alkol ile dehidrate etme    | 10 dakika   |
| <b>5</b>    | %80 Alkol ile dehidrate etme        | 10 dakika   | <b>16</b>   | %96 Alkol ile dehidrate etme    | 10 dakika   |
| <b>6</b>    | %70 Alkol ile dehidrate etme        | 10 dakika   | <b>17</b>   | Absolü Alkol ile dehidrate etme | 10 dakika   |
| <b>7</b>    | %50 Alkol ile dehidrate etme        | 10 dakika   | <b>18</b>   | Absolü Alkol ile dehidrate etme | 10 dakika   |
| <b>8</b>    | Musluk suyu ile yıkama              | 10 dakika   | <b>19</b>   | Ksilen-I ile şeffaflaştırma     | 15 dakika   |
| <b>9</b>    | Hemotoksilen ile boyama işlemi      | 7 dakika    | <b>20</b>   | Ksilen-II ile şeffaflaştırma    | 15 dakika   |
| <b>10</b>   | Musluk suyu ile yıkama              | 5 dakika    | <b>21</b>   | Lamel ile kapatma               |             |
| <b>11</b>   | Eozin ile boyama işlemi             | 5 dakika    |             |                                 |             |

### 3.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Süreci

Çalışmamızda fetüslerin kemik dokularındaki Tartarata Rezistan Asit Fosfataz (TRAP) ve Alkalın Fosfataz (ALP) immünoaktivitelerini belirlemek için gruplara ait preparatlara streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Rutin takiplerden sonra immünohistokimyasal boyama için alınan 5 µm'lik kesitler Tablo 3.4'teki 'İmmünohistokimyasal Boyama Aşamaları'ndan geçirilerek hazırlandı (121, 127) ve Olympus BX51 mikroskobu altında incelendi.



**Tablo 3.4.** İmmünohistokimyasal Boyama Aşamaları

| Sıra | Yapılan İşlem                                                                      | Süre       | Sıra | Yapılan İşlem                                           | Süre       |
|------|------------------------------------------------------------------------------------|------------|------|---------------------------------------------------------|------------|
| 1    | Etüv (60°C)                                                                        | 2 saat     | 17   | PBS ile yıkama                                          | 3x1 dakika |
| 2    | Ksilen-I ile parafini uzaklaştırma                                                 | 5 dakika   | 18   | Streptavidin peroksidaz ile muamele                     | 10 dakika  |
| 3    | Ksilen-II ile parafini uzaklaştırma                                                | 5 dakika   | 19   | PBS ile yıkama                                          | 3x1 dakika |
| 4    | Ksilen-III ile parafini uzaklaştırma                                               | 5 dakika   | 20   | DAB kromojen ile immünreaktiveleri görünür hale getirme | 5 dakika   |
| 5    | Absolü Alkol ile dehidrate etme                                                    | 5 dakika   | 21   | Distile su ile yıkama                                   | 1 dakika   |
| 6    | %96 Alkol ile dehidrate etme                                                       | 5 dakika   | 22   | Hemotoksilen ile muamele                                | 1 dakika   |
| 7    | %80 Alkol ile dehidrate etme                                                       | 5 dakika   | 23   | Musluk suyu ile yıkama                                  | 5 dakika   |
| 8    | %70 Alkol ile dehidrate etme                                                       | 5 dakika   | 24   | Distile su ile yıkama                                   | 1 dakika   |
| 9    | Distile su ile yıkama                                                              | 3 kez yıka | 25   | %70 Alkol ile dehidrate etme                            | 5 dakika   |
| 10   | %3 Sitrat Buffer ile antijen maskesinin kaldırılması                               | 20 dakika  | 26   | %80 Alkol ile dehidrate etme                            | 5 dakika   |
| 11   | %3 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile endojen peroksidaz aktivitesinin yok edilmesi | 10 dakika  | 27   | %96 Alkol ile dehidrate etme                            | 5 dakika   |
| 12   | PBS ile yıkama                                                                     | 3x1 dakika | 28   | Absolü Alkol ile dehidrate etme                         | 5 dakika   |
| 13   | Normal Serum ile inkübasyon                                                        | 5 dakika   | 29   | Ksilen-I ile dokuların parlatılması                     | 5 dakika   |
| 14   | Primer Antikor ile muamele                                                         | 10 dakika  | 30   | Ksilen-II ile dokuların parlatılması                    | 5 dakika   |
| 15   | PBS ile yıkama                                                                     | 3x1 dakika | 31   | Ksilen-III ile dokuların parlatılması                   | 5 dakika   |
| 16   | Sekonder Antikor ile muamele                                                       | 10 dakika  | 32   | Kapatma                                                 |            |

### 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İkili iskelet boyama metodu uygulanan fetüslerin ön ve arka ekstremitelerine ait kemiklerin, ImageJ programı yardımıyla kırmızıya boyanan kemik bölgeleri ve maviye boyanan kıkırdak bölgeleri değerlendirildi. Bu değerlendirmede her bir kemiğin toplam kemik uzunluğu, kemikleşme gösteren bölgenin uzunluğu, toplam kemik alanı ve kemikleşme sergileyen bölgenin alanı ölçüldü. Elde edilen verilerin analizi IBM SPSS Statistics 23 programı ile yapıldı. Kontrol grubu ve parasetamol verilen deney gruplarını birbirleriyle karşılaştırmak için One-Way ANOVA testi uygulandı. Normal dağılıma Kolmogorov-Smirnov testi uygulanarak bakıldı. Dağılımın normal olduğu belirlendikten sonra 'Post Hoc' komutuyla yüzde 95 güven aralığında ( $p<0.05$ ) 'Tukey Testi' uygulandı. Analiz sonucuna göre anlamlılık değeri ' $p<0.05$ ' olan grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarındaki gebe sıçanlardan sezaryen ile elde edilen fetüsler üzerine parasetamolün olası teratojenik etkisi üç farklı analiz metodu kullanılarak yapıldı. Bunlar; morfometrik ölçümler sonucu elde edilen veriler, ikili iskelet boyaması sonucu kemik ve kıkırdak oranlarının hesaplanması ile elde edilen veriler ve immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılarak elde edilen verilerdir.

### 4.1. MORFOMETRİK ÖLÇÜMLERE AİT BULGULAR

Çalışmamızın deney safhasının başlamasından (dişi ve erkek sıçanların aynı kafese alındığı andan itibaren) deney sonunda yapılan sakrifikasyon aşamasına kadar gebe sıçanlar sürekli kontrol ve gözlem altında tutuldu. Bu süre içerisinde gebe sıçanlarda maternal ölüm ve davranış değişikliği görülmedi. Kontrol ve deney gruplarının su ve yem tüketimi karşılaştırıldığında dikkate değer değişiklikler görülmedi. Her grupta (kontrol grubu ve 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları) bulunan 4 gebe sıçandan sezaryenle sırasıyla 53, 51, 49, 48 ve 43 olmak üzere toplam 244 adet fetüs elde edildi. Fetüsler uterustan çıkarıldıktan sonra yapılan gözlemlerde tüm fetüslerin canlı olduğu tespit edildi. Gruplara ait fetüslerin ve ait oldukları plasentaların ağırlıkları ile biparietal (iki tuber parietale arası), occipito-frontal ve baş-kıç uzunlukları ölçüldü. Bu ölçümlere ait ortalama değerler ve istatistiksel değerler Tablo 4.1'de görülmektedir.

Fetüs ağırlığı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile tüm deney grupları arasında anlamlı bir fark görüldü ( $p<0.05$ ). Deney grupları kendi arasında karşılaştırıldığında ise en yüksek doz olan 500 mg/kg parasetamol grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Placenta ağırlıkları açısından bakıldığında; kontrol grubu ile deney gruplarından 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasında anlamlı farklar olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Ancak

deney grupları kendi arasında kıyaslandığında sadece 50 mg/kg parasetamol grubu ile 500 mg/kg parasetamol grubu arasında fark görülürken diğer gruplar arasında fark görülmedi (Tablo 4.2).

**Tablo 4.1.** Fetüslere ait morfometrik ölçümler

| Gruplar                      | N  | FA (gr)   | PA (gr)   | OF (cm)   | Biparietal (cm) | Baş-Kıç (cm) |
|------------------------------|----|-----------|-----------|-----------|-----------------|--------------|
| <b>Kontrol</b>               | 53 | 2.16±0.14 | 0.56±0.09 | 1.41±0.09 | 0.77±0.07       | 2.84±0.10    |
| <b>50 mg/kg Parasetamol</b>  | 51 | 2.06±0.12 | 0.54±0.08 | 1.38±0.09 | 0.67±0.06       | 2.68±0.11    |
| <b>125 mg/kg Parasetamol</b> | 49 | 2.03±0.13 | 0.53±0.09 | 1.36±0.13 | 0.66±0.05       | 2.63±0.10    |
| <b>250 mg/kg Parasetamol</b> | 48 | 2.01±0.13 | 0.51±0.07 | 1.36±0.06 | 0.63±0.05       | 2.61±0.08    |
| <b>500 mg/kg Parasetamol</b> | 43 | 1.93±0.14 | 0.49±0.06 | 1.32±0.07 | 0.57±0.07       | 2.51±0.09    |

**FA:** Fetüs Ağırlığı **PA:** Plasenta Ağırlığı **OF:** Occipito-Frontal Uzunluk

Fetüslere ait başlardan iki farklı ölçüm (biparietal uzunluk ve occipito-frontal uzunluk) alındı. Bu ölçümlere ait değerler Tablo 4.3'te görülmektedir. Biparietal uzunluk ölçümleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu ile diğer tüm deney grupları arasında anlamlı bir fark görüldü. Ayrıca deney grupları kendi aralarında kıyaslandığında 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Occipito-frontal uzunluk değerleri dikkate alındığında ise kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

Baş-kıç uzunluklarına ait değerler Tablo 4.3'te özetlenmiştir. Bu değerler ele alındığında kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki sayısal farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Tablo 4.2.** Fetüs ve plasenta ağırlık değerleri ve istatistiksel analizleri

| Gruplar                          | N  | Fetüs Ağırlığı (gr)          |      |      |       | Plasenta Ağırlığı (gr)   |      |      |       |
|----------------------------------|----|------------------------------|------|------|-------|--------------------------|------|------|-------|
|                                  |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS              | Min  | Maks | P     |
| <b>Kontrol (a)</b>               | 53 | 2.16±0.14 <sup>b,c,d,e</sup> | 1.83 | 2.51 |       | 0.56±0.09 <sup>d,e</sup> | 0.39 | 0.79 |       |
| <b>50 mg/kg Parasetamol (b)</b>  | 51 | 2.06±0.12 <sup>a,e</sup>     | 1.80 | 2.35 |       | 0.54±0.08 <sup>e</sup>   | 0.39 | 0.70 |       |
| <b>125 mg/kg Parasetamol (c)</b> | 49 | 2.03±0.13 <sup>a,e</sup>     | 1.71 | 2.33 | 0.000 | 0.53±0.09                | 0.40 | 0.71 | 0.000 |
| <b>250 mg/kg Parasetamol (d)</b> | 48 | 2.01±0.13 <sup>a,e</sup>     | 1.68 | 2.30 |       | 0.51±0.07 <sup>a</sup>   | 0.42 | 0.70 |       |
| <b>500 mg/kg Parasetamol (e)</b> | 43 | 1.93±0.14 <sup>a,b,c,d</sup> | 1.59 | 2.21 |       | 0.49±0.06 <sup>a,b</sup> | 0.40 | 0.61 |       |

**Tablo 4.3.** Biparietal, occipito-frontal ve baş-kıç uzunluk değerleri ve istatistiksel analizleri

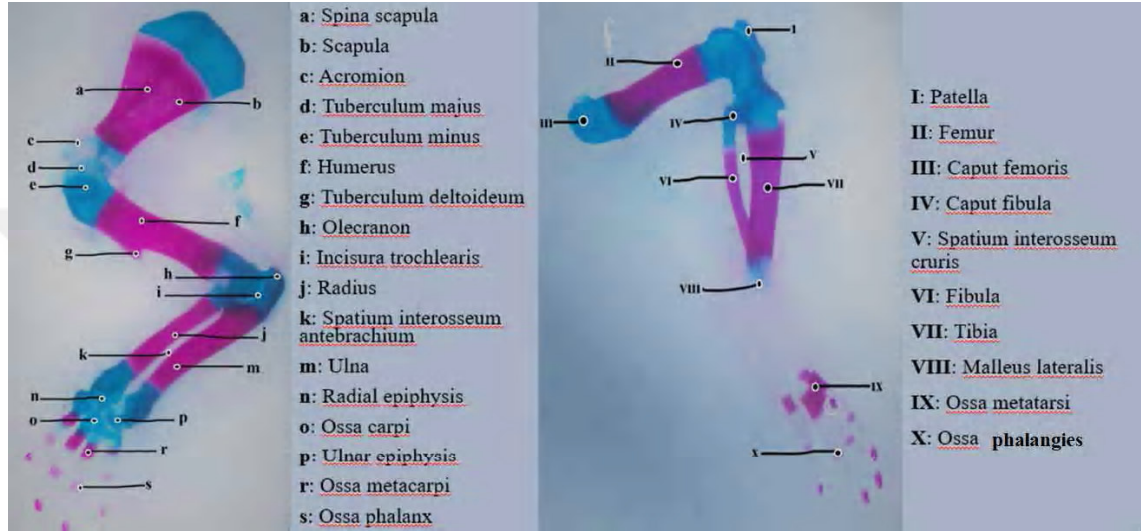
| Gruplar                          | N  | Biparietal Uzunluk (cm)      |      |      |       | Occipito-Frontal Uzunluk (cm) |      |      |       | Baş-Kıç Uzunluğu (cm)        |      |      |       |
|----------------------------------|----|------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|------|------|-------|------------------------------|------|------|-------|
|                                  |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     |
| <b>Kontrol (a)</b>               | 53 | 0.77±0.07 <sup>b,c,d,e</sup> | 0.55 | 0.90 |       | 1.41±0.09 <sup>d,e</sup>      | 1.21 | 1.56 |       | 2.84±0.10 <sup>b,c,d,e</sup> | 2.59 | 2.99 |       |
| <b>50 mg/kg Parasetamol (b)</b>  | 51 | 0.67±0.06 <sup>a,d,e</sup>   | 0.47 | 0.78 |       | 1.38±0.09 <sup>e</sup>        | 1.22 | 1.54 |       | 2.68±0.11 <sup>a,d,e</sup>   | 2.41 | 2.92 |       |
| <b>125 mg/kg Parasetamol (c)</b> | 49 | 0.66±0.05 <sup>a,d,e</sup>   | 0.47 | 0.74 | 0.000 | 1.36±0.13                     | 1.12 | 1.54 | 0.000 | 2.63±0.10 <sup>a,e</sup>     | 2.36 | 2.92 | 0.000 |
| <b>250 mg/kg Parasetamol (d)</b> | 48 | 0.63±0.05 <sup>a,b,c,e</sup> | 0.52 | 0.75 |       | 1.36±0.06 <sup>a</sup>        | 1.22 | 1.48 |       | 2.61±0.08 <sup>a,b,e</sup>   | 2.44 | 2.88 |       |
| <b>500 mg/kg Parasetamol (e)</b> | 43 | 0.57±0.07 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.44 | 0.68 |       | 1.32±0.07 <sup>a,b</sup>      | 1.17 | 1.42 |       | 2.51±0.09 <sup>a,b,c,d</sup> | 2.28 | 2.77 |       |

\* One Way Anova testi; p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

<sup>a,b</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak fark vardır.

#### 4.2. İKİLİ İSKELET BOYAMA METODUNA AİT BULGULAR

Elde edilen fetüsler üzerinde yapılan ölçümler bittikten sonra fetüslerin bir kısmı (10 fetüs diseksiyon esnasında ve ikili boyama aşamalarında zarar görüp değerlendirmeye alınmadığından toplam 98 fetüs) ikili boyama için, bir kısmı (toplam 75 fetüsün sağ femur'u) ise immünohistokimyasal analiz için ayrıldı.



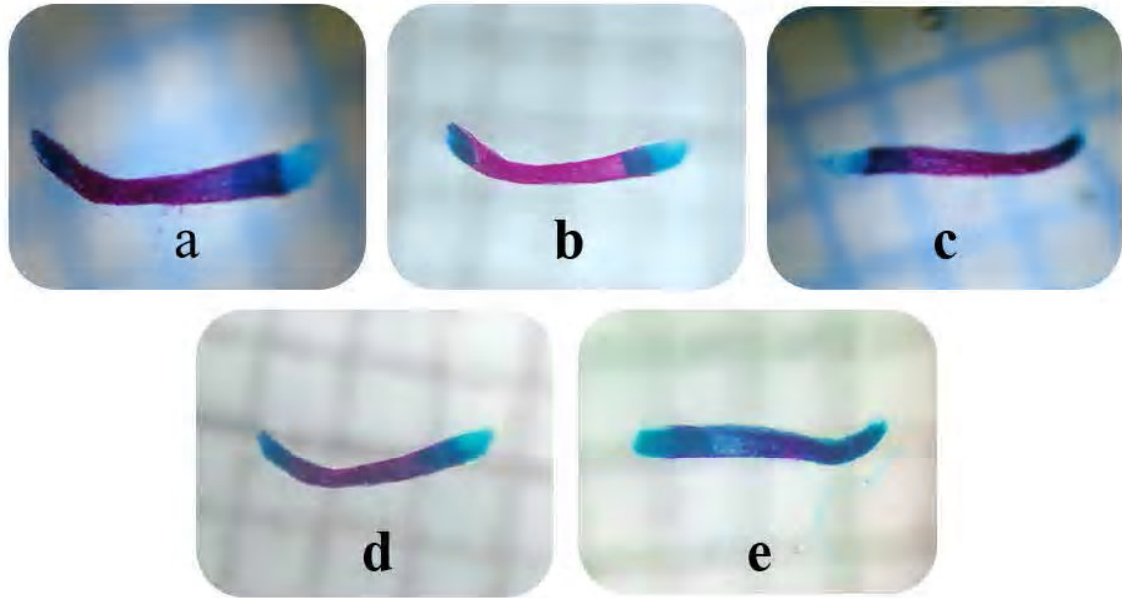
**Şekil 4.1.** İkili boyama ile elde edilen alt ve üst ekstremitelere ait görüntülerde belli başlı oluşumlar

Kontrol grubunda 20 adet, 50 mg/kg parasetamol grubunda 18 adet, 125 mg/kg parasetamol grubunda 20 adet, 250 mg/kg parasetamol grubunda 20 adet ve 500 mg/kg parasetamol grubunda 20 adet olmak üzere toplam 98 adet alt ve üst ekstremitelere ait kemikler üzerinde ölçüm gerçekleştirildi. Üst ekstremitelerde clavicula, scapula, humerus, radius ve ulna; alt ekstremitelerde ise femur, tibia ve fibula kemiklerinin toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu, toplam kemik alanı ve kemikleşme alanı ImageJ yazılım programı kullanılarak ölçüldü. Bütün kemiklerde kemikleşme bölgesinin bulunduğu ve bu bölgelerin kırmızı ile boyandığı görüldü (Şekil 4.1). Uzun kemiklerin gövde kısmında bulunan kemikleşme bölgesinin kontrol grubunda distal ve proksimal uçlara doğru uzandığı; deney gruplarında ise doz artışına bağlı olarak daha merkezi bir şekilde konumlandığı görüldü.

### Clavicula'lara ait morfometrik bulgular

Clavicula'lara ait uzunluk ölçümleri Tablo 4.4'te verilmiştir. Clavicula'ların toplam uzunluğu; kontrol grubunda 3.10 mm, 50 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.02 mm, 125 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.01 mm, 250 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 2.96 mm ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupta ise 2.64 mm olarak ölçüldü. Sonuçlar incelendiğinde kontrol grubuna göre, deney gruplarındaki değerlerde verilen ilaç miktarı arttıkça kemik uzunluğunda gerileme olduğu görüldü. Veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait sayısal değer ile kontrol grubuna ve diğer parasetamol gruplarına ait değerler arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Clavicula'ların kemikleşme uzunluğu ise sırasıyla 2.22 mm, 2.22 mm, 2.14 mm, 2.02 mm ve 1.52 mm olarak kaydedildi. Kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Yüksek doz uygulanan (500 mg/kg) grup ile diğer tüm gruplara ait değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Toplam kemik uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun oranına bakıldığında; kontrol grubuna ait clavicula'ların %71.80'inin, 50 mg/kg parasetamol grubuna ait clavicula'ların %72.75'inin, 125 mg/kg parasetamol grubuna ait clavicula'ların %71.18'inin, 250 mg/kg parasetamol grubuna ait clavicula'ların %68.41'inin ve 500 mg/kg parasetamol grubuna ait clavicula'ların ise %57.71'inin kemikleştiği görüldü. Kontrol grubuna ait yüzde değeri ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait yüzde değerleri arasında ve yüksek doz grubu ile diğer tüm grupların değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.2).

Clavicula'lara ait yüzey alanı ölçümleri Tablo 4.5'te verilmiştir. Buna göre gruplara ait toplam alan değerleri sırasıyla 1.10 mm<sup>2</sup>, 1.02 mm<sup>2</sup>, 1.01 mm<sup>2</sup>, 1.00 mm<sup>2</sup> ve 0.82 mm<sup>2</sup> olarak ölçüldü. Değerlerde tedrici olarak bir azalma görülse de istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sadece 500 mg/kg parasetamol grubu ile kontrol grubu ve diğer parasetamol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Kemikleşme alanının ölçümlerine ait değerler ise sırasıyla 0.79 mm<sup>2</sup>, 0.74 mm<sup>2</sup>, 0.70 mm<sup>2</sup>, 0.68 mm<sup>2</sup> ve 0.66 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı.



**a:** Kontrol grubu

**b:** 50 mg/kg parasetamol grubu

**c:** 125 mg/kg parasetamol grubu

**d:** 250 mg/kg parasetamol grubu

**e:** 500 mg/kg parasetamol grubu

**Şekil 4.2.** Clavicula'lara ait görüntüler

Kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasındaki farkın ve yüksek doz grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki sayısal farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). Kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranına bakıldığında kontrol grubunun %72.32'sinin, 50 mg/kg parasetamol grubunun %72.60'ının, 125 mg/kg parasetamol grubunun %69.56'sının, 250 mg/kg parasetamol grubunun %66.86'sının ve 500 mg/kg parasetamol grubunun ise %57.18'inin kemikleştiği görüldü. Kemikleşme alanının yüzde değerlerine bakıldığında, kontrol grubuna ait değer ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait değerler arasındaki farkın anlamlı olduğu ve yine yüksek doz grubuna ait kemikleşme alanı yüzde değeri ile diğer tüm grupların yüzde değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.4.** Clavicula'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Kemik Uzunluğu (mm)   |      |      | Kemikleşme Uzunluğu (mm) |                              |      | Uzunluk Yüzde Oranı (%) |       |       |
|--------------------------|----|------------------------------|------|------|--------------------------|------------------------------|------|-------------------------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P                        | Ortalama±SS                  | Min  | Maks                    | P     | Maks  |
| Kontrol (a)              | 20 | 3.10±0.26 <sup>e</sup>       | 2.51 | 3.58 | 0.000                    | 2.22±0.27 <sup>d,e</sup>     | 1.70 | 2.67                    | 0.000 | 86.84 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 3.02±0.18 <sup>e</sup>       | 2.67 | 3.27 |                          | 2.22±0.13 <sup>d,e</sup>     | 2.02 | 2.52                    |       | 82.77 |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 3.01±0.17 <sup>e</sup>       | 2.73 | 3.28 |                          | 2.14±0.09 <sup>e</sup>       | 1.99 | 2.34                    |       | 77.29 |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 2.96±0.14 <sup>e</sup>       | 2.67 | 3.17 |                          | 2.02±0.08 <sup>a,b,e</sup>   | 1.83 | 2.21                    |       | 75.79 |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 2.64±0.15 <sup>a,b,c,d</sup> | 2.34 | 2.94 |                          | 1.52±0.13 <sup>a,b,c,d</sup> | 1.25 | 1.75                    |       | 63.50 |

**Tablo 4.5.** Clavicula'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Alan (mm <sup>2</sup> ) |      |      | Kemikleşme Alanı (mm <sup>2</sup> ) |                              |      | Alan Yüzde Oranı (%) |       |       |
|--------------------------|----|--------------------------------|------|------|-------------------------------------|------------------------------|------|----------------------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                    | Min  | Maks | P                                   | Ortalama±SS                  | Min  | Maks                 | P     | Maks  |
| Kontrol (a)              | 20 | 1.10±0.21 <sup>e</sup>         | 0.62 | 1.41 | 0.000                               | 0.79±0.16 <sup>d,e</sup>     | 0.47 | 1.20                 | 0.000 | 85.60 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 1.02±0.13 <sup>e</sup>         | 0.79 | 1.27 |                                     | 0.74±0.08 <sup>e</sup>       | 0.53 | 0.86                 |       | 85.71 |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 1.01±0.11 <sup>e</sup>         | 0.80 | 1.22 |                                     | 0.70±0.07 <sup>e</sup>       | 0.55 | 0.83                 |       | 74.69 |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 1.00±0.07 <sup>e</sup>         | 0.85 | 1.10 |                                     | 0.68±0.04 <sup>a,e</sup>     | 0.60 | 0.77                 |       | 74.36 |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 0.82±0.09 <sup>a,b,c,d</sup>   | 0.63 | 1.02 |                                     | 0.66±0.07 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.33 | 0.61                 |       | 61.10 |

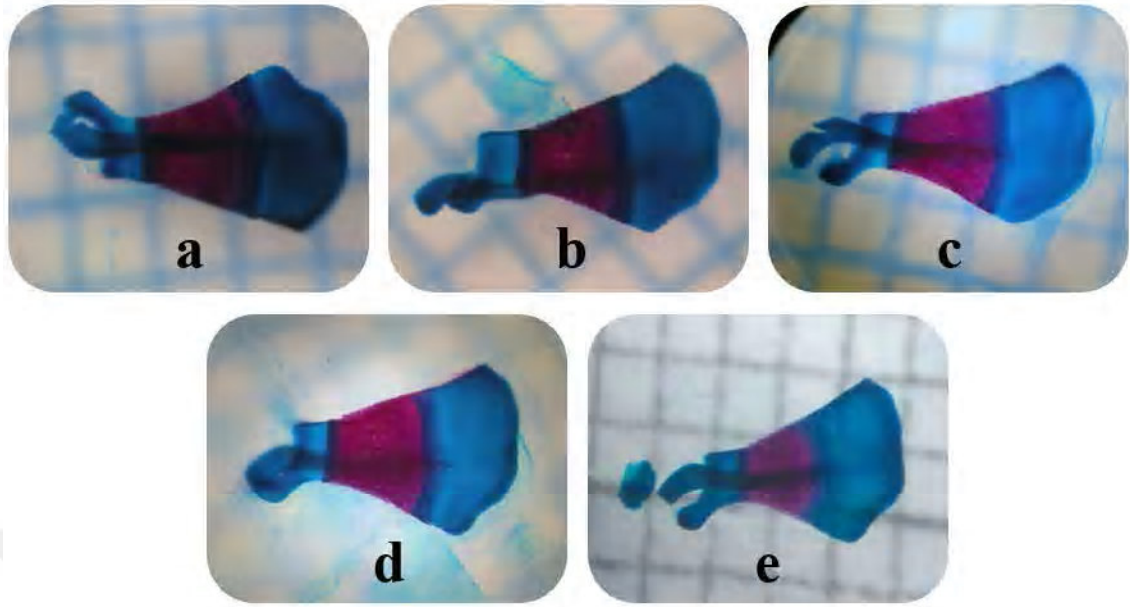
\*One way Anova, Tukey HSD,  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

<sup>a,b</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

### Scapula'lara ait morfometrik bulgular

Scapula'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun toplam kemik uzunluğuna oranı Tablo 4.6'da verilmiştir. Kontrol grubuna ait scapula'ların toplam kemik uzunluğu 4.22 mm, kemikleşme uzunluğu 1.65 mm olarak ölçüldü. Bu değerler oranlandığında scapula'nın uzunluk olarak %39.07'sinin kemikleşme sergilediği görüldü. 50 mg/kg parasetamol grubuna ait scapula'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğu oranı sırasıyla 4.14 mm, 1.55 mm ve %37.50 olarak hesaplandı. 125 mg/kg parasetamol grubunda ise scapula'ların toplam kemik uzunluğu 4.10 mm, kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluğu 1.44 mm olarak kaydedildi. Bu değerleri oranladığımızda scapula'ların uzunluk olarak %37.50'sinin kemikleştiği görüldü. 250 mg/kg parasetamol verilen gruba ait scapula'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğu oranı sırasıyla 4.08 mm, 1.31 mm ve %37.50 olarak hesaplandı. En yüksek doz olan 500 mg/kg parasetamol grubuna ait scapula'ların ise toplam kemik uzunluğu 3.64 mm, kemikleşme görülen bölgenin uzunluğu 1.04 mm kaydedildi. Bu gruptaki scapula'ların uzunluk olarak %28.64'ünün kemikleşme gösterdiği belirlendi. Toplam kemik uzunluğundaki verilere bakıldığında kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). 500 mg/kg parasetamol uygulanan grubun değerleri ile diğer deney gruplarına ve kontrol grubuna ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Kemikleşme uzunluğu ve uzunluk olarak kemikleşme gösteren bölgenin oranı dikkate alındığında kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Ayrıca yüksek doz parasetamol grubu ile diğer gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.3).

Scapula'ların toplam kemik alanı, kemikleşme alanı ve kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranı Tablo 4.7'de verilmiştir. Kontrol grubuna ait scapula'ların toplam kemik alanı ve kemikleşme alanı sırasıyla 6.26 mm<sup>2</sup> ve 2.15 mm<sup>2</sup> olarak ölçülürken, kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranı %34.37 olarak hesaplandı. 50 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait scapula'ların toplam kemik alanı 5.99 mm<sup>2</sup>, kemikleşme alanı ise 2.12 mm<sup>2</sup> olarak hesaplanırken bu değerleri oranladığımızda scapula'ların %35.35'inin kemikleşme gösterdiği belirlendi.



**a:** Kontrol grubu

**b:** 50 mg/kg parasetamol grubu

**c:** 125 mg/kg parasetamol grubu

**d:** 250 mg/kg parasetamol grubu

**e:** 500 mg/kg parasetamol grubu

**Şekil 4.3.** Scapula'lara ait görüntüler

125 mg/kg parasetamol grubunda scapula'ların toplam kemik alanı ve kemikleşme alanı sırasıyla 5.94 mm<sup>2</sup> ve 2.07 mm<sup>2</sup> olarak ölçüldü. Bu değerleri oranladığımızda scapula'ların %34.69'unun kemikleştiği görüldü. 250 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait scapula'ların toplam kemik alanı 5.86 mm<sup>2</sup>, kemikleşme alanı 1.81 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Bu gruba ait scapula'ların %31.01'inin kemikleşme sergilediği belirlendi. 500 mg/kg parasetamol grubuna ait scapula'ların ise toplam kemik alanı 5.37 mm<sup>2</sup>, kemikleşme görülen bölgenin alanı 1.43 mm<sup>2</sup> olarak kaydedilirken bu gruptaki scapula'ların %26.54'ünde kemikleşme olduğu görüldü. Toplam kemik alanı parametreleri göz önüne alındığında 500 mg/kg parasetamol grubu ile kontrol grubu ve diğer deney grupları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (p<0.05). Kemikleşme alanı değerleri ve kemikleşme oranı parametreleri kıyaslandığında; kontrol grubu, 50 mg/kg ve 125 mg/kg parasetamol grupları ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (p<0.05).

**Tablo 4.6.** Scapula'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Kemik Uzunluğu (mm)   |      |      |       | Kemikleşme Uzunluğu (mm)     |      |      |       | Uzunluk Yüzde Oranı (%)       |       |       |       |
|--------------------------|----|------------------------------|------|------|-------|------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min   | Maks  | P     |
| Kontrol (a)              | 20 | 4.22±0.21 <sup>d,e</sup>     | 1.41 | 2.01 | 0.000 | 1.65±0.16 <sup>c,d,e</sup>   | 1.70 | 2.67 | 0.000 | 39.07±2.80 <sup>c,d,e</sup>   | 34.00 | 44.03 | 0.000 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 4.14±0.16 <sup>e</sup>       | 1.33 | 2.07 |       | 1.55±0.20 <sup>d,e</sup>     | 2.02 | 2.52 |       | 37.50±4.28 <sup>d,e</sup>     | 32.52 | 47.81 |       |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 4.10±0.15 <sup>e</sup>       | 1.27 | 1.57 |       | 1.44±0.08 <sup>a,e</sup>     | 1.99 | 2.34 |       | 35.10±1.32 <sup>a,e</sup>     | 32.11 | 37.83 |       |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 4.08±0.09 <sup>a,e</sup>     | 1.21 | 1.43 |       | 1.31±0.07 <sup>a,b,e</sup>   | 1.83 | 2.21 |       | 32.63±1.60 <sup>a,b,e</sup>   | 29.83 | 36.27 |       |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 3.64±0.12 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.92 | 1.21 |       | 1.04±0.08 <sup>a,b,c,d</sup> | 1.25 | 1.75 |       | 28.64±1.32 <sup>a,b,c,d</sup> | 26.15 | 31.02 |       |

**Tablo 4.7.** Scapula'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Alan (mm <sup>2</sup> ) |      |      |       | Kemikleşme Alanı (mm <sup>2</sup> ) |      |      |       | Alan Yüzde Oranı (%)          |       |       |       |
|--------------------------|----|--------------------------------|------|------|-------|-------------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                    | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                         | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min   | Maks  | P     |
| Kontrol (a)              | 20 | 6.26±0.67 <sup>e</sup>         | 5.17 | 7.40 | 0.000 | 2.15±0.31 <sup>d,e</sup>            | 1.64 | 2.76 | 0.000 | 34.37±3.56 <sup>d,e</sup>     | 27.22 | 40.36 | 0.000 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 5.99±0.32 <sup>e</sup>         | 5.53 | 6.61 |       | 2.12±0.18 <sup>d,e</sup>            | 1.75 | 2.36 |       | 35.35±2.08 <sup>d,e</sup>     | 30.73 | 38.95 |       |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 5.94±0.32 <sup>e</sup>         | 5.48 | 6.59 |       | 2.07±0.20 <sup>d,e</sup>            | 1.65 | 2.30 |       | 34.69±2.44 <sup>d,e</sup>     | 28.95 | 38.18 |       |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 5.86±0.12 <sup>e</sup>         | 5.63 | 6.02 |       | 1.81±0.10 <sup>a,b,c,e</sup>        | 1.62 | 1.95 |       | 31.01±1.20 <sup>a,b,c,e</sup> | 28.43 | 32.79 |       |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 5.37±0.18 <sup>a,b,c,d</sup>   | 5.08 | 5.78 |       | 1.43±0.14 <sup>a,b,c,d</sup>        | 1.27 | 1.80 |       | 26.54±1.84 <sup>a,b,c,d</sup> | 23.92 | 31.14 |       |

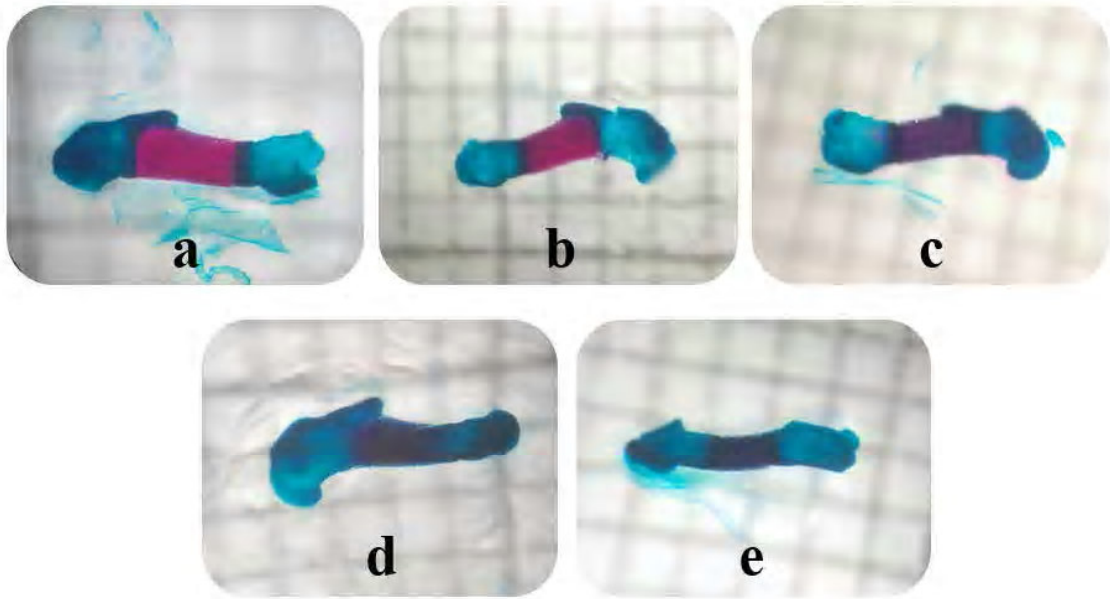
\*One way Anova, Tukey HSD,  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

<sup>a,b</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

### **Humerus'lara ait morfometrik bulgular**

Humerus'lara ait uzunluk ölçümleri Tablo 4.8'de verilmiştir. Buna göre humerus'ların toplam kemik uzunluğu kontrol grubunda, 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarında sırasıyla 4.35 mm, 4.19 mm, 4.15 mm, 4.07 mm ve 3.79 mm olarak hesaplandı. Bu veriler dikkate alındığında kontrol grubuna ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruba ait değerler ile diğer tüm grupların değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu göze çarpmaktadır ( $p<0.05$ ). Ayrıca 50 mg/kg parasetamol grubu ile 250 mg/kg parasetamol grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ( $p<0.05$ ). Kemikleşme uzunluğu ise kontrol grubu ve deney gruplarında sırasıyla 1.93 mm, 1.82 mm, 1.71 mm, 1.60 mm ve 1.31 mm olarak ölçüldü. Kemikleşme uzunluğuna ait veriler kıyaslandığında tüm grupların birbirleriyle olan aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu dikkati çekmektedir. Toplam kemik uzunluğu ve kemikleşme uzunluğu oranlandığında ise kontrol grubundaki humerus'ların %44.43'ünün, 50 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %42.39'unun, 125 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %41.04'ünün, 250 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %37.97'sinin ve 500 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %34.60'ının kemikleştiği görülmektedir. Bu oranlar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubu ve 50 mg/kg parasetamol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasında; 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.4).

Humerus'un alan hesaplamasına ait veriler Tablo 4.9'da verilmiştir. Buna göre humerus'un toplam kemik alanı kontrol grubunda 4.22 mm<sup>2</sup>, 50 mg/kg parasetamol grubunda 4.11 mm<sup>2</sup>, 125 mg/kg parasetamol grubunda 4.03 mm<sup>2</sup>, 250 mg/kg parasetamol grubunda 4.01 mm<sup>2</sup> ve 500 mg/kg parasetamol grubunda 3.75 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Bu parametreler ele alındığında kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ). Ayrıca 500 mg/kg parasetamol grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ). Humerus'un kemikleşme alanı kontrol grubu ile 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarında sırasıyla 1.83 mm<sup>2</sup>, 1.74 mm<sup>2</sup>, 1.65 mm<sup>2</sup>, 1.54 mm<sup>2</sup> ve 1.28 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı.



**a:** Kontrol grubu

**b:** 50 mg/kg parasetamol grubu

**c:** 125 mg/kg parasetamol grubu

**d:** 250 mg/kg parasetamol grubu

**e:** 500 mg/kg parasetamol grubu

**Şekil 4.4.** Humerus'lara ait görüntüler

Sonuçlar karşılaştırıldığında tüm gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu göze çarpmaktadır ( $p < 0.05$ ). Toplam kemik alanı ile kemikleşme alanı oranlandığında kontrol grubundaki humerus'ların % 43.40'ının, 50 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %42.39'unun, 125 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %41.04'ünün, 250 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların %37.97'sinin ve 500 mg/kg parasetamol grubundaki humerus'ların ise %34.07'sinin kemikleşme sergilediği görülmektedir. Kontrol grubunun değerleri ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplara ait değerler arasında; 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait değerler ile diğer tüm grupların değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.8.** Humerus'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Kemik Uzunluğu (mm)   |      |      |       | Kemikleşme Uzunluğu (mm)     |      |      |       | Uzunluk Yüzde Oranı (%)       |       |       |       |
|--------------------------|----|------------------------------|------|------|-------|------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min   | Maks  | P     |
| Kontrol (a)              | 20 | 4.35±0.10 <sup>b,c,d,e</sup> | 4.14 | 4.52 | 0.000 | 1.93±0.06 <sup>b,c,d,e</sup> | 1.84 | 2.08 | 0.000 | 44.43±1.41 <sup>c,d,e</sup>   | 41.72 | 47.65 | 0.000 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 4.19±0.16 <sup>a,d,e</sup>   | 3.90 | 4.37 |       | 1.82±0.07 <sup>a,c,d,e</sup> | 1.71 | 1.99 |       | 43.41±1.85 <sup>c,d,e</sup>   | 40.23 | 47.72 |       |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 4.15±0.07 <sup>a,e</sup>     | 4.02 | 4.23 |       | 1.71±0.04 <sup>a,b,d,e</sup> | 1.64 | 1.80 |       | 41.30±0.90 <sup>a,b,d,e</sup> | 39.42 | 42.55 |       |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 4.07±0.08 <sup>a,b,e</sup>   | 3.93 | 4.19 |       | 1.60±0.06 <sup>a,b,c,e</sup> | 1.47 | 1.70 |       | 39.26±1.12 <sup>a,b,c,e</sup> | 37.35 | 40.88 |       |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 3.79±0.12 <sup>a,b,c,d</sup> | 3.61 | 4.02 |       | 1.31±0.10 <sup>a,b,c,d</sup> | 1.13 | 1.49 |       | 34.60±1.50 <sup>a,b,c,d</sup> | 31.30 | 37.16 |       |

**Tablo 4.9.** Humerus'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Alan (mm <sup>2</sup> ) |      |      |       | Kemikleşme Alanı (mm <sup>2</sup> ) |      |      |       | Alan Yüzde Oranı (%)          |       |       |       |
|--------------------------|----|--------------------------------|------|------|-------|-------------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                    | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                         | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min   | Maks  | P     |
| Kontrol (a)              | 20 | 4.22±0.19 <sup>d,e</sup>       | 3.80 | 4.50 | 0.000 | 1.83±0.04 <sup>b,d,c,e</sup>        | 1.78 | 1.90 | 0.000 | 43.40±1.45 <sup>d,e</sup>     | 41.11 | 47.11 | 0.000 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 4.11±0.17 <sup>e</sup>         | 3.85 | 4.39 |       | 1.74±0.08 <sup>a,c,d,e</sup>        | 1.60 | 1.89 |       | 42.39±1.80 <sup>d,e</sup>     | 39.81 | 46.01 |       |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 4.03±0.11 <sup>a,e</sup>       | 3.72 | 4.21 |       | 1.65±0.05 <sup>a,b,d,e</sup>        | 1.57 | 1.74 |       | 41.04±1.12 <sup>a,d,e</sup>   | 39.14 | 42.89 |       |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 4.01±0.06 <sup>a,e</sup>       | 3.69 | 4.17 |       | 1.54±0.06 <sup>a,b,c,e</sup>        | 1.46 | 1.64 |       | 37.97±0.87 <sup>a,b,c,e</sup> | 36.43 | 39.75 |       |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 3.75±0.13 <sup>a,b,c,d</sup>   | 3.48 | 4.01 |       | 1.28±0.10 <sup>a,b,c,d</sup>        | 1.12 | 1.45 |       | 34.07±1.51 <sup>a,b,c,d</sup> | 31.46 | 36.75 |       |

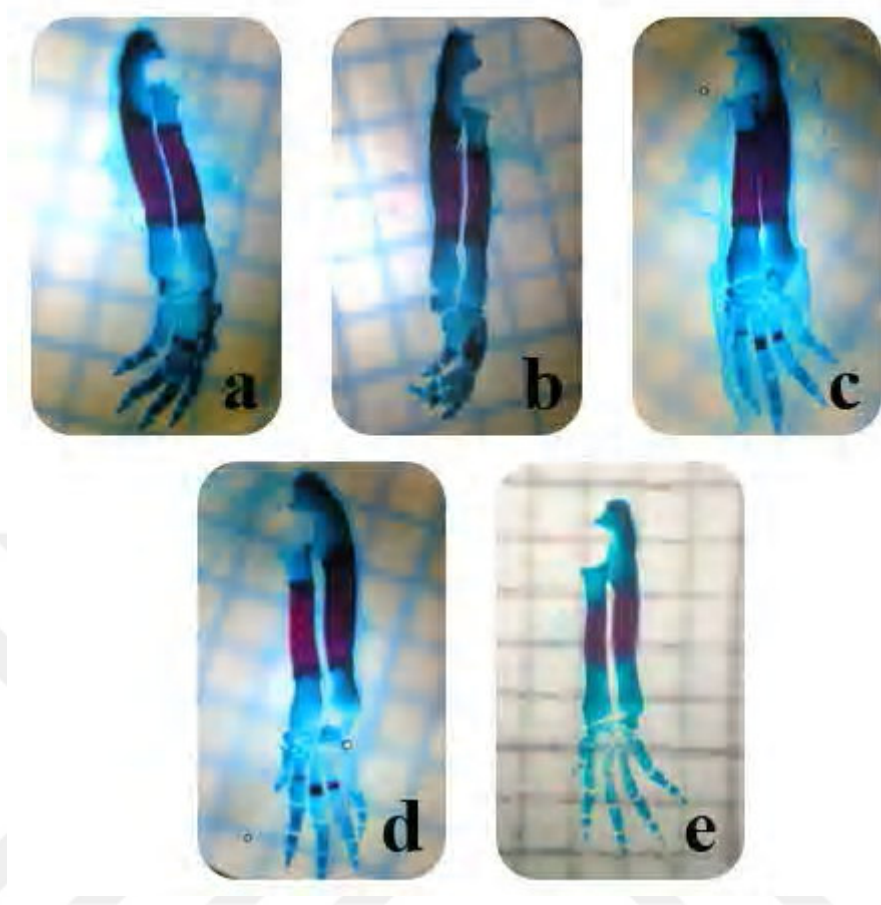
\*One way Anova, Tukey HSD,  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

<sup>a,b</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

### **Radius'lara ait morfometrik bulgular**

Radius'lara ait uzunluk ölçümleri Tablo 4.10'da verilmiştir. Tabloya göre radius'ların toplam uzunluğu kontrol grubunda 3,34 mm olarak ölçülürken, 50 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.32 mm, 125 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.27 mm, 250 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.08 mm ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 2.75 mm olarak ölçüldü. Sonuçlar karşılaştırıldığında 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait verilerin sayısal değerleri ile kontrol grubu ve diğer tüm parasetamol gruplarının değerleri arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Radius'ların kemikleşme uzunluğu ise sırasıyla 1.57 mm, 1.48 mm, 1.39 mm, 1.15 mm ve 0.86 mm olarak kaydedildi. İlaç uygulanan gruplarda doz arttıkça kemikleşen bölgenin uzunluğunda tedrici olarak azalma olduğu ve tüm grupların birbiriyle olan farklılıklarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Toplam kemik uzunluğu ile kemikleşme uzunluğu oranlandığında; kontrol grubuna ait radius'ların %46.90'ının, 50 mg/kg parasetamol grubuna ait radius'ların %44.45'inin, 125 mg/kg parasetamol grubuna ait radius'ların %42.16'sinin, 250 mg/kg parasetamol grubuna ait radius'ların %36.76'sinin ve 500 mg/kg parasetamol grubuna ait radius'ların ise %31.07'sinin kemikleştiği görüldü. Bu parametreler karşılaştırıldığında yine tüm grupların birbiriyle olan sayısal farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.5).

Radius'lara ait alan ölçümleri Tablo 4.11'de verilmiştir. Buna göre toplam alan değerleri kontrol grubunda 1.60 mm<sup>2</sup>, parasetamol uygulanan gruplarda ise sırasıyla 1.51 mm<sup>2</sup>, 1.42 mm<sup>2</sup>, 1.23 mm<sup>2</sup> ve 1.06 mm<sup>2</sup> olarak ölçüldü. Kontrol grubuna ve 50 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait veriler ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupların verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait parametrelerin diğer tüm gruplar ile aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Radius'ların kemikleşme alanının ölçümlerine ait değerleri ise sırasıyla 0.74 mm<sup>2</sup>, 0.66 mm<sup>2</sup>, 0.60 mm<sup>2</sup>, 0.44 mm<sup>2</sup> ve 0.34 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Bu parametreler karşılaştırıldığında tüm grupların birbiriyle olan aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).



**a:** Kontrol grubu

**b:** 50 mg/kg parasetamol grubu

**c:** 125 mg/kg parasetamol grubu

**d:** 250 mg/kg parasetamol grubu

**e:** 500 mg/kg parasetamol grubu

**Şekil 4.5.** Radius ve ulna'lara ait görüntüler

Kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranına bakıldığında kontrol grubunun %46.07'sinin, 50 mg/kg parasetamol grubunun %43.73'ünün, 125 mg/kg parasetamol grubunun %42.16'sinin, 250 mg/kg parasetamol grubunun %36.76'sinin ve 500 mg/kg parasetamol grubunun ise %32.36'sinin kemikleşme sergilediği görüldü. Gruplara ait değerler kendi aralarında kıyaslandığında yine tüm grupların birbiriyle olan aralarındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ).



### **Ulna'lara ait morfometrik bulgular**

Ulna'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun toplam kemik uzunluğuna oranı Tablo 4.12'de verilmiştir. Kontrol grubuna ait ulna'ların toplam kemik uzunluğu 4.43 mm, kemikleşme uzunluğu 1.88 mm olarak ölçüldü. Bu değerler oranlandığında kontrol grubuna ait ulna'ların uzunluk olarak %42.51'inin kemikleşme sergilediği görüldü. 50 mg/kg parasetamol grubuna ait ulna'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun toplam kemik uzunluğuna oranı sırasıyla 4.36 mm, 1.82 mm ve %42.01 olarak hesaplandı. 125 mg/kg parasetamol grubunda ise ulna'ların toplam kemik uzunluğu 4.26 mm, kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluğu 1.73 mm olarak kaydedildi. Bu değerleri oranladığımızda ulna'ların %40.83'ünün kemikleştiği görüldü. 250 mg/kg parasetamol verilen gruba ait ulna'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme sergileyen bölgenin uzunluk olarak yüzde değeri sırasıyla 4.04 mm, 1.47 mm ve %36.43 olarak hesaplandı. En yüksek doz olan 500 mg/kg parasetamol grubuna ait ulna'ların ise toplam kemik uzunluğu 3.74 mm, kemikleşme görülen bölgenin uzunluğu 1.25 mm kaydedildi. Bu gruptaki ulna'ların uzunluk olarak %33.30'unun kemikleşme gösterdiği belirlendi. Toplam kemik uzunluğundaki verilere bakıldığında kontrol grubu ve 50 mg/kg parasetamol verilen gruplara ait veriler ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Ayrıca 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait değerler ile diğer tüm gruplara ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ). Kemikleşme uzunluğu parametreleri kıyaslandığında; kontrol grubu ve deney gruplarına ait değerlerin her birinin diğer tüm grupların değerleri ile aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu göze çarpmaktadır ( $p<0.05$ ). Toplam kemik uzunluğunun kemikleşme gösteren bölgenin uzunluğuna oranına bakıldığında kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.5).

**Tablo 4.12.** Ulna'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Kemik Uzunluğu (mm)   |      |      |       | Kemikleşme Uzunluğu (mm)     |      |      |       | Uzunluk Yüzde Oranı (%)       |       |       |       |
|--------------------------|----|------------------------------|------|------|-------|------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min   | Maks  | P     |
| Kontrol (a)              | 20 | 4.43±0.06 <sup>c,d,e</sup>   | 4.29 | 4.52 | 0.000 | 1.88±0.06 <sup>b,c,d,e</sup> | 1.80 | 1.98 | 0.000 | 42.51±1.13 <sup>c,d,e</sup>   | 40.67 | 44.22 | 0.000 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 4.36±0.07 <sup>c,d,e</sup>   | 4.24 | 4.47 |       | 1.82±0.03 <sup>a,c,d,e</sup> | 1.78 | 1.88 |       | 42.01±0.73 <sup>c,d,e</sup>   | 40.49 | 43.26 |       |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 4.26±0.10 <sup>a,b,d,e</sup> | 4.10 | 4.39 |       | 1.73±0.04 <sup>a,b,d,e</sup> | 1.68 | 1.79 |       | 40.83±1.06 <sup>a,b,d,e</sup> | 38.88 | 42.82 |       |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 4.04±0.04 <sup>a,b,c,e</sup> | 3.96 | 4.09 |       | 1.47±0.04 <sup>a,b,c,e</sup> | 1.40 | 1.56 |       | 36.43±0.94 <sup>a,b,c,e</sup> | 35.09 | 38.66 |       |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 3.74±0.10 <sup>a,b,c,d</sup> | 3.59 | 3.95 |       | 1.25±0.05 <sup>a,b,c,d</sup> | 1.19 | 1.34 |       | 33.30±0.72 <sup>a,b,c,d</sup> | 31.59 | 34.42 |       |

**Tablo 4.13.** Ulna'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Alan (mm <sup>2</sup> ) |      |      |       | Kemikleşme Alanı (mm <sup>2</sup> ) |      |      |       | Alan Yüzde Oranı (%)          |       |       |       |
|--------------------------|----|--------------------------------|------|------|-------|-------------------------------------|------|------|-------|-------------------------------|-------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                    | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                         | Min  | Maks | P     | Ortalama±SS                   | Min   | Maks  | P     |
| Kontrol (a)              | 20 | 2.45±0.02 <sup>d,e</sup>       | 2.41 | 2.48 | 0.000 | 1.05±0.02 <sup>c,d,e</sup>          | 1.02 | 1.09 | 0.000 | 42.76±0.76 <sup>c,d,e</sup>   | 41.30 | 44.61 | 0.000 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 2.50±0.08 <sup>d,e</sup>       | 2.38 | 2.65 |       | 1.03±0.03 <sup>c,d,e</sup>          | 0.99 | 1.07 |       | 41.72±1.33 <sup>d,e</sup>     | 39.76 | 43.78 |       |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 2.47±0.10 <sup>d,e</sup>       | 2.29 | 2.60 |       | 1.00±0.05 <sup>a,b,d,e</sup>        | 0.93 | 1.03 |       | 40.73±1.29 <sup>a,d,e</sup>   | 37.50 | 42.98 |       |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 2.28±0.12 <sup>a,b,c,e</sup>   | 2.06 | 2.58 |       | 0.81±0.05 <sup>a,b,c,e</sup>        | 0.76 | 0.91 |       | 35.90±1.38 <sup>a,b,c,e</sup> | 33.75 | 38.96 |       |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 2.07±0.07 <sup>a,b,c,d</sup>   | 1.98 | 2.20 |       | 0.68±0.02 <sup>a,b,c,d</sup>        | 0.64 | 0.73 |       | 32.99±0.89 <sup>a,b,c,d</sup> | 31.37 | 34.98 |       |

\*One way Anova, Tukey HSD,  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

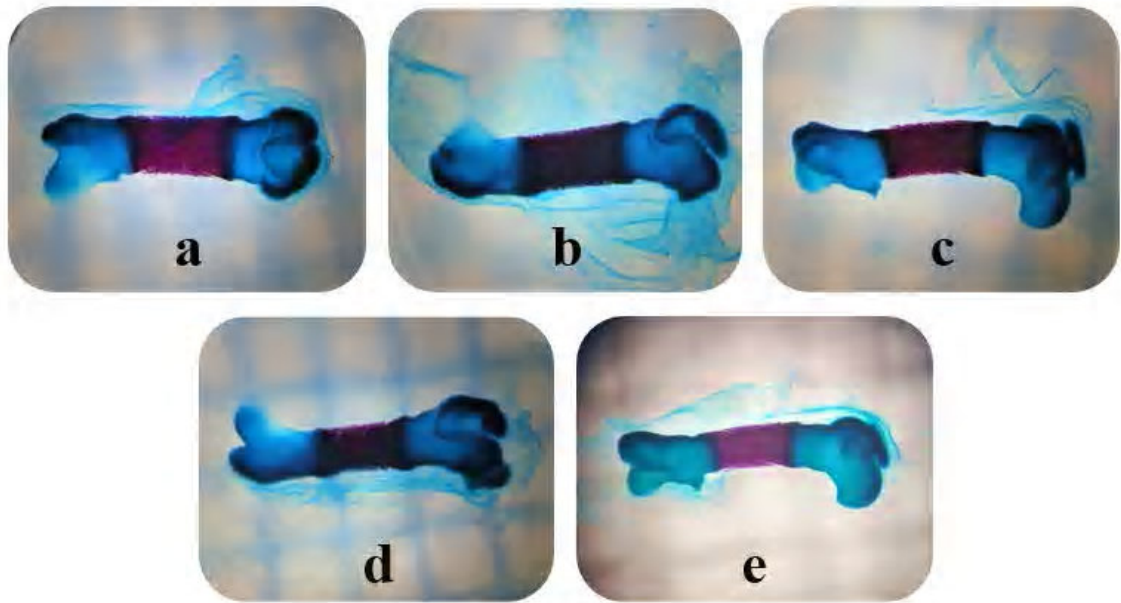
<sup>a</sup> <sup>b</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Ulna'ların toplam kemik alanı, kemikleşme alanı ve kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranı Tablo 4.13'te verilmiştir. Kontrol grubuna ait ulna'ların toplam kemik alanı ve kemikleşme alanı sırasıyla 2.45 mm<sup>2</sup> ve 1.05 mm<sup>2</sup> olarak ölçülürken, kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranı %42.76 olarak hesaplandı. 50 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait ulna'ların toplam kemik alanı 2.50 mm<sup>2</sup>, kemikleşme alanı ise 1.03 mm<sup>2</sup> olarak hesaplanırken toplam kemik alanının %41.72'sinin kemikleşme gösterdiği belirlendi. 125 mg/kg parasetamol grubunda ulna'ların toplam kemik alanı ve kemikleşme alanı sırasıyla 2.47 mm<sup>2</sup> ve 1.00 mm<sup>2</sup> olarak ölçüldü. Bu değerleri oranladığımızda %40.73'ünün kemikleştiği görüldü. 250 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait ulna'ların toplam kemik alanı 2.28 mm<sup>2</sup>, kemikleşme alanı 0.81 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Bu gruba ait ulna'ların %35.90'ının kemikleşme sergilediği belirlendi. 500 mg/kg parasetamol grubuna ait ulna'ların ise toplam kemik alanı 2.07 mm<sup>2</sup>, kemikleşme görülen bölgenin alanı 0.68 mm<sup>2</sup> kaydedilirken bu gruptaki ulna'ların %32.99'unda kemikleşme olduğu görüldü. Toplam kemik alanı parametreleri göz önüne alındığında kontrol grubu, 50 mg/kg ve 125 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait değerler ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait değerler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ). Kemikleşme alanına ait değerler ele alındığında; kontrol grubu ve 50 mg/kg parasetamol grupları ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Kemikleşme oranlarına bakıldığında ise kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasındaki farkın ve 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları ile diğer tüm gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ).

### **Femur'lara ait morfometrik bulgular**

Femur'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun toplam kemik uzunluğuna oranı Tablo 4.14'te verilmiştir. Buna göre femur'ların toplam kemik uzunluğu kontrol grubu ile 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarında sırasıyla 3.81 mm, 3.77 mm, 3.73 mm, 3.55 mm ve 3.20 mm olarak hesaplandı. Bu veriler dikkate alındığında 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplara ait değerler ile diğer tüm grupların ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu göze çarpmaktadır ( $p < 0.05$ ). Femur'ların kemikleşme uzunluğu ise kontrol grubu ve deney gruplarında sırasıyla 1.44 mm, 1.39 mm, 1.34 mm,

1.20 mm ve 0.93 mm olarak ölçüldü. Kemikleşme uzunluğuna ait veriler kıyaslandığında kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ). Toplam kemik uzunluğu ve kemikleşme uzunluğu oranlandığında ise kontrol grubundaki femur'ların %37.73'ünün, 50 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %36.86'sinin 125 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %35.84'ünün, 250 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %33.73'ünün ve 500 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %28.92'sinin kemikleşme sergilediği belirlendi. Bu oranlar kendi aralarında karşılaştırıldığında 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları ile diğer tüm gruplara ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.6).



**a:** Kontrol grubu

**b:** 50 mg/kg parasetamol grubu

**c:** 125 mg/kg parasetamol grubu

**d:** 250 mg/kg parasetamol grubu

**e:** 500 mg/kg parasetamol grubu

**Şekil 4.6.** Femur'lara ait görüntüler

Femur'ların alan hesaplamasına ait veriler Tablo 4.15'te verilmiştir. Buna göre femur'ların toplam kemik alanı kontrol grubunda  $3.18 \text{ mm}^2$ , 50 mg/kg parasetamol grubunda  $3.15 \text{ mm}^2$ , 125 mg/kg parasetamol grubunda  $3.16 \text{ mm}^2$ , 250 mg/kg parasetamol grubunda  $2.99 \text{ mm}^2$  ve 500 mg/kg parasetamol grubunda  $2.80 \text{ mm}^2$  olarak hesaplandı. Bu parametreler ele alındığında 500 mg/kg parasetamol verilen grubun verileri ile kontrol ve diğer deney gruplarına ait veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ). Femur'ların kemikleşme alanı kontrol grubunda  $1.05 \text{ mm}^2$  ölçülürken; 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarında sırasıyla  $1.04 \text{ mm}^2$ ,  $0.99 \text{ mm}^2$ ,  $0.89 \text{ mm}^2$  ve  $0.77 \text{ mm}^2$  olarak hesaplandı. Sonuçlar karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplar arasındaki farklılığın ve 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplar ile diğer tüm gruplara ait değerler arasındaki sayısal farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ). Toplam kemik alanı ile kemikleşme alanı oranlandığında kontrol grubundaki femur'ların %33.31'inin, 50 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %32.98'inin, 125 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %31.13'ünün, 250 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların %29.45'inin ve 500 mg/kg parasetamol grubundaki femur'ların ise %26.90'ının kemikleşme sergilediği görülmektedir. Kontrol grubuna ait değerler ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplara ait değerler arasında ve yüksek doz uygulanan 500 mg/kg parasetamol grubuna ait değerler ile diğer tüm gruplara ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.14.** Femur'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Kemik Uzunluğu (mm)   |      |      | Kemikleşme Uzunluğu (mm) |                              |      | Uzunluk Yüzde Oranı (%) |       |       |
|--------------------------|----|------------------------------|------|------|--------------------------|------------------------------|------|-------------------------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P                        | Ortalama±SS                  | Min  | Maks                    | P     | Maks  |
| Kontrol (a)              | 20 | 3.81±0.24 <sup>d,e</sup>     | 3.57 | 4.31 | 0.000                    | 1.44±0.12 <sup>e,d,e</sup>   | 1.30 | 1.63                    | 0.000 | 43.23 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 3.77±0.16 <sup>d,e</sup>     | 3.55 | 4.12 |                          | 1.39±0.10 <sup>d,e</sup>     | 1.25 | 1.58                    |       | 39.29 |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 3.73±0.16 <sup>d,e</sup>     | 3.51 | 4.11 |                          | 1.34±0.08 <sup>a,d,e</sup>   | 1.20 | 1.48                    |       | 38.24 |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 3.55±0.11 <sup>a,b,c,e</sup> | 3.33 | 3.71 |                          | 1.20±0.08 <sup>a,b,c,e</sup> | 1.02 | 1.32                    |       | 36.62 |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 3.20±0.13 <sup>a,b,c,d</sup> | 2.99 | 3.44 |                          | 0.93±0.06 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.78 | 1.05                    |       | 31.04 |

**Tablo 4.15.** Femur'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Alan (mm <sup>2</sup> ) |      |      | Kemikleşme Alanı (mm <sup>2</sup> ) |                              |      | Alan Yüzde Oranı (%) |       |       |
|--------------------------|----|--------------------------------|------|------|-------------------------------------|------------------------------|------|----------------------|-------|-------|
|                          |    | Ortalama±SS                    | Min  | Maks | P                                   | Ortalama±SS                  | Min  | Maks                 | P     | Maks  |
| Kontrol (a)              | 20 | 3.18±0.38 <sup>e</sup>         | 2.55 | 3.87 | 0.000                               | 1.05±0.15 <sup>d,e</sup>     | 0.78 | 1.31                 | 0.000 | 37.88 |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 3.15±0.17 <sup>e</sup>         | 2.88 | 3.41 |                                     | 1.04±0.11 <sup>d,e</sup>     | 0.80 | 1.29                 |       | 37.80 |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 3.16±0.18 <sup>e</sup>         | 2.90 | 3.51 |                                     | 0.99±0.09 <sup>d,e</sup>     | 0.79 | 1.11                 |       | 34.66 |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 2.99±0.08 <sup>e</sup>         | 2.80 | 3.12 |                                     | 0.89±0.02 <sup>a,b,c,e</sup> | 0.78 | 1.02                 |       | 32.83 |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 2.80±0.14 <sup>a,b,c,d</sup>   | 2.55 | 3.08 |                                     | 0.77±0.02 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.68 | 0.89                 |       | 28.84 |

\*One way Anova, Tukey HSD,  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

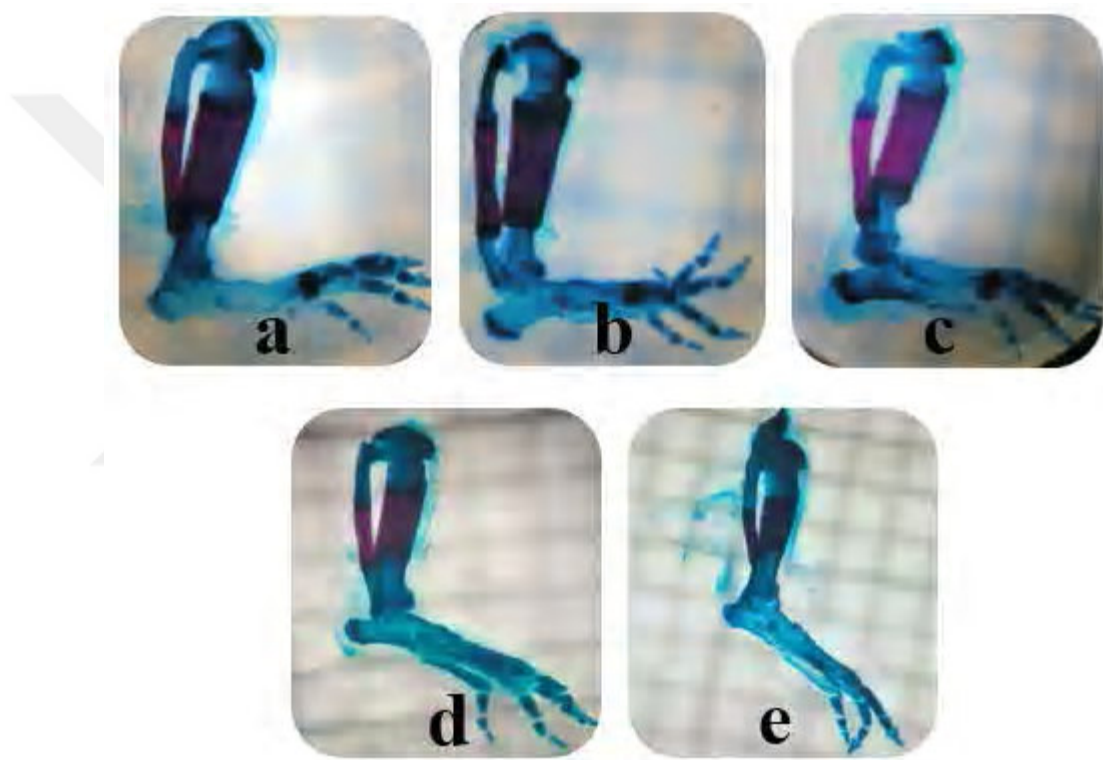
<sup>a</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

### **Tibia'lara ait morfometrik bulgular**

Tibia'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun toplam kemik uzunluğuna oranı Tablo 4.16'da verilmiştir. Tibia'ların toplam uzunluğu kontrol grubunda 3.67 mm, 50 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.65 mm, 125 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.60 mm, 250 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.48 mm ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupta ise 3.24 mm olarak ölçüldü. Kemik uzunluğuna ait sonuçlar değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre deney gruplarında verilen ilaç miktarı arttıkça bir azalma olduğu açıkça görülmektedir. Veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubuna ait verilerin sayısal değerleri ile deney gruplarından 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait sayısal değerler arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Tibia'ların kemikleşme uzunluğu kontrol grubunda 1,38 mm, deney gruplarında ise sırasıyla 1.35 mm, 1.29 mm, 1.14 mm ve 0.95 mm olarak kaydedildi. Kontrol grubunun değerleri ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupların değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Toplam kemik uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun oranına bakıldığında ise kontrol grubuna ait tibia'ların %37.58'inin, 50 mg/kg parasetamol grubuna ait tibia'ların %37.09'unun, 125 mg/kg parasetamol grubuna ait tibia'ların %35.74'ünün, 250 mg/kg parasetamol grubuna ait tibia'ların %32.75'inin ve 500 mg/kg parasetamol grubuna ait tibia'ların ise %29.42'sinin kemikleştiği görüldü. Kontrol grubuna ait yüzde değeri ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait yüzde değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu ve yüksek doz grubuna ait değerler ile tüm gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.7).

Tibia'lara ait yüzey alanı ölçümleri Tablo 4.17'de verilmiştir. Buna göre toplam alan değerleri kontrol grubu ve deney gruplarında sırasıyla 2.58 mm<sup>2</sup>, 2.53 mm<sup>2</sup>, 2.45 mm<sup>2</sup>, 2.38 mm<sup>2</sup> ve 3.22 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Kemikleşme alanının ölçümlerine ait değerler kontrol grubunda 0.97 mm<sup>2</sup> hesaplanırken, deney gruplarında sırasıyla 0.95 mm<sup>2</sup>, 0.88 mm<sup>2</sup>, 0.78 mm<sup>2</sup> ve 0.66 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol grupları arasındaki farkın ve yüksek doz grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki sayısal farkın istatistiksel

olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Kemikleşme alanının toplam kemik alanına oranına bakıldığında kontrol grubunun %37.56'sının, 50 mg/kg parasetamol grubunun %37.49'unun, 125 mg/kg parasetamol grubunun %35.91'inin, 250 mg/kg parasetamol grubunun %32.59'unun ve 500 mg/kg parasetamol grubunun ise %29.57'sinin kemikleştiği görüldü. Bu değerler istatistiksel olarak ele alındığında kontrol grubuna ait değer ile düşük doz ilaç verilen grup hariç diğer tüm deney gruplarına ait değerler arasındaki farkın anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).



**a:** Kontrol grubu

**b:** 50 mg/kg parasetamol grubu

**c:** 125 mg/kg parasetamol grubu

**d:** 250 mg/kg parasetamol grubu

**e:** 500 mg/kg parasetamol grubu

**Şekil 4.7.** Tibia ve Fibula'lara ait görüntüler

**Tablo 4.16.** Tibia'lara ait uzunluk verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Kemik Uzunluğu (mm)   |      |      | Kemikleşme Uzunluğu (mm) |                              |      | Uzunluk Yüzde Oranı (%) |       |                               |
|--------------------------|----|------------------------------|------|------|--------------------------|------------------------------|------|-------------------------|-------|-------------------------------|
|                          |    | Ortalama±SS                  | Min  | Maks | P                        | Ortalama±SS                  | Min  | Maks                    | P     | Maks                          |
| Kontrol (a)              | 20 | 3.67±0.10 <sup>c,d,e</sup>   | 3.53 | 3.81 | 0.000                    | 1.38±0.07 <sup>c,d,e</sup>   | 1.29 | 1.48                    | 0.000 | 37.58±1.32 <sup>c,d,e</sup>   |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 3.65±0.10 <sup>d,e</sup>     | 3.52 | 3.79 |                          | 1.35±0.06 <sup>c,d,e</sup>   | 1.25 | 1.44                    |       | 37.09±0.89 <sup>c,d,e</sup>   |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 3.60±0.06 <sup>a,d,e</sup>   | 3.51 | 3.71 |                          | 1.29±0.04 <sup>a,b,d,e</sup> | 1.21 | 1.35                    |       | 35.74±0.87 <sup>a,b,d,e</sup> |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 3.48±0.06 <sup>a,b,c,e</sup> | 3.36 | 3.56 |                          | 1.14±0.04 <sup>a,b,c,e</sup> | 1.06 | 1.18                    |       | 32.75±0.76 <sup>a,b,c,e</sup> |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 3.24±0.08 <sup>a,b,c,d</sup> | 3.11 | 3.40 |                          | 0.95±0.04 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.89 | 1.04                    |       | 29.42±0.82 <sup>a,b,c,d</sup> |
|                          |    |                              |      |      |                          |                              |      |                         |       | 30.77                         |

**Tablo 4.17.** Tibia'lara ait alan verileri ve istatistiksel analizleri

| Grup                     | N  | Toplam Alan (mm <sup>2</sup> ) |      |      | Kemikleşme Alanı (mm <sup>2</sup> ) |                              |      | Alan Yüzde Oranı (%) |       |                               |
|--------------------------|----|--------------------------------|------|------|-------------------------------------|------------------------------|------|----------------------|-------|-------------------------------|
|                          |    | Ortalama±SS                    | Min  | Maks | P                                   | Ortalama±SS                  | Min  | Maks                 | P     | Maks                          |
| Kontrol (a)              | 20 | 2.58±0.15 <sup>c,d,e</sup>     | 2.34 | 2.84 | 0.000                               | 0.97±0.07 <sup>c,d,e</sup>   | 0.86 | 1.07                 | 0.000 | 37.56±1.25 <sup>c,d,e</sup>   |
| 50 mg/kg Parasetamol(b)  | 18 | 2.53±0.13 <sup>d,e</sup>       | 2.31 | 2.67 |                                     | 0.95±0.06 <sup>c,d,e</sup>   | 0.85 | 1.02                 |       | 37.49±1.07 <sup>c,d,e</sup>   |
| 125 mg/kg Parasetamol(c) | 20 | 2.45±0.09 <sup>a,e</sup>       | 2.28 | 2.56 |                                     | 0.88±0.04 <sup>a,b,d,e</sup> | 0.81 | 0.93                 |       | 35.91±0.98 <sup>a,b,d,e</sup> |
| 250 mg/kg Parasetamol(d) | 20 | 2.38±0.05 <sup>a,b,e</sup>     | 2.26 | 2.46 |                                     | 0.78±0.03 <sup>a,b,c,e</sup> | 0.71 | 0.83                 |       | 32.59±1.00 <sup>a,b,c,e</sup> |
| 500 mg/kg Parasetamol(e) | 20 | 2.22±0.07 <sup>a,b,c,d</sup>   | 2.09 | 2.35 |                                     | 0.66±0.03 <sup>a,b,c,d</sup> | 0.60 | 0.73                 |       | 29.57±0.85 <sup>a,b,c,d</sup> |
|                          |    |                                |      |      |                                     |                              |      |                      |       | 31.11                         |

\*One way Anova, Tukey HSD,  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edildi.

<sup>a,b</sup>: a grubu ile b grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

### **Fibula'lara ait morfometrik bulgular**

Fibula'ların toplam kemik uzunluğu, kemikleşme uzunluğu ve kemikleşme uzunluğunun toplam kemik uzunluğuna oranı Tablo 4.18'de verilmiştir. Buna göre fibula'ların toplam kemik uzunluğu kontrol grubunda 3.46 mm, 50 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.45 mm, 125 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.36 mm, 250 mg/kg parasetamol uygulanan grupta 3.16 mm ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grupta ise 3.06 mm olarak ölçüldü. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait verilerin sayısal değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Fibula'ların kemikleşme uzunluğu kontrol grubunda 1.31 mm olarak ölçülürken deney gruplarında sırasıyla 1.31 mm, 1.21 mm, 1.01 mm ve 0.90 mm olarak kaydedildi. Kontrol grubu ve 50 mg/kg parasetamol uygulanan grup ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Toplam kemik uzunluğu ve kemikleşme uzunluğu oranlandığında; kontrol grubuna ait fibula'ların %37.80'inin, 50 mg/kg parasetamol grubuna ait fibula'ların %38.10'unun, 125 mg/kg parasetamol grubuna ait fibula'ların %34.89'unun, 250 mg/kg parasetamol grubuna ait fibula'ların %31.79'unun ve 500 mg/kg parasetamol grubuna ait fibula'ların ise %29.25'inin kemikleşme sergilediği görüldü. Bu oranlar dikkate alındığında farklı olarak düşük doz grubuna ait değerlerin kontrol grubuna göre minimal artış sergilediği görülmektedir. Ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmektedir. Kontrol ve 50 mg/kg parasetamol verilen gruplara ait değerler ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplara ait değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ), (Şekil 4.7).

Fibula'lara ait alan ölçümleri Tablo 4.19'da özetlenmiştir. Tabloya göre fibula'ların toplam alan değerleri sırasıyla 1.11 mm<sup>2</sup>, 1.10 mm<sup>2</sup>, 1.03 mm<sup>2</sup>, 0.98 mm<sup>2</sup> ve 0.90 mm<sup>2</sup> olarak ölçüldü. Kontrol grubuna ve 50 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait değerler ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplara ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Fibula'ların kemikleşme alanı ölçümlerine ait değerler kontrol grubunda 0.41 mm<sup>2</sup>; deney gruplarında ise sırasıyla 0.41 mm<sup>2</sup>, 0.36 mm<sup>2</sup>, 0.30 mm<sup>2</sup> ve 0.26 mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Kontrol grubu ile düşük doz parasetamol uygulanan grup hariç diğer tüm deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ). Kemikleşme alanı,

toplam kemik alanı ile oranlandığında ise kontrol grubunun %37.40'ının, 50 mg/kg parasetamol grubunun %37.57'sinin, 125 mg/kg parasetamol grubunun %34.89'unun, 250 mg/kg parasetamol grubunun %30.70'inin ve 500 mg/kg parasetamol grubunun ise %28.32'sinin kemikleştiği görüldü. Uzunluk olarak kemikleşme gösteren bölgenin yüzde oranında olduğu gibi kontrol grubuna göre düşük doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış söz konusudur. Bunun yanında 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplarda doz artışına bağlı değerlerin düştüğü görülmektedir. Fibula'ların alan olarak kemikleşme oranları ele alındığında kontrol grubuna ve 50 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait veriler ile 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarına ait değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ), (Tablo 4.19).

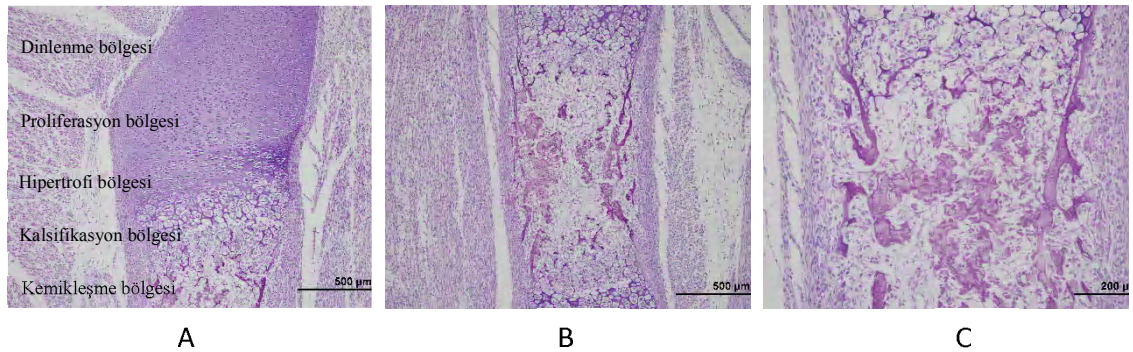


### 4.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMİNE AİT BULGULAR

Bu çalışmada parasetamolün erken gelişim dönemindeki embriyolar üzerinde oluşturabileceği olası kemik hasarının olup olmadığı incelendi. Bu süreçte öncelikle fetüslere ait kemik dokuların genel histolojik yapılarının belirlenmesi amacıyla rutin histolojik doku takip yöntemi uygulandı. Bunu takiben histopatolojik yapıyı belirlemek için Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama yapıldı. Son olarak da kemik yapımının metabolik belirleyicilerinden Alkalın Fosfataz (ALP) ve kemik yıkımının metabolik belirleyicilerinden olan Tartarata Rezistan Asit Fosfataz (TRAP) yoğunluğu immünohistokimyasal boyama metodu uygulanarak analiz edildi.

#### 4.3.1. H&E ile Boyanmış Gruplara Ait Histolojik Bulgular

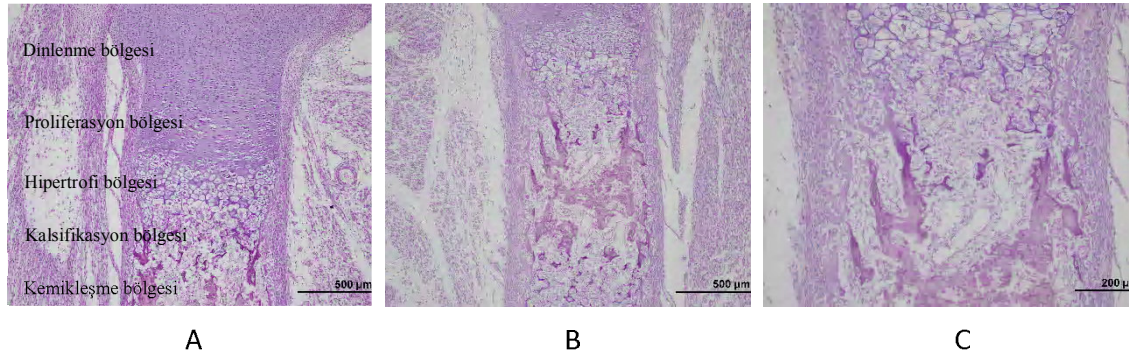
Kontrol grubuna ait H&E ile boyanmış preparatlardaki kemik oluşumu mikroskopik olarak incelendiğinde, dinlenme bölgesi tipik olarak hiyalin kıkırdak yapısı sergilemekteydi. Proliferasyon bölgesinde kondrositlerin hızla bölünerek üst üste dizilmiş bozuk paralar şeklinde oluşturduğu izogen gruplar mevcuttu. Hipertrofik bölgede glikojen partiküllerinin birikmesi ile büyük kondrositlerin meydana geldiği, kalsifikasyon bölgesinde kıkırdak hücrelerinde dejenerasyon (bozulma) alanlarının olduğu ve kemikleşme bölgesinde osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara dönüşerek kalsifiye kıkırdak matriksi yüzeyinde kemik matriksini oluşturdukları gözlemlendi (Şekil 4.8).



**Şekil 4.8.** Kontrol grubuna ait kemikleşme (A: X10, B: X10, C: X20, H&E)

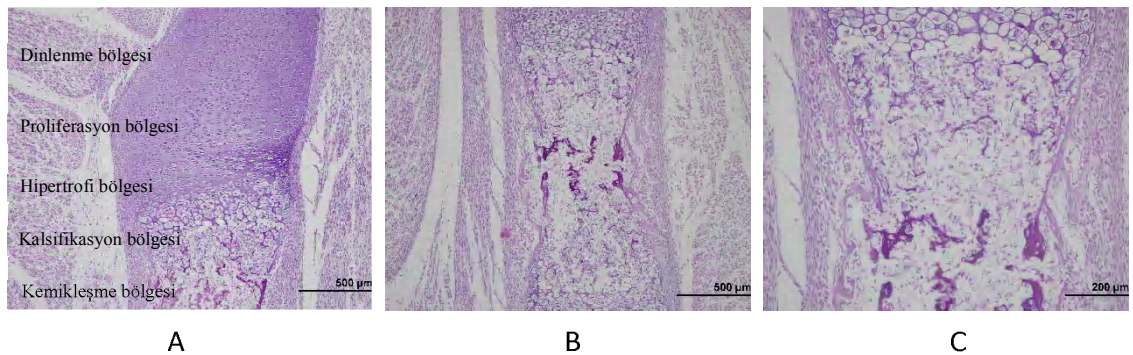
Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj yoluyla 50 mg/kg parasetamol verilen gruba ait H&E ile boyanmış preparatlarda, endokondral kemikleşme sürecinin beş basamağı kontrol grubundakine benzer şekilde gözlemlendi. Bu gruptaki kemikleşme bölgesinde yer alan kalsifiye kıkırdak matriksi üzerinde osteoblastlar tarafından meydana getirilen

kalsifiye kemik matriksinin kontrol grubu ile hemen hemen aynı özelliklere sahip olduğu mikroskopik olarak tespit edildi (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9.** 50 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme (A: X10, B: X10, C: X20, H&E)

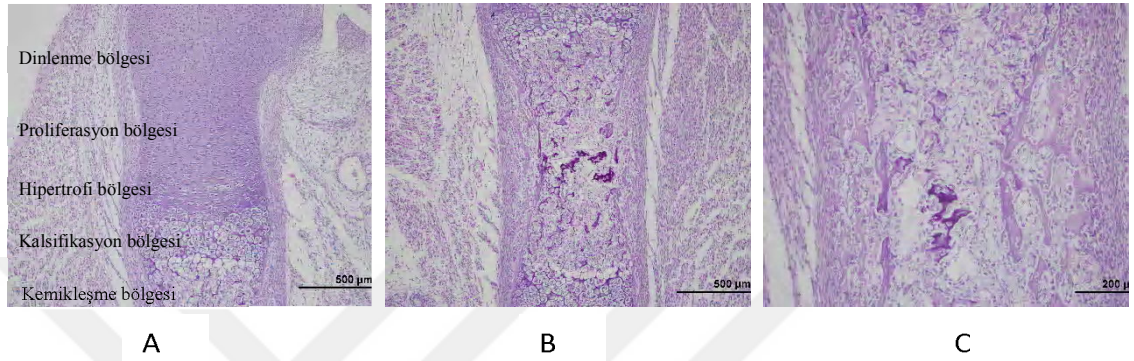
125 mg/kg dozda gavaj ile parasetamol verilen gruba ait H&E ile boyanan preparatlardaki kemik oluşumu ve endokondral kemikleşme sırasında gözlenen tabakalar mikroskopik olarak incelendi. Mikroskopik incelemede dinlenme ve proliferasyon tabakalarında yer alan hücrelerin kontrol grubundaki hücreler ile benzer özelliklere sahip olduğu belirlendi. Hipertrofik hücre sırasında yer alan büyük kondrositlerin kontrol grubuna göre daha az bulunduğu ve kemikleşme bölgesinde meydana gelen kemik dokusunun kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edildi (Şekil 4.10). Parasetamolün artan dozunun erken gelişim dönemlerindeki kemik gelişimi üzerine olumsuz etkisi olduğu gözlemlendi.



**Şekil 4.10.** 125 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme (A: X10, B: X10, C: X20, H&E)

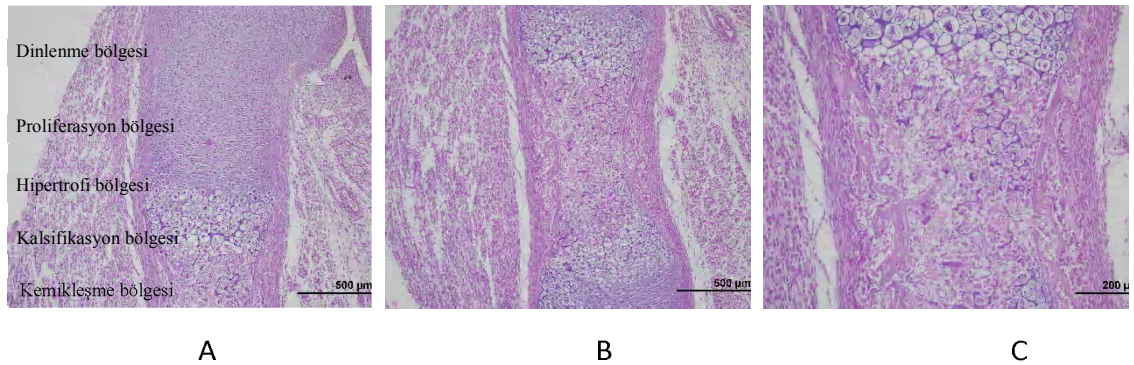
Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj yardımıyla 250 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait preparatlar mikroskopik olarak incelendiğinde; göze çarpan önemli noktalardan biri, elde edilen görüntülerde kemikleşme sürecindeki evrelerde hücre yoğunluğunun

kontrol grubuna göre daha az olmasıydı. Bu durum özellikle kemikleşme kuşağındaki hücre yoğunluğunda tespit edildi (Şekil 4.11). Hipertrofik hücre kuşağında büyük kondrositlerin sayısı daha az olarak görüldü. Endokondral kemikleşme basamaklarında meydana gelen bu farklılıklar artan dozda parasetamol kullanımının kemik gelişimi üzerine negatif etkisini ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.11.** 250 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme (A: X10, B:X10,C: X20, H&E)

500 mg/kg parasetamol uygulanan gruba ait preparatlar mikroskopik olarak incelendiğinde; dinlenme, proliferasyon, hipertrofi, kalsifikasyon ve kemikleşme bölgeleri gözlenmekle birlikte, söz konusu bölgeler kontrol grubunda gözlenen histolojik yapıları içermemekteydi. Kalsifikasyon bölgesinde kıkırdak matriksinin kalsifiye olduğu alanlar mevcuttu (Şekil 4.12). Ancak kemikleşme bölgesindeki hücre yoğunluğu tüm gruplara göre daha azdı. Tüm bunlar göz önüne alındığında, artan parasetamol uygulamasının kemikleşme yönündeki azalmayı tetiklediği tespit edildi.

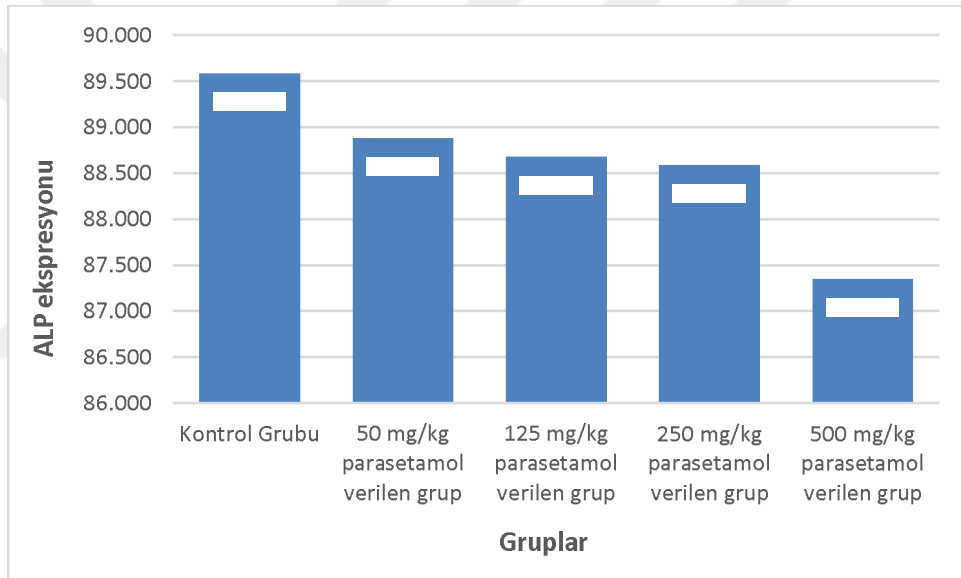


**Şekil 4.12.** 500 mg/kg parasetamol uygulanan grubuna ait kemikleşme (A: X10, B: X10, C: X20, H&E)

### 4.3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

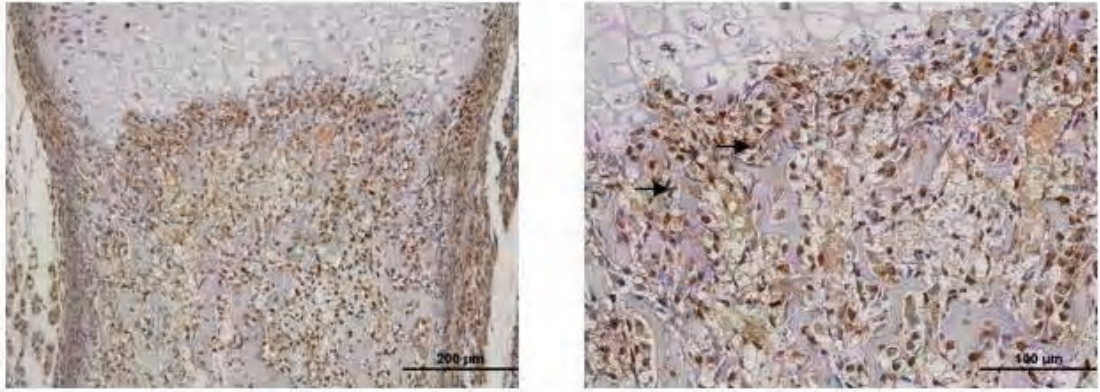
#### ALP İmmünoreaktivite Yoğunluğuna Ait Bulgular

İmmünohistokimyasal boyama yapılan preparatlardaki her gruba ait dokulardan alınan kesitlerde ALP immünoreaktivite yoğunluğunu belirlemek için ImageJ programı kullanıldı. Ortalama immünoreaktivite yoğunluğu, kontrol grubunda  $89.589 \pm 3.70$ , 50 mg/kg parasetamol grubunda  $88.885 \pm 4.11$ , 125 mg/kg parasetamol grubunda  $88.681 \pm 5.94$ , 250 mg/kg parasetamol grubunda  $88.590 \pm 4.35$  ve 500 mg/kg parasetamol grubunda  $87.354 \pm 4.32$  olarak belirlendi (Grafik 4.1).



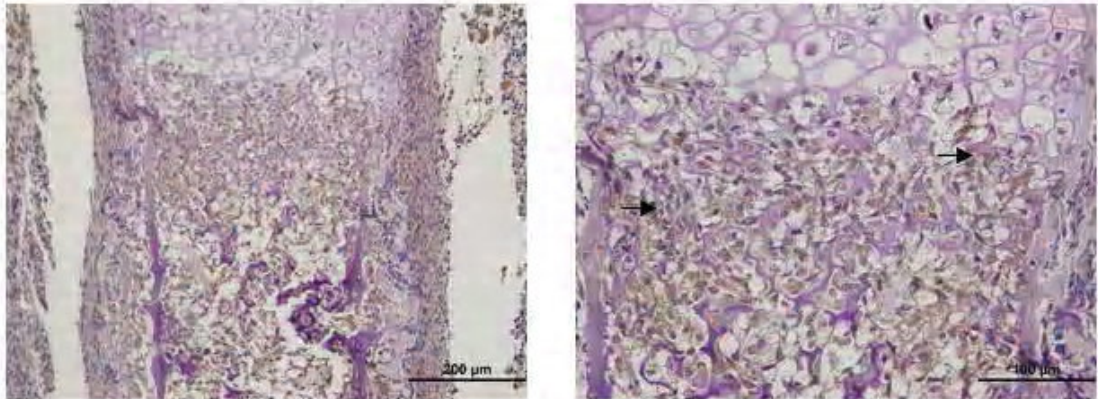
**Grafik 4.1.** Kontrol ve deney gruplarına ait ortalama ALP immünoreaktivite yoğunluğu

Kontrol grubuna ait immünohistokimyasal boyama yöntemi uygulanmış preparatlar mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, kemikleşmenin olduğu bölgede yoğun ALP ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.13). Aynı zamanda ALP yoğunluğunun hesaplanması için kullanılan ImageJ programına ait veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Kontrol grubuyla diğer gruplar arasında ALP'nin ekspresyon yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ).



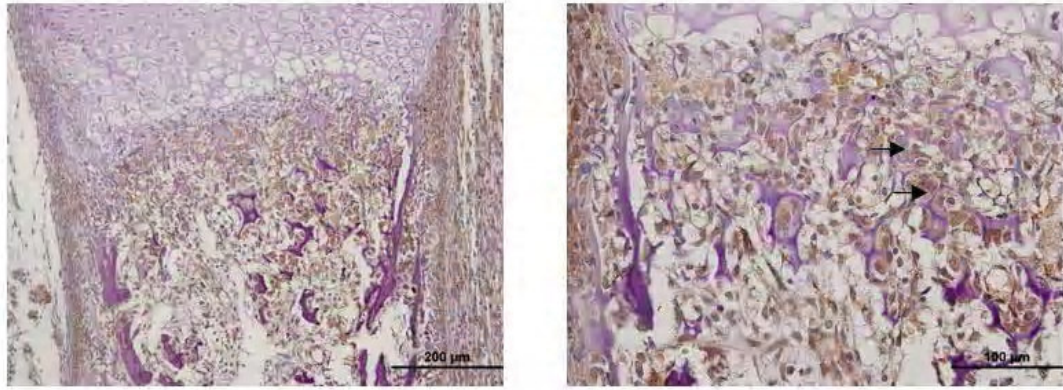
**Şekil 4.13.** Kontrol grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 50 mg/kg parasetamol verilen gruba ait elde edilen preparatlar incelendiğinde, endokondral kemikleşmenin son basamağı olan kemikleşme bölgesinde ALP ekspresyonu kontrol grubuna benzer şekilde gözlemlendi (Şekil 4.14). Ortalama ekspresyon yoğunluğu kontrol grubuna ( $89.589 \pm 3.70$ ) göre 50 mg/kg parasetamol verilen grupta ( $88.885 \pm 4.11$ ) daha düşük olduğu belirlendi. Elde edilen ALP ekspresyon yoğunlukları gruplar arasında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p > 0.05$ ).



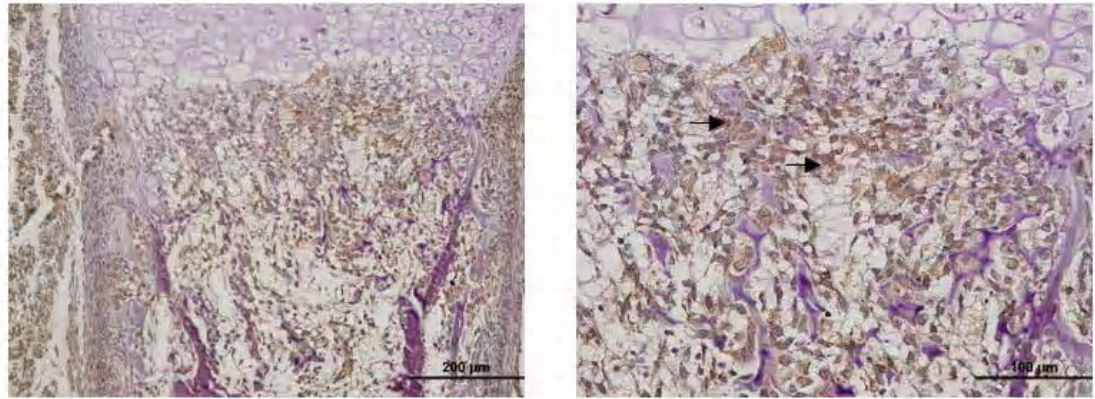
**Şekil 4.14.** 50 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

125 mg/kg parasetamol verilen gruba ait ekspresyon yoğunluğu ortalama  $88.681 \pm 5.94$  olarak hesaplandı. Mikroskopik incelemede 50 mg/kg parasetamol verilen grup ile benzer özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Aynı zamanda 50 mg/kg parasetamol verilen grup ( $88.885 \pm 4.11$ ) ile benzer ancak kontrol grubuna ( $89.589 \pm 3.70$ ) göre düşük ortalama ALP ekspresyon yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.15). Elde edilen ALP ekspresyon verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise gruplar arasında anlamlılık olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ).



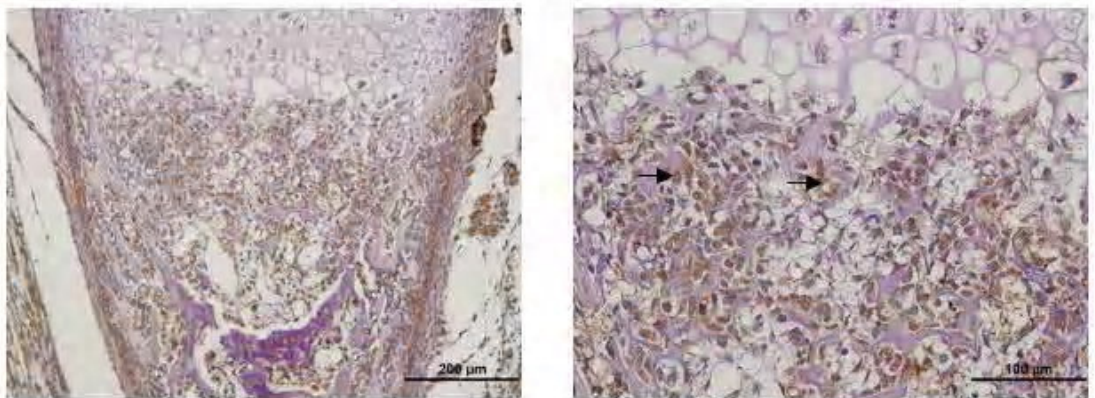
**Şekil 4.15.** 125 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu ( $\rightarrow$ ), (A: X20, B: X40).

Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 250 mg/kg parasetamole maruz kalan grubun ALP ekspresyon yoğunluğu kontrol grubuna kıyasla zayıf olarak gözlemlendi (Şekil 4.16). Bunun aksine hem 50 mg/kg hem de 125 mg/kg parasetamole maruz kalan gruplar ile benzer ortalama değerlere sahip olduğu belirlendi. ALP yoğunluğunun hesaplanması için kullanılan ImageJ programına ait verilerin ortalaması  $88.590 \pm 4.35$  olarak ölçüldü. ALP yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak fark olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ).



**Şekil 4.16.** 250 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

Gebeliklerinin 20. gününe kadar 500 mg/kg parasetamol uygulaması yapılan grubun ALP ekspresyon yoğunluğu tüm gruplara kıyasla belirgin olarak zayıf olduğu gözlemlendi (Şekil 4.17). ALP ekspresyon yoğunluğunun hesaplanması için kullanılan ImageJ programına ait verilerin ortalama değeri  $87.354 \pm 4.32$  olarak elde edildi. Elde edilen bu ortalama değer hem kontrol hem de deney gruplarındaki ekspresyon yoğunluklarına kıyasla az olmasına rağmen istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlılık olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ).

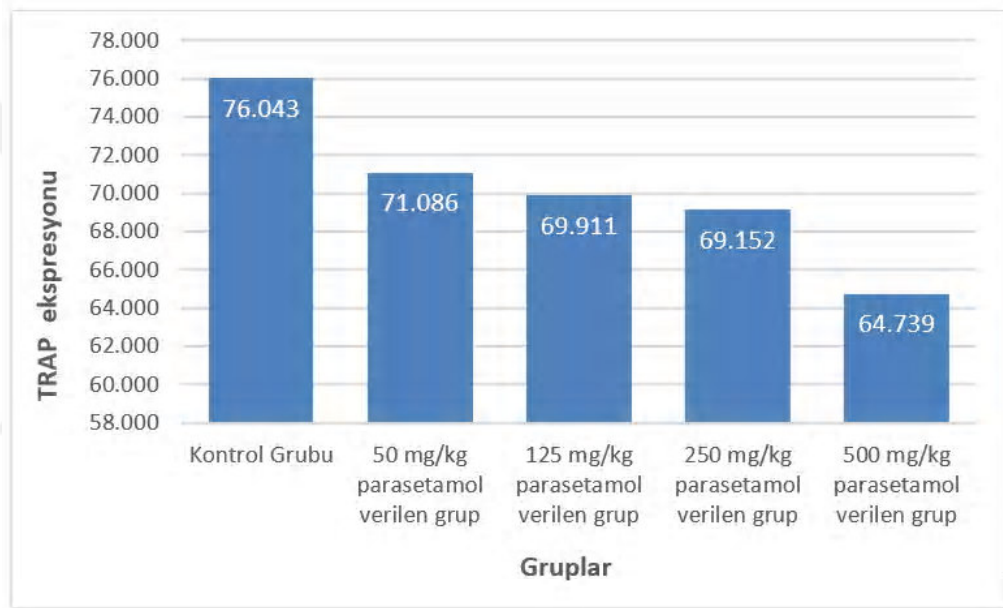


**Şekil 4.17.** 500 mg/kg parasetamol verilen grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki ALP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

Genel anlamda, ALP ekspresyon yoğunluğu kontrol grubunda en fazla, 500 mg/kg parasetamol uygulamasına maruz kalan grupta ise en az olarak tespit edildi. Kemik yapımının metabolik belirleyicilerinden ALP yoğunluğunun parasetamol dozu arttıkça azaldığı belirlendi.

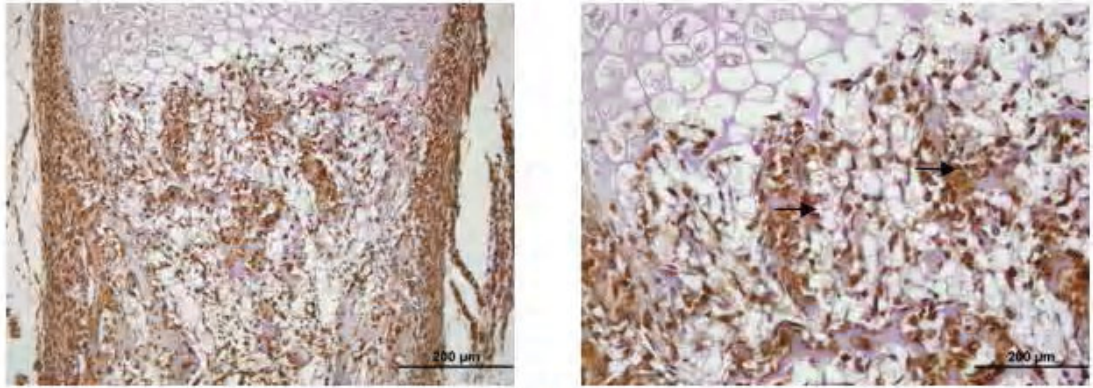
### TRAP İmmünoreaktivite Yoğunluğuna Ait Bulgular

İmmünohistokimyasal boyama yapılan preparatlardaki tüm gruplara ait femur'lardan alınan kesitlerde TRAP immünoreaktivite yoğunluğunu belirlemek için ImageJ programı kullanıldı. Ortalama immünoreaktivite yoğunluğu kontrol grubunda  $76.043 \pm 5.76$ , 50 mg/kg parasetamol grubunda  $71.086 \pm 6.08$ , 125 mg/kg parasetamol grubunda  $69.911 \pm 4.34$ , 250 mg/kg parasetamol grubunda  $69.152 \pm 6.33$  ve 500 mg/kg parasetamol grubunda ise  $64.739 \pm 5.91$  olarak belirlendi (Grafik 4.2).



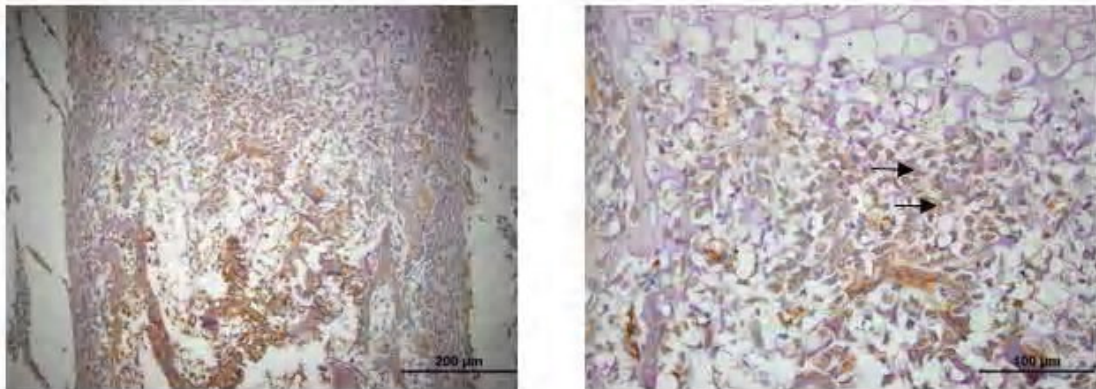
**Grafik 4.2.** Kontrol ve deney gruplarına ait ortalama TRAP immünoreaktivite yoğunluğu

Kontrol grubuna ait IHK boyama yöntemi uygulanmış preparatlar mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, endokondral kemikleşmenin son zonu olarak bilinen kemikleşmenin olduğu bölgede yoğun TRAP ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.18). TRAP yoğunluğuna ait verilerin ortalaması  $76.043 \pm 5.76$  olarak hesaplandı. TRAP immünoreaktivite yoğunluğunun kemikleşme bölgesinde artmış olarak görülmesi osteoblast-osteoklast dengesinin bir sonucu olarak düşünülmektedir. İlave olarak kontrol grubu ile diğer gruplar arasında TRAP yoğunluğu açısından anlamlı bir fark elde edildi ( $p < 0.05$ ).



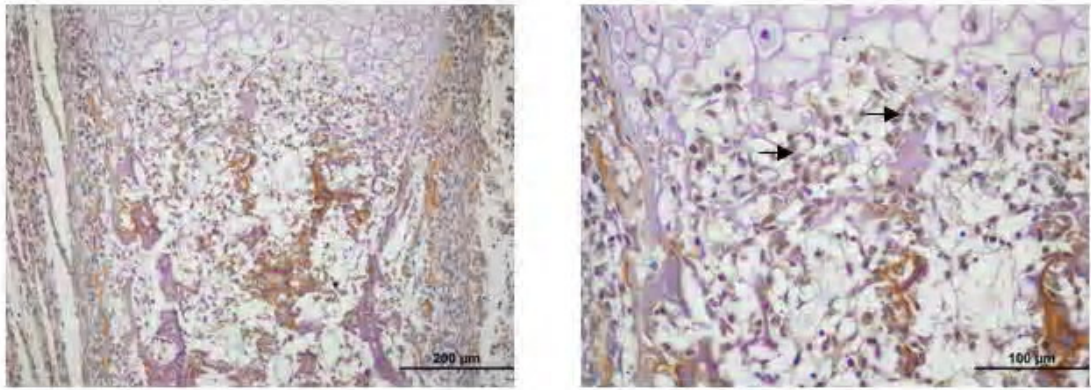
**Şekil 4.18.** Kontrol grubuna ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj yardımıyla 50 mg/kg parasetamole maruz kalan grubun immünohistokimyasal boyamasında TRAP ekspresyonunun ortalaması  $71.086 \pm 6.08$  olarak elde edildi. 50 mg/kg parasetamol grubunun hem mikroskopik hem de ekspresyon yoğunluk sonuçlarının kontrol grubundakine benzer olduğu görülmektedir (Şekil 4.19). 125 mg/kg ve 250 mg/kg parasetamol verilen gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olmadığı gözlenmiştir ( $p > 0.05$ ). Buna mukabil 500 mg/kg parasetamol verilen gruba ait değerler ile kıyaslandığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $p < 0.05$ ).



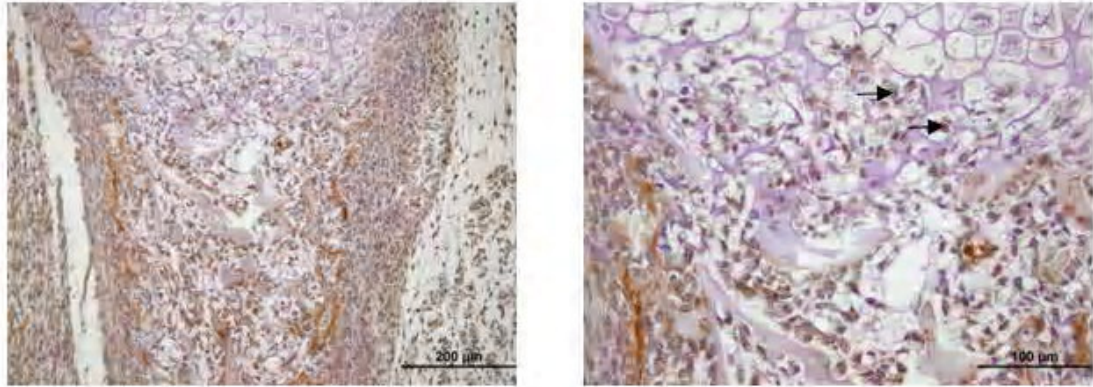
**Şekil 4.19.** 50 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

Gebeliklerinin 20. gününe kadar gavaj ile 125 mg/kg parasetamol verilen grupta TRAP immünoaktivite yoğunluğu  $69.911 \pm 4.34$  olarak hesaplandı. Mikroskopik incelemede TRAP ekspresyonunun kontrol grubuna göre zayıf ve açık renkli boyanmalar şeklinde olduğu görüldü (Şekil 4.20). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda 125 mg/kg parasetamol uygulamasına maruz kalan grup ile kontrol ve 500 mg/kg parasetamol verilen gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ).



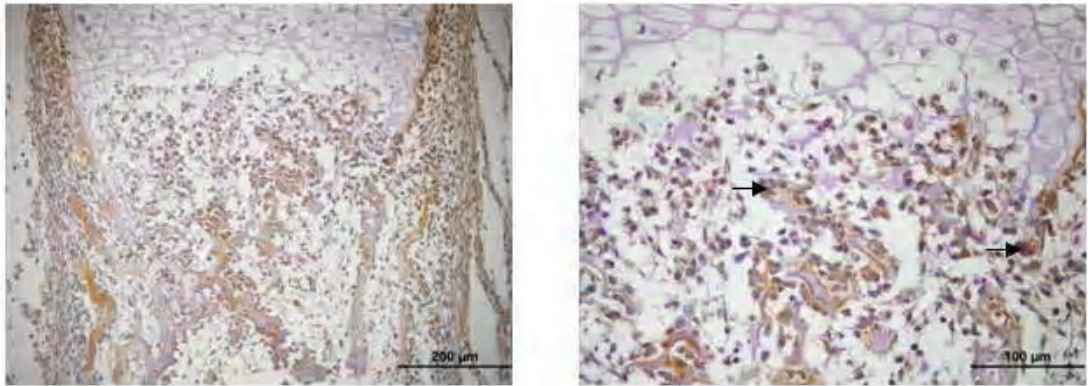
**Şekil 4.20.** 125 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

250 mg/kg parasetamol uygulanan grupta TRAP immünoaktivite yoğunluğu ortalama  $69.152 \pm 6.33$  olarak hesaplandı. Elde edilen ortalama TRAP ekspresyon yoğunluk değeri; kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen 125 mg/kg parasetamol verilen grup ile benzer özellikler sergilemektedir. Mikroskopik incelemede TRAP ekspresyonunun kontrol grubuna göre zayıf ve açık renkli boyanmalar şeklinde olduğu tespit edildi (Şekil 4.21). İstatistiksel değerlendirme sonucunda 250 mg/kg parasetamol uygulamasına maruz kalan grup ile kontrol grubu ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.21.** 250 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

500 mg/kg parasetamol verilen gruba ait preparatlarda kemikleşmenin olduğu bölgede TRAP immünoreaktivite yoğunluğu ortalama  $64.739 \pm 5.91$  olarak belirlendi (Şekil 2.22). 500 mg/kg parasetamol verilen gruba ait ortalama değerler karşılaştırıldığında hem kontrol hem de diğer deney grupları ile istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.22.** 500 mg/kg parasetamol verilen gruba ait immünohistokimyasal boyama uygulanmış preparatlarda kemikleşme görülen bölgedeki TRAP ekspresyonu (→), (A: X20, B: X40).

Kontrol grubunda kemikleşmenin olduğu bölgelerde TRAP immünoreaktivite yoğunluğuna ait ortalamalar en yüksek değere ( $76.043 \pm 5.76$ ); 500 mg/kg parasetamol verilen grupta ise bu ortalamalar en düşük değere ( $64.739 \pm 5.91$ ) sahip olduğu belirlendi. Elde ettiğimiz veriler, normal kemik dokusunda osteoklast ve osteoblastlar denge halinde olmasına rağmen, doz artışına bağlı parasetamol uygulamasının mevcut dengeyi bozarak kemikleşmeyi olumsuz yönde etkilediği sonucunu ortaya koymaktadır.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Deneysel teratoloji çalışmalarında, piyasaya yeni sürülecek olan farmakolojik ajanların veya endüstriyelerin zararlı etkilerinin incelenmesi için, kullanılan vazgeçilmez yöntemlerinden biri de ikili iskelet boyama metodudur. Bu metot ile kemiğin boyutu ve kemik-kıkırdak oranı açıkça ortaya konularak gebelik döneminde maruz kalınan ajanların teratolojik ve toksikolojik etkilerinin belirlenmesi ve sınıflandırılması mümkün olmaktadır. Son yıllarda iskelet sisteminin incelenmesinde yararlanılabilecek yeni teknikler önerilmiş olsa da (128), halen en sık tercih edilen yöntem olma özelliğine sahiptir (6).

İkili boyama protokolüne göre fetüsler önce %70'lik etil alkol içinde 4-7 gün bekletilerek içerdiği suyun çekilmesi sağlanır, ardından saf asetonda 1-3 gün süreyle bekletilerek yağlarından arındırılır. Sonrasında iç organları ve gözleri çıkartılarak boyama solüsyonuna alınır (120). Deneyimizin pilot çalışma aşamasında ilk başta fetüslerin derilerini soyarak protokol basamaklarını uyguladığımızda, kemik ve kıkırdakların boyanma kalitesinin arttığını gördük. Bu nedenle çalışmamızın deney aşamasına geçtiğimizde, daha önce yapılan ikili iskelet boyama çalışmalarında kullanılan protokolün dışına çıkarak fetüslerin derileri soyuldu ve daha sonra boyama aşamaları uygulandı.

Parasetamol 1893 yılından beri kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır (17). Ağrı kesici etkisini COX-1 ve COX-2 inhibisyonunun yanında COX-3 enzimini de inhibe ederek gerçekleştirdiği birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (35, 45, 51). Ancak COX inhibitörlerinin etki göstermediği bazı ağrı modellerinde analjezik etki oluşturması (35, 48, 50) ayrıca NSAİİ kullanımında periferik COX inhibisyonuna bağlı olarak gözlenen yan etkileri oluşturmaması (36) parasetamolün tipik COX inhibisyonundan farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğunu düşündürmektedir (22).

Gebelik döneminde anne adayının başta ürogenital sistem, hormonal sistem ve kas-iskelet sistemi olmak üzere sistemik değişiklikleri, kilo alımı ve psikolojik etkileşimleri ilaç kullanımını zorunlu kılabilir. Avrupa, Kuzey-Güney Amerika ve Avustralya'yı kapsayan (1 Ekim 2011 ile 29 Şubat 2012 tarihleri arasında gerçekleştirilen) web tabanlı bir anket çalışmasına göre; ankete katılan 9459 gebe kadının %80-90'ı en az bir kere reçeteli veya reçetesiz ilaç kullandıklarını belirtmişlerdir (129). Gebelik sürecinde hemen hemen her anne adayının karşılaştığı şikâyetlerden biri ağrıdır ve ilaç alımını gerektirebilmektedir (60). Parasetamol; çocuk, yaşlı, gebe gibi özel grupların da aralarında bulunduğu hasta popülasyonlarında en güvenilir ve en sık kullanılan ilaç olma özelliğine sahiptir (22). FDA risk faktörü kategorisinde 'B grubu'nda yer alan ağrı kesici bir ilaçtır. Yaygın olarak kullanılmasına rağmen, gebelikteki terapötik kullanımının güvenliği ile ilgili bilgiler sınırlıdır (130).

Yapılan deneysel çalışmalar parasetamol uygulamalarının ovaryumu etkilediğini ve buna bağlı olarak yavru sayısında azalma olduğunu göstermektedir (131, 132). Hatta tarihsel süreç içerisinde birkaç yıl boyunca parasetamolün aşırı tüketilmesinin insanlarda gözlenen kısırlıktan sorumlu olabileceğini ileri süren bilim adamlarına rastlanmaktadır (133).

Holm et al. (131), C57Bl/6 farelerinde çiftleşmeden sonraki 7. günden itibaren doğuma kadar gavaj ile 50 mg/kg ve 150 mg/kg parasetamol uygulaması yapmışlardır. Doğumdan 7 hafta sonra dişi yavruların yumurtalıklarını incelediklerinde, parasetamole maruz kalan gruplarda primordial folikül sayısının yaklaşık %50 azaldığını, primer ve sekonder folikül sayılarında da anlamlı bir azalma olduğunu saptamışlardır. Yazar bu verilere dayanarak, doğum öncesi parasetamole maruz kalmanın, daha sonra azalan doğurganlığa yol açtığına işaret etmektedir. Reel et al. (132), parasetamolün diyet ile Swiss CD-1 cinsi gebe farelere verildiğinde kontrol grubunda ortalama 12 yavru elde edilirken ilaç verilen grupta ortalama 9 yavru elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca yüksek doz parasetamol verilen gruptaki farelerin beşinci kez gebe kalmada başarısız olduklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda kontrol grubunda elde ettiğimiz fetüs sayısı 53 iken, deney gruplarında bu sayının sırasıyla 51, 49, 48 ve 43 olduğu görülmektedir. Deney gruplarında elde edilen fetüs sayısının kontrol grubundan daha az olduğu ve ilaç verilen gruplarda doz arttıkça bu sayının daha da azaldığı görülmektedir. Bu veriler parasetamolün yavru sayısı üzerine olumsuz etkisini ortaya koymaktadır.

Ancak parasetamolün hangi yolla yavru sayısını azalttığının (tuba uterina, uterus veya plesanta üzerindeki olası etkilerinin) ortaya konabilmesi için daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Son zamanlarda parasetamol ile yapılan bazı deneysel hayvan çalışmalarında; tedavi maksatlı verilen dozların bile hayvanların bilişsel yetkinliklerinde ve davranışlarında değişikliklere yol açtığı bildirilmektedir (134, 135). Bu veriler, parasetamolün nörolojik gelişim üzerindeki etkisini destekleyebilecek farklı potansiyel mekanizmalarının olabileceğine işaret etmektedir. Viberg et al. (134), yenidoğan beyin gelişimi sırasında farelerde parasetamol uygulamasının daha sonra bilişsel işlevi etkilediğini ve yetişkin erkek farelerde analjezik ve anksiyolitik cevabı değiştirdiğini göstermişlerdir. Ilic et al. (135) ise 5 mg/kg parasetamölü intraperitoneal olarak uygulayarak ani başlangıçlı ensefalopati oluşturdıkları Wistar Albino cinsi sıçanlarda, genel konvülsiyonlarla birlikte hızla gelişen hepatik ensefalopati oluştuğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda, sıçanlar gebe kaldıkları vajinal smear ile belirlendikten sonra gruplara rastgele dağıtıldı ve belirlenen dozlarda parasetamol uygulaması gebeliklerinin 20. gününe kadar yapıldı. Bu zaman zarfı içerisinde bilişsel ve davranışsal değişiklikleri gösteren parametreleri içeren fizyolojik davranış testleri uygulamadık ancak kabaca yaptığımız gözlemlerde hayvanlarda dikkatimizi çekecek herhangi bir davranışsal bozukluğa rastlamadık.

Deneysel hayvan çalışmalarında gebelik döneminde parasetamole maruz kalmanın yavruarda boy kısalığına ve ağırlık azalmasına neden olduğunu rapor eden yayınlar vardır (124, 136, 137). Wyskiel (136) yaptığı bir çalışmada, Wistar cinsi sıçanlara 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg parasetamölü günde üç defa uygulamanın fetüslerde boy kısalığına ve düşük doğum ağırlığına neden olduğunu belirtmiştir. Burdan (137), 2003 yılında Wistar cinsi gebe sıçanlar ile yaptığı çalışmasında; sıçanlara gebeliğin 8-14. günlerinde gavaj ile parasetamol ve kafeinden oluşan karışım (3.5 mg/kg, 35 mg/kg ve 350 mg/kg) vermiş ve ilaç uygulanan grupta baş-kıç uzunluğu ve fetüs ağırlığının kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğunu rapor etmiştir. Lubawy et al. (124) ise Sprague-Dawley cinsi sıçanlara gebeliklerinin 8-19. günlerinde 125 mg/kg ve 250 mg/kg parasetamölü gavaj yoluyla uygulamışlardır. 20. gün sezaryenle yavruları alıp ölçüm yaptıklarında kontrol grubuna ait fetüslerin baş-kıç uzunluğunu 3.73 cm, parasetamol uygulanan gruplardaki fetüslerin baş-kıç uzunluğunu ise 3.65 cm olarak ölçmüşler ve kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark olduğunu bildirmişlerdir. Bizim

çalışmamızda kontrol grubunda baş-kıç uzunluğu 2.84 cm ölçülürken 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol uygulanan gruplarda sırasıyla 2.68 cm, 2.63 cm, 2.61 cm ve 2.51 cm olarak ölçüldü.

Üreme, embriyo ve fetal toksikoloji çalışmaları fareler üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Reel et al. (132), Swiss CD cinsi farelerin doğum ağırlıklarının parasetamol ile ilişkili olarak azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca doğumdan sonra beslenmeye devam edilen yavrulara ait ağırlıkların kontrol grubunda 35.39 gr (erkek yavrular) ve 29.04 gr (dişi yavrular) olduğu, parasetamole maruz kalan yavrulara ait ağırlıkların ise 28.92 gr (erkek yavrular) ve 24.23 gr (dişi yavrular) olduğu rapor edilmiştir. Sunulan çalışmada fetüs ağırlığı kontrol grubunda 2.16 gr, 50 mg/kg parasetamol grubunda 2.06 gr, 125 mg/kg parasetamol grubunda 2.03 gr, 250 mg/kg parasetamol grubunda 2.01 gr ve 500 mg/kg parasetamol grubunda ise 1.93 gr olarak kaydedildi. Ayrıca çalışmamızda plasenta ağırlığı, occipito-frontal uzunluk ve biparietal uzunluk kontrol grubunda sırasıyla 0.56 gr, 1.41 cm ve 0.77 cm; 50 mg/kg parasetamol verilen grupta sırasıyla 0.54 gr, 1.38 cm ve 0.67 cm; 125 mg/kg parasetamol verilen grupta sırasıyla 0.53 gr, 1.36 cm ve 0.66 cm; 250 mg/kg parasetamol verilen grupta sırasıyla 0.51 gr, 1.36 cm ve 0.63 cm; 500 mg/kg parasetamol verilen grupta ise sırasıyla 0.49 gr, 1.32 cm ve 0.57 cm olarak tespit edildi. Bu parametrelerin deney gruplarında doz artışına paralel olarak azaldığı görülmektedir.

Burda (138), 2000 yılında Wistar cinsi sıçanlara gebeliklerinin ikinci trimesterinde farklı dozlarda parasetamol (3.5 mg/kg, 35 mg/kg ve 350 mg/kg) vererek yaptığı çalışmada, gebeliğin 21. gününde sezaryen ile elde ettiği fetüsleri Alizarin Red-S ile boyamış ve stereo-mikroskop altında iskelet anomalilerini analiz etmiştir. Parasetamol ile tedavi edilen gruplarda en sık karşılaşılan anomalinin ossifikasyon yokluğu veya azalması olduğunu bildirmiştir. Ayrıca deney gruplarında anomalili kemiklerin yüzdesinin kontrol grubundakilerden daha yüksek olduğunu da rapor etmiştir. Sunulan çalışmada, ikili iskelet boyama metodu ile boyadığımız kemik dokularında yaptığımız uzunluk ölçümlerine ait değerleri oranladığımızda; kontrol grubu, 50 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg parasetamol gruplarında kemikleşme oranı sırasıyla clavicula'larda %71.80, %73.75, %71.18, %68.41, %57.71; scapula'larda %39.07, %37.50, %35.10, %32.63, %28.64; humerus'larda %44.43, %43.41, %41.30, %39.26, %34.60; radius'larda %46.90, %44.45, %42.60, %37.23, %31.07; ulna'larda %42.51, %42.1, %40.83, %36.43, %33.30; femur'larda %37.73, %36.86, %35.84, %33.73,

%28.92; tibia'larda %37.58, %37.09, %35.74, %32.75, %29.42 ve fibula'larda %37.80, % 38.0, %35.96, %31.79, %29.25 olarak hesaplandı. Bu değerler parasetamolün doza bağlı kemikleşme sergileyen bölgede azalma meydana getirdiğini göstermektedir.

Kırık iyileşme sürecindeki osteogenezis (başlangıçtaki inflamatuvar faz hariç), fetal iskelet oluşumuna benzeyen intramembranöz ve endokondral kemikleşme ile oluşur (139). Her ikisinde de ossifikasyon esnasında genler tarafından kodlanan iki siklooksijenaz formu (COX-1 ve COX-2) vardır (140). Yapılan birçok çalışmada COX aktivitesinin normal kemik iyileşmesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (140, 141). Kemikleşme döneminde COX aktivitesinin inhibe edilmesi, araziidonik asidin PGH<sub>2</sub>'nin öncüsü olan PGG<sub>2</sub>'ye dönüşmesini önleyerek prostaglandin sentezini azaltır. Bu yolla ağrıyı azaltmak için genellikle parasetamolün de aralarında bulunduğu NSAİİ'lere ihtiyaç duyulur. Bu bilgilere dayanarak kırık sonrası uygulanan COX inhibitörlerinin kemik iyileşmesini geciktirebileceği dolayısıyla da parasetamol kullanımının sınırlandırılması gerektiği düşünülmektedir (142). Simon et al. (57), 6-9 aylık 253 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan ile yaptıkları 8 hafta süren çalışmalarında; kırık meydana gelmeden 2 gün önce gavaj yoluyla COX inhibitörleri ile tedavi edilmeye başlanan sıçanlarda kırık iyileşmesinin geciktiğini bildirmişlerdir. Giannoudis et al. (143) ise femur shaft kırığını intramedüller çivi ile tedavi ettikleri 377 hasta ile yaklaşık 6 yıl süren çalışmalarında, insanlarda kırık iyileşmesi esnasında kullanılan yüksek doz NSAİİ'lerin kemikleşmenin gecikmesinden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Bununla birlikte Fracon et al. (144), sıçanlara ketorolak, etoricoxib ve parasetamol tedavisi uygulayarak yaptıkları 2 hafta süren çalışmalarının histolojik incelemesinde; kontrol grubuna ait dokuların alveolar soketinin bağ dokusu ile kapandığını ve alveolar duvarların iç yüzeylerinden meydana gelen osteoblastlarla kaplı hassas bir kemik trabekül ağının oluştuğunu göstermişlerdir. Bu gözleme dayanarak parasetamol ile tedavi edilen sıçanlarda kemik iyileşme sürecinde kontrol grubuna kıyasla fark edilebilir bir azalma olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca histometrik verilere dayanarak, parasetamolün alveolar soket içinde meydana gelen kemik trabeküllerinin hacim fraksiyonunu önemli ölçüde etkilemediğini iddia etmişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda immünohistokimyasal analiz ile elde ettiğimiz verilere göre, kemik oluşumunun belirleyicilerinden ALP immünoreaktivite yoğunluğu; kontrol grubunda 89.589, 50 mg/kg parasetamol grubunda 88.885 ve 500 mg/kg parasetamol grubunda 87.354 olarak belirlendi. Ayrıca TRAP immünoreaktivite yoğunluğu ise kontrol

grubunda 76.043, 50 mg/kg parasetamol grubunda 71.086 ve 500 mg/kg parasetamol grubunda ise 64.739 olarak belirlendi. Yapılan çalışmalar TRAP'nin kemiklerde büyüme plakası ve metafiz gelişimi için kritik öneme sahip olduğunu; eksikliğin uzun kemiklerde kısaltmaya neden olduğunu göstermektedir (145, 146).

Momma ve Takeuchi (147), Wistar cinsi sıçanların fetüslerinde parasetamolün duktus arteriosus üzerine olası etkilerini test etmek için yaptıkları çalışmada, sıçanlara gebeliklerinin 21. gününe kadar gavaj yoluyla parasetamol uygulamışlardır. Sezaryen ile çıkardıkları ve ağırlığı 5,5 gramdan fazla olan fetüsleri -80°C'de asetonda hemen dondurup göğüs kafeslerini açarak a. pulmonalis'in ve duktus arteriosus'un iç çaplarının ölçümünü gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada parasetamolün doza bağımlı bir şekilde ductus arteriosus'ta daralmaya neden olduğu gösterilmiş ve duktal daralmanın olası mekanizmasının prostaglandin sentetaz inhibisyonu nedeniyle olabileceği rapor edilmiştir.

Momma et al. (148), 1990 yılında Wistar cinsi sıçanlara gebeliklerinin 21. günü verilen parasetamolün kardiovasküler sistem üzerine olası etkisini analiz ettikleri çalışmalarında; parasetamolün duktus arteriosus'un iç çapında daralmaya, ventriküllerin hacminde artışa ve kalp yetmezliğine neden olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada; farelere gebeliklerinin 6. ve 13. günleri arasında yapılan parasetamol uygulamasına bağlı herhangi bir malformasyon olmaksızın, fetal fare karaciğerinde glutatyon konsantrasyonunun azaldığı rapor edilmiştir (149).

Yapılan in vitro çalışmalar, parasetamolün fare embriyolarında düşük seviyeli morfolojik değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (150, 151). Sıçan embriyo kültürü çalışmalarında, kültür ortamına 50 mg/l parasetamol eklendiğinde malformasyonlar gözlenmiştir. Parasetamol intra-amniyotik enjeksiyonla uygulandığında ise anterior nöroporların anormal kapanması gibi nöral defektlerin arttığı bildirilmiştir (152). Weeks et al. (153) sıçan embriyolarının kültür ortamına parasetamol ekleyerek yaptıkları çalışmalarında; embriyo toksisitesinin embriyoların parasetamol ile direk maruziyetinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Osteokalsin, kemik matriksini oluşturan proteinlerden biri olup, ossifikasyon esnasında osteoblastlar tarafından sentezlenir. Osteokalsinin kan dolaşımına katılan miktarı bize kemik yapımını yansıtmaktadır (154). Diaz-Rodriguez et al. (155), kültür ortamına 25 µmol/L parasetamol ilave ederek yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında; osteokalsini parasetamolün hücre farklılaşması üzerindeki etkisini belirlemek için belirteç olarak

kullanmışlardır. 24 saat sonra parasetamol eklenen kültür ortamında osteokalsin sentezinin önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir ( $P < 0.05$ ). Parasetamol eklenmiş grupta ortalama  $0.50 \text{ pg/mL} \times 10^4$  hücre bulunurken tedavi edilmemiş olan kontrol grubunda ise  $2.60 \text{ pg/mL} \times 10^4$  hücre bulunduğu bildirilmiştir. MG63 insan hücre hattı ile yaptıkları çalışmada ise parasetamolün osteokalsin sentezini, antijenik profili ve fagositik aktiviteyi etkilediğini göstermişlerdir. Osteokalsin sentezinin, hücre farklılaşması sırasında daha düşük olduğunu ve bu ilacın proliferatif kapasiteyi azaltmakla kalmayıp aynı zamanda osteoblastik farklılaşmayı da önleyebileceğini rapor etmişlerdir. Bu verilere dayanarak, parasetamolün osteoblastların çeşitli fizyolojik parametrelerini değiştirerek kemik dokusu üzerinde bir etkiye sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Parasetamol tedavisinin antijenik profili üzerinde benzer bir etki gösterdiğini Stanley et al. (156) yaptıkları in vitro ve in vivo çalışmalarında rapor etmişlerdir. Bu etkiyi, osteoblastların proinflamatuvar durumlara tepkisi olarak açıklamaktadırlar. Burada immünite aktivitelerinin kemik oluşturma ve olgunlaşma sürecini olumsuz etkilediği ve buna bağlı olarak osteokalsin sentezinde bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak, ikili iskelet boyama metoduyla ve immünohistokimyasal analiz ile elde ettiğimiz veriler doz artışına bağlı olarak parasetamolün kemikleşme üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu göstermektedir. Parasetamolün insan fetüslerindeki kemikleşme üzerine olumsuz etkilerinin olup olmadığını gösteren daha detaylı çalışmalar yapılana kadar gebe kadınların mecbur kalmadıkça uzun süreli parasetamol kullanımından kaçınmaları veya doz sınırlaması yapmaları gerektiğini düşünmekteyiz. Parasetamolün gebelik süresince kullanımının kemikleşmeyi olumsuz etkilediğini gösterdiğimiz çalışmamızın ileriki aşamalarında; parasetamolün kemikleşmeyi daha çok hangi trimester döneminde etkilediğini belirleyebilmek için ayrıntılı bir çalışma yapmayı planlamaktayız.

## 6. KAYNAKLAR

1. Karabulut AK, 'In Vitro Embriyo Kültürü ve Uygulama Alanları', XVIII. Gevher Nesibe Tıp Günleri III. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi ve 'Workshop'u, Kongre Kitabı, s 16-24, 18-20 Mayıs 2000, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
2. Gregg NM. Congenital Cataract Following German Measles in Mothers. Trans Ophthalmol Soc Aust 1941; 3: 35-45.
3. Moore KL. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology (4th ed), WB Saunders Co, London, 1988: 20-30.
4. Lipman H. Staining the skeleton of cleared embryos with alizarin red-S. Stain Technol 1935; 10: 61-63.
5. Claudio L, Bearer CF, Wallinga D. Assessment of the U.S. environmental protection agency methods for identification of hazards to developing organisms, Part II: The developmental toxicity testing guideline. Am J Ind Med 1999; 35(6): 554-563.
6. Sunay FB. İkili İskelet Boyamaları. Uludağ Üniv Tıp Fak Derg 2005; 31: 119-126.
7. Yalman A, Aydın R, Sindel D ve ark. Gebelikte Bel Ağrısı ve Nedenleri. Jinekolojik ve Obstetrik 1993; 7: 175-179.
8. Şavlı E. Paracetamol use in pregnancy, Review. J Exp Clin Med 2012; 29: 91-94.
9. Dharmage SC, Allen KJ. Does regular paracetamol ingestion increase the risk of developing asthma? Clin Exp Allergy 2011; 41(4): 459-460.
10. Robson S. Pain relief in pregnancy. O&G Magazine 2011; 13: 1-5.
11. Wilkes JM, Clark LE, Herrera JL. Acetaminophen overdose in pregnancy. South Med J 2005; 98(11): 1118-1122.
12. Rebordosa C, Kogevinas M, Bech BH, et al. Use of acetaminophen during pregnancy and risk of adverse pregnancy outcomes. Int J Epidemiol 2009; 38(3): 706-714.
13. Williams LJ, Pasco JA, Henry MJ, et al. Paracetamol (acetaminophen) use, fracture and bone mineral density. Bone 2011; 48(6): 1277-1281.
14. Vestergaard P, Hermann P, Jensen JE, et al. Effects of paracetamol, non-steroidal anti-inflammatory drugs, acetylsalicylic acid, and opioids on bone mineral density

- and risk of fracture: results of the Danish Osteoporosis Prevention Study (DOPS). *Osteoporos Int* 2012; 23(4): 1255-1265.
15. García-Martínez O, Díaz-Rodríguez L, Rodríguez-Pérez L, et al. Effect of acetaminophen, ibuprofen and methylprednisolone on different parameters of human osteoblast-like cells. *Arch Oral Biol* 2011; 56(4): 317-323.
  16. Morse HN. Ueber eine neue Darstellengsmethode der Acetylamidophenole. *Ber. Deutscher. Chem. Ges* 1978; 11(1): 232-233.
  17. Von Mering J. Beitrage zur Kenntniss der Antipyretica. *Ter Monatsch* 1893; 7: 577-587.
  18. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, et al. Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Rev* 2006; 12: 250-275.
  19. Committee on Infectious Disease AAoP. Aspirin and Reye's syndrome. *Pediatrics* 1982; 69(6): 810.
  20. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanalide in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1948; 94(1): 29-38.
  21. Boyland E, Chasseaud LF. The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1969; 32: 173-219.
  22. Karakuş O, İlkaya F, Yılmaz MZ. Parasetamol ve siklooksijenaz enzim inhibisyonu. *J Exp Clin Med* 2013; 30(1): 9-14.
  23. Tablov B, Popov I, Tablov V, et al. Administration of Perfalgan (paracetamol) for postoperative analgesia in obstetrics and gynaecology. *Akush Ginekol (Sofiiia)* 2005; 44(7): 50-54.
  24. Slattery JT, Levy G. Pharmacokinetic model of acetaminophen elimination. *Am J Hosp Pharm* 1979; 36: 440.
  25. Lee WM. Acetaminophen and the U.S. Acute liver failure study group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology* 2004; 40(1): 6-9.
  26. Verschueren K. Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals (3rd ed), Van Nostrand Reinhold Co, New York, 1996: 1440-1444.
  27. Alfio B, Anna F, Alessandra O, et al. Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Rev* 2006; 12: 250-275.
  28. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (12. Baskı), Pelikan Tıp ve Teknik Yayıncılık, Ankara, 2009: 849-850.

29. Prescott LF. Kinetics and metabolism of Paracetamol and Phenacetin. *Br J Clin Pharmac* 1980; 10(2): 291-298.
30. Graham G, Hicks M. Pharmacokinetics and metabolism of paracetamol, In: Aspirin and related drugs. Rainsford KD (Edt). Taylor & Francis, London, 2004: p 181-215.
31. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in Pharm Sci* 2003; 24(4): 154-157.
32. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Crit Rev Toxicol* 2001; 31(1): 55-138.
33. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, et al. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in 74 mice. *Exp Toxicol Pathol* 2007; 59(2): 121-128.
34. Özçelik E, Uslu S. Kitosan ve Blueberrynin Asetaminofen Aracılı Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir 2012: 17.
35. Botting RM. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clin Infect Dis* 2000; 31(5): 202-210.
36. Carlsson KH, Monzel W, Jurna I. Depression by morphine and the non-opioid analgesic agents metamizol (dipyrone), lysine acetylsalicylate, and paracetamol of activity in rat thalamusneurons evoked by electrical stimulation of nociceptive afferents. *Pain* 1988; 32(3): 313-326.
37. Page J, Henry D. Consumption of NSAIDs and the development of congestive heart failure in elderly patients: an underrecognized public health problem. *Arch Intern Med* 2000; 160(6): 777-784.
38. Clissold SP. Paracetamol and Phenacetin. *Drugs* 1986; 32(4): 46-59.
39. Kayaalp SO, Melli M. Non-steroidal Antiinflatuar İlaçlar, In: Tıbbi Farmakoloji, (10. Baskı), Kayaalp SO (Edt), Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti, Ankara, 2000: p 1039-1042.
40. Potter DW, Hinson JA. Mechanisms of acetaminophen oxidation to N-Acetyl-Pbenzoquinone imine by horseradish P eroxidase and cytochrome P-450. *J Biol Chem* 1987; 262(3): 966-973.

41. Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR. Mechanism of action of N-acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo. *J Clin Invest* 1983; 71(4): 980-991.
42. Ranganathan SS, Sathiadas MG, Sumanesana S, et al. Fulminant hepatic failure paracetamol overuse with therapeutic intent in febrile children. *Indian J Pediatr* 2006; 73(10): 871-875.
43. Bosch ME, Sanchez AJR, Rojas FS, et al. Determination of Paracetamol Historical Evolution. *J Pharm Biomed Anal* 2006; 42(3): 291-321.
44. Hendrickson R, Bizovi KE. Chapter 34: Acetaminophen, In: Goldfrank's Toxicology Emergencies (8th ed), McGraw-Hill Professional Publishing, New York, 2006: p 523-543.
45. Swierkosz TA, Jordan L, McBride M, et al. Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Med Sci Monit* 2002; 8(12): 496-503.
46. Bhattacharya SK, Rao PJ, Das GG. Effect of centrally administered prostaglandin D2 and some prostaglandin synthesis inhibitors on carrageenan-induced paw oedema in rats. *J Pharm Pharmacol* 1989; 41(8): 569-571.
47. Muth-Selbach US, Tegeder I, Brune K, et al. Acetaminophen inhibits spinal prostaglandin E2 release after peripheral noxious stimulation. *Anesthesiology* 1999; 91(1): 231-239.
48. Boardman PL, Hart FD. Clinical measurement of the antiinflammatory effects of salicylates in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1967; 4: 264-268.
49. Ayoub SS, Colville-Nash PR, Willoughby DA, et al. The involvement of a cyclooxygenase 1 gene-derived protein in the antinociceptive action of paracetamol in mice. *Eur J Pharmacol* 2006; 538(1-3): 57-65.
50. Bujalska M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on antinociceptive action of different doses of acetaminophen. *Pol J Pharmacol* 2004; 56(5): 605-610.
51. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenase: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J* 2004; 18(7): 790-804.
52. Björkman R, Hallman KM, Hedner J, et al. Acetaminophen blocks spinal hyperalgesia induced by NMDA and substance P. *Pain* 1994; 57(3): 259-264.
53. Raffa RB, Walker EA, Sterious SN. Opioid receptors and acetaminophen (paracetamol). *Eur J Pharmacol* 2004; 503(1-3): 209-210.

54. Roca-Vinardell A, Ortega-Alvaro A, Gibert-Rahola J, et al. The role of 5-HT<sub>1A/B</sub> autoreceptors in the antinociceptive effect of systemic administration of acetaminophen. *Anesthesiology* 2003; 98(3): 741-747.
55. Bergenstock M, Min W, Simon AM, et al. A comparison between the effects of acetaminophen and celecoxib on bone fracture healing in rats. *J Orthop Trauma* 2005; 19(10): 717-723.
56. Head JE, Bryant BJ, Grills BL, et al. Effects of Short-term Use of Ibuprofen or Acetaminophen on Bone Resorption in Healthy Men: A Double-blind, Placebo-controlled Pilot Study. *Bone* 2001; 29(5): 437-441.
57. Simon AM, Monigrosso MB, O'Connor JP. Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *J Bone Miner Res* 2002; 17(6): 963-976.
58. Sirtori C, Kuhlmann J, Tillement JP, et al. *Clinical Pharmacology*. Companies, Italy, 2000: 862-871.
59. Ulger H, Pratten MK. The effect of VEGF on embryonic development and yolk sac vascularisation. *J Anat* 1996; 189(1): 239-243.
60. Yurdoğlu C, Türker E, Örsel S. Hamilelikte görülen Ortopedik problemler. *Acta Ortop Traumatol Turc* 1997; 31: 34-36.
61. Scialli AR, Ang R, Breitmeyer J, et al. A review of the literature on the effects of acetaminophen on pregnancy outcome. *Reprod Toxicol* 2010; 30(4): 495-507.
62. Evers S, Weatherall M, Jefferies S, et al. Paracetamol in pregnancy and the risk of wheezing in offspring: A systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy* 2011; 41(4): 482-489.
63. Henderson AJ, Shaheen SO. Acetaminophen and asthma. *Paediatr Respir Rev* 2013; 14(1): 9-15.
64. Insel PA. Analgesic-Antipyretics and Antiinflammatory Against: Drugs Employed in the treatment of rheumatoid arthritis and Gout, In: Goodman-Gilman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P (Edt), *Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutucis* (8th ed), Pergamon Press Ltd, United Kingdom, 1990: p 656-659.
65. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *Am J Ther* 2005; 12(1): 46-55.
66. Kelly DJ, Ahmad M, Brull SJ. Preemptive analgesia I: physiological pathways and pharmacological modalities. *Can J Anaesth* 2001; 48(10): 1000-1010.

67. Küçük E, Yavuz Y. Parasetamol toksisitesi ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda caffeic acid phenethyl esterin tedavi edici etkisi. Uzmanlık Tezi, Afyon Kocatepe Univ. Tıp Fakültesi, Afyon 2009: 22-29.
68. Prescott Laurie F. Paracetamol: past, present and future. *Am J Ther* 2000; 7(2): 143-47.
69. Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *J Med Toxicol* 2008; 4(1): 2-6.
70. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji (2. Baskı), Medisan Yayınevi, Ankara, 2002: 191-230.
71. Price VF, Miller MG, Jollow DJ. Mechanisms of Fasting-Induced Potentiation of Acetaminofen Hepatotoxicity in the Rat. *Biochem Pharmacol* 1987; 36(4): 427-433.
72. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos* 2003; 31(12): 1499-1506.
73. Ronco PM, Flahaut A. Drug-induced end-stage renal disease. *N Engl J Med* 1994; 331: 1711-1712.
74. Blakely P, McDonald BR. Acute Renal Failure due to Acetaminophen Ingestion: A Case Report and Review of the Literature. *J Am Soc of Nephrol* 1995; 6(1): 48-53.
75. Junqueira CL, Carneiro J. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitapevleri (Çeviri: Aytekin Y, Solakoğlu S), İstanbul 2006: 141-151.
76. Özdamar S, Yakan B, Kutlubay R. Genel Histoloji, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Kayseri, 2000: 47-74.
77. Hobar P. Implantation: bone, cartilage and allografts. *Selected Readings Plast Surg* 1992; 7: 1-2.
78. Topaloğlu U, Ketani MA, Saruhan BG. Kemik Doku ve Kemikleşme Çeşitleri. *Dicle Univ Vet Fak Derg* 2017; 10(1): 62-71.
79. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, et al. Bone biology. I : Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *Instr Course Lect* 1996; 45: 371-386.
80. Schenk RK. Biology of fracture repair, In: *Skeletal Trauma* (3rd ed), Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG (Eds), Saunders Co, Philadelphia, 2003: p 29-73.
81. Brinker MR. Bone, In: *Review of orthopaedics* (3rd ed), Miller MD (Edt), WB Saunders, Philadelphia, 2000: p 1-39.
82. Tunçay Ekin Ö. Biyomimetik Yöntemle Bor Katkılı Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Kemik Doku Mühendisliğindeki Etkinliklerinin Araştırılması,

- Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2013: 4-7.
83. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology. Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Demir R, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006: 118-145.
  84. Hing KA. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? Philos Trans A Math Phys Eng Sci 2004; 362(1825): 2821-2850.
  85. Aydın B K. Pentoksifilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1.Ortopedi ve Travmatoloji, İstanbul 2007: 45-54.
  86. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology (2nd ed), WB Saunders Company, Philadelphia, 2001: 134-154.
  87. Soydan N. Genel Histoloji. İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul, 1985: 100-109.
  88. Paker M, Özmen E, Taşdemir Ö, et al. Factors Related to Long-term Traumatic Stress Responses in Survivors of Torture in Turkey. JAMA 1994; 272(5): 357-363.
  89. Junqueira LC, Carnerio J. Basic Histology (10th ed), McGraw-Hill, Chapter 8. New York, 2003: 144-146.
  90. Sweeney TM, Opperman LA, Persing JA, et al. Repair of critical size defects using extracellular matrix protein gels. J Neurosurg 1995; 83(4): 710-715.
  91. Aubin JE. Advances in the osteoblast lineage. Biochem Cell Biol 1998; 76(6): 899-910.
  92. Gehron-Robey P. The biochemistry of bone in osteoporosis, In: Principles of Bone Biology, Bilezikian JP (Edt), Raisz LG, Rodan GA. CA: Academic Pres, San Diego, 1996: p 74-78.
  93. Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques (4th Ed), Chapter 15, Churchill Livingstone, New York, 1996: 309-339.
  94. Fujikawa Y, Quinn JM, Sabokbar A, et al. The human osteoclast precursor circulates in the monocyte fraction. Endocrinology 1996; 137(9): 4058-4060.
  95. Teitelbaum SL. Osteoclasts, integrins and osteoporosis. J Bone Miner Metab 2000; 18(6): 344-349.
  96. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, et al. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11(1): 47-51.

97. Junqueira CL, Carnerio J, Kelley RO. Bone, In: Basic Histology (8th ed), Appleton & Lange, New Jersey, 1995: p 132-151.
98. Miller MD. Review of Orthopaedics, In: Bone. Saunders, Philadelphia, 1996: p 1-22.
99. Meade JB, Cowin SC, Klawitter JJ, et al. Bone remodeling do to continuously applied loads. *Calcif Tissue Int* 1984; 36: 25-30.
100. Yang YQ, Tan YY, Wong R, et al. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Ossification. *Int J Oral Sci* 2012; 4(2): 64-68.
101. Rodan GA. Introduction to bone biology. *Bone* 1992; 13: 3-6.
102. Zhang X, Siclari VA, Lan S, et al. The Critical Role of the Epidermal Growth Factor Receptor in Endochondral Ossification. *J Bone Miner Res* 2011; 26(11): 2622-2633.
103. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji, Solakoğlu S, Aytekin Y (Çeviri Editörü), Barış Kitapçılık, İstanbul, 1998: 124-150.
104. Karsenty G, Wagner EF. Reaching a Genetic and Molecular Understanding of Skeletal Development. *Dev Cell* 2002; 2(4): 389-406.
105. Silver FH, Glasgold AI. Cartilage wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am* 1995; 28(5): 847-864.
106. Stevens A, Lowe J (Edt). Support cells and axtracellular matrix, In: Histology. Gower Medical Publishers, London, 1992: p 42-56.
107. Ankermann U, Quick PD. Fizyoloji, Alican İ. (Çeviri Editörü), İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2006: 498-505.
108. Bornstein P, Sage H. Structurally distinct collagen types. *Annu Rev Biochem* 1980; 49: 957-1003.
109. Evans EJ, Benjamin M, Pemberton DJ. Fibrocartilage in the attachment zones of the quadriceps tendon and patellar ligament of man. *J Anat* 1990; 171: 155-162.
110. Ohlsen L, Vedung S. Reconstructing the antihelix of protruding ears by perichondrioplasty: A modified technique. *Plast Reconstr Surg* 1980; 65(6): 753-762.
111. Hosokawa K, Hata Y, Yano K, et al. Inhibitory effect of mature cartilage on perichondrial neochondrogenesis. *Ann Plast Surg* 1989; 23(2): 155-158.
112. Engkvist O, Ohlsen L. Reconstruction of articular cartilage with free autologous perichondrial grafts. An experimental study in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1979; 13(2): 269-274.

113. Eşrefoğlu M. Genel Histoloji, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd Şti, Malatya, 2009: 159-187.
114. Newman A. Articular cartilage repair. *Am J Sports Med* 1998; 26: 309-324.
115. Soysal H, Unur E, Düzler A, et al. Effects of intraperitoneal administration of the phenytoin on the skeletal system of rat fetus. *Seizure* 2011; 20(3): 187-193.
116. Sharp PE, Regina MCL. *The Laboratory Rat*. CRC Pres LLC, Boca Raton, 1988: 10-52.
117. Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat*. Bio Med Verlag, Wörthsee, 1986: 9-21.
118. Öztürk M. Sıçan ön ekstremitesine ait kemiklerin gelişimi esnasında ortaya çıkan kemik ve kırıldak alanların ikili boyama yöntemi ile tespiti ve stereolojik yöntemle oranlarının hesaplanması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2014: 42-60.
119. Chiba K, Rahman ME, Ishikawa H, et al. The Timing of Appearance of Ossification Centers of Carpal and Tarsal Bones in Mouse Newborns. *Congenital Anomalies* 1995; 35(2): 189-197.
120. Inouye M. Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian blue and Alizarin red S. *Cong Anom* 1976; 16: 171-173.
121. Demir R (Edt), Yılmaz S, Öztürk M, Üstünel İ, Demir N, Korgun ET, Akkoyunlu G. *Histolojik Boyama Teknikleri*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2001: 227-285.
122. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Exp Biol Med* 1941; 47: 200-202.
123. Hsu S, Raine L, Fanger H. A Comparative Study of the Peroxidase-antiperoxidase Method and an Avidin-Biotin Complex Method for Studying Polypeptide Hormones with Radioimmunoassay Antibodies. *A J Clin Pathol* 1981; 75(5): 734-738.
124. Lubawy WC, Garrett RJ. Effects of aspirin and acetaminophen on fetal and placental growth in rats. *J Pharm Sci* 1977; 66(1): 111-113.
125. Neto JA, Oliveira-Filho RM, Simões MJ, et al. Long-term acetaminophen (paracetamol) treatment causes liver and kidney ultra-structural changes during rat pregnancy. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2004; 31(3): 221-224.
126. Olude MA, Olopade JO, Akinloye AK, et al. Macro-anatomical investigations of the skeletons of the African giant rat (*Cricetomys gambianus* Waterhouse): Pelvic limb. *Eur J Anat* 2009; 13(3): 127-131.

127. Deligönül E. Sıçan Testis Dokusunda Sisplatin İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2016; 33-40.
128. Burdan F, Rozylo-Kalinowska I, Katarzyna Rozylo T, et al. A new rapid radiological procedure for routine teratological use in bone ossification assessment: a supplement for staining methods. *Teratology* 2002; 66(6): 315-25.
129. Lupattelli A, Spigset O, Twigg MJ et al. Medication use in pregnancy: a cross-sectional, multinational web-based study. *BMJ Open* 2014; 17: 43-65.
130. Aselton P, Jick H, Mihmsky A, et al. First trimester drug use and congenital disorders. *Obstet Gynecol* 1985; 65(4): 451-455.
131. Holm JB, Chalmey C, Modick H, et al. Aniline Is Rapidly Converted Into Paracetamol Impairing Male Reproductive Development. *Toxicol Sci* 2015;148(1): 288-298.
132. Reel JR, Lawton AD, Lamb JCI. Reproductive toxicity evaluation of acetaminophen in Swiss CD-1 mice using a continuous breeding protocol. *Fundam Appl Toxicol* 1992; 18(2): 223-239.
133. Eldon M, Boyd MD. Testicular atrophy from analgesic drugs. *J Clin Pharmacol* 1970; 10(4): 222-227.
134. Viberg H, Eriksson P, Gordh T, et al. Paracetamol (acetaminophen) administration during neonatal brain development affects cognitive function and alters its analgesic and anxiolytic response in adult male mice. *Toxicol Sci* 2014; 138(1): 139-147.
135. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, et al. High Hepatotoxic Dose Of Paracetamol Produces Generalized Convulsions And Brain Damage In Rats. A Counteraction With The Stable Gastric Pentadecapeptide Bpc 157 (Pl 14736). *J Physiol Pharmacol* 2010; 61(2): 241-250.
136. Wyskiel M. Influence of acetyl salicylic acid and paracetamol on embryonal and fetal Wistar rat development. PhD Thesis, Medical University of Lublin, Lublin 1998: 40-54.
137. Burdan F. Intrauterine growth retardation and lack of teratogenic effects of prenatal exposure to the combination of paracetamol and caffeine in Wistar rats. *Reprod Toxicol* 2003; 17(1): 51-58.

138. Burdan F. Evaluation of bone formation in fetal skeletons following prenatal paracetamol administration in single alizarin-stained specimens in Wistar rats. *Folia Morphol* 2000; 59(3): 167-171.
139. Ferguson C, Alpern E, Miclau T, et al. Does adult fracture repair recapitulate embryonic skeletal formation? *Mech Dev* 1999; 87: 57-66.
140. O'Banion MK, Winn VD, Young DA. cDNA cloning and functional activity of a glucocorticoid-regulated inflammatory cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(11): 4888-4892.
141. Dekel S, Lenthall G, Francis MJO. Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture. *J Bone Joint Surg Am* 1981; 63: 185-189.
142. Raskin JB. Gastrointestinal effects of nonsteroidal antiinflammatory therapy. *Am J Med* 1999; 106(5): 3-12.
143. Giannoudis PV, MacDonald DA, Matthews SJ, et al. Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82(5): 655-658.
144. Fracon RN, Teofilo JM, Moris IC, et al. Treatment with paracetamol, ketorolacoretoricoxib did not hinder alveolar bone healing: a histometric study in rats. *J Appl Oral Sci* 2010; 18(6): 630-634.
145. Hayman AR. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cell dichotomy. *Autoimmunity* 2008; 41(3): 218-223.
146. Blumer MJ, Hausott B, Schwarzer C, et al. Role of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) in long bone development. *Mech Dev* 2012; 129(5-8): 162-176.
147. Momma K, Takeuchi H. Constriction of fetal ductus arteriosus by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Prostaglandins* 1983; 26(4): 631-43.
148. Momma K, Takao A. Transplacental cardiovascular effects of four popular analgesics in rats. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162(5): 1304-1310.
149. Lambert GH, Thorgeirsson SS. Glutathione in the developing Mouse liver. I. Developmental curve and depletion after acetaminophen treatment. *Biochem Pharmacol* 1976; 25(15): 1777-1781.
150. Lyng RD. Test of six chemicals for the embryotoxicity using foetal Mouse glands in culture. *Teratology* 1989; 39(6): 591-599.
151. Patierno SR, Lehman NL, Henderson BE, et al. Study of the ability of phenacetin, acetaminophen, and aspirin to induce toxicity, mutation, and morphological

- transformation in c3h/10t1/2 clone 8 mouse embryo cells. *Cancer Res* 1989; 49(4): 1038-1044.
152. Stark KL, Harris C, Juchau MR. Modulation of the embryotoxicity and cytotoxicity elicited by 7-hydroxy-2-acetylaminofluorene and acetaminophen via deacetylation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989; 97(3): 548-560.
153. Weeks BS, Gamache P, Klein NW, et al. Acetaminophen Toxicity to Cultured Rat Embryos. *Teratog Carcinog Mutagen* 1990; 10(5): 361-371.
154. Power MJ, Fottrell PF. Osteocalcin: Diagnostic methods and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1991; 28(4): 287-335.
155. Diaz-Rodriguez L, Garcia-Martinez O, Arroyo-Morales M, et al. Effect of acetaminophen (paracetamol) on human osteosarcoma cell line MG63. *Acta Pharmacol Sin* 2010; 31(11): 1495-1499.
156. Stanley KT, VanDort C, Motyl C, et al. Immunocompetent properties of human osteoblasts: interactions with T lymphocytes. *J Bone Miner Res* 2006; 21(1): 29-36.
157. Burdan F. Effects of prenatal exposure to combination of acetaminophen, isopropylantipyrine and caffeine on intrauterine development in rats. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21(1): 25-31.



T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(EÜHADYEK)



Tarih: 16.11.2016

Toplantı Sayısı: 10

Karar No:16/145

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 16.11.2016 tarihinde  
Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA'nın başkanlığında toplanmıştır.

| Üye Adı/Soyadı        | Ünvanı                             | Bölümü                                          | İmza      |
|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------|
| Fahri OĞUZKAYA        | Prof. Dr.                          | Tıp Fakültesi                                   |           |
| Coşkun TEZ            | Prof. Dr.                          | Fen Fakültesi                                   |           |
| Gültekin ATALAN       | Prof. Dr.                          | Veteriner Fakültesi                             | KATILMADI |
| Fusun Ferda ERDOĞAN   | Prof. Dr.                          | Tıp Fakültesi                                   | KATILMADI |
| Serpil SARIOZKAN      | Prof. Dr.                          | Veteriner Fakültesi                             |           |
| Ahmet ÖZTÜRK          | Doç. Dr.                           | Tıp Fakültesi                                   |           |
| Zühal HAMURCU         | Doç. Dr.                           | Tıp Fakültesi                                   |           |
| M. Betül AYCAN        | Doç. Dr.                           | Eczacılık Fakültesi                             |           |
| Nükhet KÜTÜK          | Doç. Dr.                           | Diş Hekimliği Fakültesi                         |           |
| Çağrı Çağlar SİNMEZ   | Yard.Doç. Dr.                      | Veteriner Fakültesi                             |           |
| Hamiyet ÜNAL          | Yard.Doç. Dr.                      | Eczacılık Fakültesi                             | KATILMADI |
| Osman İBİŞ            | Yard.Doç. Dr.                      | Ziraat Fakültesi                                |           |
| Zeynep SOYER SARICA   | Dr.                                | Deneyisel Araştırmalar<br>Uygulama ve Arş.Mrkz. |           |
| Serap ALTUNTAŞ EROĞLU | Avukat                             | Kurumla İlişkisi<br>Olmayan Üye                 | KATILMADI |
| Asiye GÖKBELEN        | Yardım Sevenler<br>Derneği Başkanı | Sivil Toplum Kuruluşu<br>Temsilcisi             | KATILMADI |

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi A.D.'dan Doç. Dr. Tolga ERTEKİN tarafından sunulan "Parasetamol'ün Fetal Kemik Gelişimi Üzerine Olası Teratojenik Etkilerinin Araştırılması." başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 16.11.2016

Etik kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA

İmza :

# PARASETAMOLÜN FETAL KEMİK GELİŞİMİ ÜZERİNE OLASI TERATOJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

## ORJİNALLİK RAPORU

|                   |                     |             |                  |
|-------------------|---------------------|-------------|------------------|
| % <b>14</b>       | % <b>9</b>          | % <b>10</b> | %                |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR    | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

## BİRİNCİL KAYNAKLAR

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
|    | <a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | % <b>1</b> |
|   | Rincón-Cervera, Miguel Ángel, Rodrigo Valenzuela, María Catalina Hernandez-Rodas, Cynthia Barrera, Alejandra Espinosa, Macarena Marambio, and Alfonso Valenzuela. "Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats", Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA), 2016.<br>Yayın | % <b>1</b> |
|  | <a href="http://earsiv.atauni.edu.tr">earsiv.atauni.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | % <b>1</b> |
|  | <a href="http://dergi.omu.edu.tr">dergi.omu.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | % <b>1</b> |
|  | YILDIRIM, Yusuf, ÖLÇÜCÜ, Onur, BAŞCI, Abdurrahman, AĞCA, Alper, ÖZGÜRHAN,                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | % <b>1</b> |

## ÖZ GEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı, Soyadı:** İlyas UÇAR

**Uyruğu:** Türkiye (TC)

**Doğum Tarihi ve Yeri:** 03 Eylül 1984, İncesu/Kayseri

**Medeni Durumu:** Evli

**Tel:** +90 544 203 67 11

**email:** [fzt.iducar@hotmail.com](mailto:fzt.iducar@hotmail.com)

**Yazışma Adresi:** Yenidoğan Mah. Ertuğrul Gazi Cad. Defne Sk. Çamlıca Apt. Kat:12,  
Daire:23 Talas/KAYSERİ

### EĞİTİM

| Derece        | Kurum                                     | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|-------------------------------------------|------------------|
| Doktora       | EÜ Sağlık Bilimler Enstitüsü/ Tıp Anatomi | 2018             |
| Yüksek Lisans | EÜ Sağlık Bilimler Enstitüsü/ Tıp Anatomi | 2014             |
| Lisans        | AİBÜ/ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon YO   | 2007             |

### İŞ DENEYİMLERİ

| Yıl         | Kurum                      | Görev               |
|-------------|----------------------------|---------------------|
| 2015- Halen | Ahi Evran Üniversitesi     | Öğretim Görevlisi   |
| 2014-2015   | Karabük Üniversitesi       | Araştırma Görevlisi |
| 2010-2014   | Acıbadem Kayseri Hastanesi | Fizyoterapist       |
| 2009-2010   | Kayseri Asker Hastanesi    | Sağlık Asteğmen     |
| 2007-2009   | Kapadokya Hastanesi        | Fizyoterapist       |

### YABANCI DİL

İngilizce

### YAYINLAR

#### 1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

**Uçar I**, Ertekin T, Nisari M, Ceylan D, Al Ö, Ülger H. The potential teratogenic effects of interferon beta-1a (IFN $\beta$ -1a) and interferon beta-1b (IFN $\beta$ -1b) on in vitro embryonic development. Folia Morphol (Warsz) 2016; 75(2): 257-263.

Ozmen T, Gunes GY, **Ucar I**, Dogan H, Gafuroglu TU. Effect of respiratory muscle training on pulmonary function and aerobic endurance in soccer players. J Sports Med Phys Fitness 2016; 57(5): 507-13.

Ozmen T, Yagmur Gunes G, Dogan H, **Ucar I**, Willems M. The effect of kinesio taping versus stretching techniques on muscle soreness, and flexibility during recovery from nordic hamstring exercise. J Bodyw Mov Ther 2017; 21(1): 41-47.

Ertekin T, Değermenci M, **Uçar I**, Sağiroğlu A, Atay E, Susar H. The Intracranial and Posterior Cranial Fossa Volumes and Volume Fractions in Children: A Stereological Study. Int J Morphol 2017; 35(3): 1465-1472.

## **2. Projeler**

Görme Engelli Futbolcularda Fiziksel Uygunluğun Değerlendirilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: OZUDOGRU ANIL, Araştırmacı: **UCAR ILYAS**, 23/03/2018 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

Parasetamolün Fetal Kemik Gelişimi Üzerine Olası Teratojenik Etkilerinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Danışman: UNUR ERDOĞAN, Araştırmacı: **UCAR ILYAS**, 12/04/2017 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

Futbolcularda Solunum Kas Eğitiminin Solunum Fonksiyonları ve Aerobik Dayanıklılığa Etkisi, Yüksek Öğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: OZMEN TARIK, Araştırmacı: GUNES GOKCE YAGMUR, Araştırmacı: **UCAR ILYAS**, Araştırmacı: DOĞAN HANİFE, 2014 (ULUSAL)

Interferon Beta 1a ve Interferon Beta 1b'nin Embriyonik Gelişim Üzerine Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Danışman: TOLGA ERTEKİN, Araştırmacı: **UCAR ILYAS**, 2013 (ULUSAL)

## **3. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sözel Olarak Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler**

**Uçar İ**, Değermenci M, Yılmaz S, Yay A, Yalçın B, Unur E. Possible teratogenic effect of paracetamol on the development of rat's lower extremity bone. 19th National Anatomy Congress and 1<sup>st</sup> International Mediterranean Anatomy Congress. September 6-9, 2018, Konya, Turkey.

Değermenci M, **Uçar İ**, Yılmaz S, Balcıoğlu E, Önder GÖ, Unur E. The investigation of the teratogenic effect of gabapentin on the development of rat front (upper) extremity bones and femur. 19th National Anatomy Congress and 1<sup>st</sup> International Mediterranean Anatomy Congress. September 6-9, 2018, Konya, Turkey.

Bağcı Uzun G, Değermenci M, **Uçar İ**, Arslan A, Nisari M. Morphometric analysis of acetabulum. 19th National Anatomy Congress and 1<sup>st</sup> International Mediterranean Anatomy Congress. September 6-9, 2018, Konya, Turkey.

**Uçar İ**, Değermenci M, Ertekin T, Yılmaz S, Unur E, Bağcı Uzun G, Tokpınar A. Sella Turcica Volume and Transsphenoidal Distance in Healthy Children. International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology (SANAR2018). May 3-5, 2018, Nevşehir, Turkey.

Değermenci M, **Uçar İ**, Ertekin T, Yılmaz S, Unur E, Bağcı Uzun G. Evaluation of the Sesamoid and Accessory Bones in the Hand and Foot in Healthy People. International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology (SANAR2018). May 3-5, 2018, Nevşehir, Turkey.

Yılmaz S, Patat D, Tokpınar A, **Uçar İ**, Nisari M, Çayan D, Acer N. Comparison of Two Methods for Total Intracranial Volume. International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology (SANAR2018). May 3-5, 2018, Nevşehir, Turkey.

#### **4. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler**

**Uçar İ**, Değermenci M, Ertekin T, Sağıroğlu A, Susar H, Doğanay S. 0-1 yaş arası sağlıklı çocuklarda intracranial hacim. 16. Ulusal Anatomi Kış Toplantısı, 2016.

Değermenci M, **Uçar İ**, Ertekin T, Nisari M, Al Ö, Gümüş KZ. Çocuklarda sinus sphenoidalis hacminin Cavalieri Prensibi ile belirlenmesi. 16. Ulusal Anatomi Kış Toplantısı, 2016.

Ertekin T, Değermenci M, **Uçar İ**, Atay E, Sağıroğlu A, Susar H, Doğanay S. 0-6 yaş arası sağlıklı çocuklarda fossa cranii posterior hacmi. 17. Ulusal Anatomi Kongresi, 2016.

Değermenci M, Ertekin T, **Uçar İ**, Bağcı Uzun G. Çocuklarda Septum Nasi Deviasyonunun Yaşa ve Cinsiyete Göre Belirlenmesi. Anatomi Günleri, Bursa, 2017.

Bağcı Uzun G, Nisari M, Ertekin T, Değermenci M, **Uçar İ**. 8-10 yaş çocuklarda sinus frontalis'in yaşa ve cinse göre belirlenmesi. Anatomi Günleri. Bursa, 2017.

Değermenci M, **Uçar İ**, Ertekin T, Yılmaz S, Unur E, Bağcı Uzun G. Ayaktaki Aksesuar ve Sesamoid Kemiklerin Değerlendirilmesi. 18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, 2017.

**Uçar İ**, Değermenci M, Ertekin T, Yılmaz S, UNUR E, Bağcı Uzun G. 10-18 Yaş Arası Sağlıklı Çocuklarda Sella Turcica Hacmi. 18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, 2017.