

T.C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SERVİS ŐEFLİĐİ

ANTIPILEPTİK İLAÇLARIN İNFANT RATLARIN  
BÜYÜME KIKIRDAĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Fatih ÇELİKEL  
Tbp.Kd.Ütđm

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları  
Tıpta Uzmanlık Tezi

İSTANBUL  
2013



T.C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SERVİS ŐEFLİĐİ

**ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARIN İNFANT RATLARIN  
BÜYÜME KIKIRDAĞI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Fatih ÇELİKEL**

Tbp.Kd.Ütđm

Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi'nin  
Tıpta Uzmanlık Eğitimi İçin Öngördüğü

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

olarak hazırlanmıŐtır.

TEZ DANIŞMANI

Cihan MERAL

Doç.J.Tbp.Kd.Alb.

**İstanbul**

**2013**

Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına;

**“Antiepileptik ilaçların infant ratların büyüme kıkırdağı üzerine etkileri”** konulu bu çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi’nde Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç.Tbp.Alb.Mustafa KUL ( )

Üye : Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb.Selami SÜLEYMANOĞLU ( )

Üye : Doç.Tbp.Kd.Alb.Sabahattin VURUCU ( )

Üye : Doç.Hv.Tbp.Yb.Seçil AYDINÖZ ( )

Üye (Yedek) : Doç.Tbp.Alb.Mustafa KUL ( )

ONAY:

Tbp.Kd.Ütğm.Fatih ÇELİKEL’iün 17/06/2013 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER  
Prof.Tbp.Tümgeneral  
GATA Tıp Fakültesi Dekanı

## TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca bilgi, görgü ve tecrübeleri ile bana önderlik ederek bu çalışmayı gerçekleştirebilecek düzeye gelmemi sağlayan ve her konuda desteklerini sürekli yanımda hissettiğim hocalarım; Sayın Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb.İsmail GÖÇMEN'e, Prof.Svl.Tbp.Ferhan KARADEMİR'e, Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb.Selami SÜLEYMANOğLU'na, Doç.Hv.Kd.Tbp.Alb.Seçil AYDINÖZ'e, Doç.Tbp.Kd.Alb.Mustafa KUL'a, Doç.Dz.Tbp.Kd.Bnb.Gökhan AYDEMİR'e ve Tbp.Bnb.İlhan Asya TANJU'ya minnet ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin tüm aşamalarında katkıda bulunan ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç.J.Tbp.Kd.Alb.Cihan MERAL'e şükranlarımı sunarım.

Asistanlığımın en zor günlerinde hiçbir yardım isteğimi geri çevirmeyen her zaman beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve tüm klinik personeline teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemi sağlayan, aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Fatih ÇELİKEL  
Tbp.Kd.Ütđm

## ÖZET

### **Antiepileptik ilaçların infant ratların büyüme kıkırdağı üzerine etkileri,**

Epilepsi çocukluk çağındaki en sık görülen nörolojik hastalıktır. Levetirasetam (LEV) ve valproik asit (VPA) çocuklardaki epilepsi tedavisinde oldukça yaygın olarak kullanılan antikonvülzan ilaçlardır. Literatürde her iki ilacın da kemik metabolizması ve büyümesi üzerine olumsuz etkileri tanımlanmıştır. Bu çalışma, sık kullanılan iki antikonvülzan ilacın sıçanlardaki uzunlamasına kemik büyümesi üzerine etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Yirmi dört infant sıçan üç gruba ayrıldı. Çalışma gruplarına sırasıyla VPA (600 mg/kg/gün) ve LEV (150 mg/kg/gün) kontrol grubuna ise normal salin 2 hafta boyunca uygulandı. Sıçanlar ilaç uygulamasından sonra sakrifiye edildi ve femurları alındı. Büyüme plakları kalınlıkları histopatolojik olarak ölçüldü. Tüm gruplar dört erkek ve dört dişiden oluşmaktaydı. VPA ve LEV alan gruplarda büyüme plağı kontrol grubuna göre daha geniş olarak saptandı ( $p<0.05$ ). Ayrıca VPA alan grupta büyüme plağı LEV alan gruba göre daha geniş olarak ölçüldü ( $p<0.05$ ). Bu çalışmada VPA ve LEV'in sıçanlardaki büyüme plağını genişlettiğı sonucuna vardık. Fakat bu sonuç endokondral kemikleşme sürecinin tüm basamaklarını yansıtmamaktadır. Bu süreçte hormonal faktörler ve apoptotik mekanizmalar da rol oynamakta olup antikonvülzanların kemik büyümesi ve nihai boy üzerine etkilerini araştırmak için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler** : Valproat, levetirasetam, kemik, büyüme plağı, rat

**Destekleyen Kurumlar** : Yok

**Yazar Adı** : Tbp.Kd.Ütğm.Fatih ÇELİKEL

**Danışman** : Doç.J.Tbp.Kd.Alb.Cihan MERAL

## SUMMARY

### **The Effects of Anti-epileptic Drugs on The Growth Plates of The Infant Rats**

Epilepsy is among the most common neurologic disorders in childhood. Levetiracetam (LEV) and valproic acid (VPA) are widely used drugs in the treatment of children with epilepsy. The adverse effects of both drugs on bone metabolism and growth is defined in the literature. The present study aimed to investigate the effects of these two common anticonvulsant drugs on longitudinal bone growth in rats.

Twenty-four infant rats divided into three groups. The study groups received VPA (600 mg/kg/day) and LEV (150 mg/kg/day) for two weeks respectively. Normal saline was applied to the control group. The rats were sacrificed after the appliance of the drugs and the rat femurs were removed. The thickness of the growth plates were measured by histopathologically.

All groups included four males and four females. The thickness of the growth plates were larger in VPA and LEV groups versus control group ( $p<0.05$ ). In addition the measurement of the growth plate in VPA group was larger than LEV group ( $p<0.05$ ).

We concluded that VPA and LEV both enlarge the growth plate on rats in this study. But this finding does not reflect all steps of endochondral bone growth. The hormonal factors and apoptotic processes also have role on longitudinal bone growth. Further investigations are needed to clarify the adverse effects of anticonvulsants on bone growth and influence on final height.

**Keywords** : Valproic acid, levetiracetam, bone, growth plate, rat

**Supported by:** None

**Author** : MD, Fatih ÇELİKEL

**Counsellor** : MD, Cihan MERAL

## İÇİNDEKİLER

Sayfa	
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. Epilepsi	2
2.1.1. Epilepsinin tanımı ve tarihçesi	2
2.1.2. Epilepsinin Epidemiyolojisi	2
2.1.3. Epilepsinin Etyolojisi	3
2.1.4. Epilepsilerin Sınıflandırılması	3
2.1.5. Epilepsilerin Tedavisi	3
2.1.6. Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları	6
2.1.7. Valproik asit	7
2.1.8. Levetirasetam	7
2.2. Kemiklerde uzama ve büyüme kıkırdığı fizyolojisi	8
2.2.1 Endokondral kemikleşme	9
2.2.2 Büyüme Plağı	9
2.2.3 Kıkırdak Farklılaşması	9
2.2.4 Büyüme plağı morfoloji ve fizyolojisi	10
2.2.5 Farklılaşmanın düzenlenmesi	12
2.2.6 Apoptozis	12
2.2.7 PTHrP ve IHH peptid	13
2.2.8 Tiroid Hormonu	13
2.2.9 Growth Hormon ve IGF-1	14

2.2.10 Antiepileptik ilaçların kemik doku ve büyüme plağı üzerine yan etkileri	14
GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1 Büyüme Plaklarının Alınması	19
3.2 Büyüme Plaklarının İncelenmesi	20
3.3 Büyüme Plağı Uzunluğu ve Zonların Ölçümü	21
3.4 İstatistiksel Analiz	21
BULGULAR	22
TARTIŞMA	29
SONUÇ ve ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR	35

## SİMGELER VE KISALTMALAR

GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
ETX	: Etosüksimit
DZP	: Diazem
FBM	: Felbamat
PHT	: Fenitoin
PHB	: Fenobarbital
GBP	: Gabapentin
LTG	: Lamotrijin
LEV	: Levetirasetam
CBZ	: Karbamazepin
MDZ	: Midazolam
OXC	: Okskarbazepin
PRM	: Pirimidon
TGB	: Tiagabin
TPM	: Topiramamat
VGB	: Vigabatrin
VPA	: Valproik asit
ZNS	: Zonisamid
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGFBP-3	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein tip 3
PTH	: Parathormon
TSH	: Tiroid stimüle edici hormon
T <sub>4</sub>	: Tiroksin
PTHrP	: Parathormonla ilişkili peptid
CRH	: Kortikotropin salgılatıcı hormon
GH	: Büyüme hormonu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1. Büyüme plağı zonları	11
2. Zonlara göre kondrosit morfolojisi	12
3. Ratların yaşadığı ortam	19
4. Dekapitasyon sonrası alınan rat tibiaları	20
5. Formaldehit içinde fikse edilmiş rat tibiaları	20
6. Tibialara sagittal kesi uygulanması	20
7. Kontrol grubu ile VPA grubunun zon uzunluklarının karşılaştırılması	23
8. Kontrol grubu ile VPA grubu arasındaki zonların total zona oranlarının karşılaştırılması	24
9. Kontrol grubu ile LEV grubunun zon uzunluklarının karşılaştırılması	24
10. VPA grubu ile LEV grubunun zon uzunluklarının karşılaştırılması	25
11. VPA grubu ile LEV grubu arasında; zonların total zona oranlarının karşılaştırılması	26
12. VPA grubu x100 büyütme, büyüme plağı resimleri	27
13. VPA grubu x100 büyütme, büyüme plağı resimleri	27
14. Kontrol grubu x100 büyütme, büyüme plağı resimleri	28

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
1. Epilepsilerin ve epileptik sendromların uluslar arası sınıflaması ILAE-1989	4
2. Valproik asidin yan etkileri	8
3. Gruplarda büyüme kıkırdaklarının histomorfolojik ölçümleri ve zonların total zona oranları	22
4. Grupların birbirleri arasındaki farklar (p değerleri)	26

## GİRİŞ

Epilepsi patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamış, biyokimyasal, elektriksel ve moleküler olaylardan kaynaklanan ve tüm toplumlarda en sık görülen nörolojik hastalıklardan biridir. Hastalığın tarihçesi çok eskilere dayanmakta olup tanı ve tedavisi konusunda ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. Artık tedavide yeni birçok yöntem kullanılmasına rağmen antiepileptik ilaçlar ana seçeneği oluşturmaktadır. Günümüzde 20'den fazla antiepileptik ilaç yaygın olarak kullanılmakta olup hepsinin birbirinden farklı etki mekanizması ve yan etki profili bulunmaktadır.

Antiepileptik ilaçların iskelet sistemi ve kemik metabolizması üzerine yan etkileriyle alakalı birçok çalışma bulunmakla beraber özellikle gelişme döneminde olan çocukluk yaş grubunda büyüme plağı, uzunlamasına kemik büyümesi, boy uzaması ve haliyle hedef boy üzerine etkisini araştıran çalışma yok denecek kadar azdır.

Biz bu çalışmayla çocuklarda oldukça sık kullanılan eski ve yeni kuşağa ait 2 farklı antiepileptik ilaç olan valproik asit ve levetirasetaminin büyüme plağı üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Epilepsi

#### 2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Epilepsi nöbeti; nöronların anormal elektriksel deşarjlarına bağlı olarak ortaya çıkan kendini sınırlayıcı, geçici disfonksiyonudur. Bu durumun belirtileri, korteksteki tutulan alana, tutulan bölgenin işlevi, deşarjın diğer anatomik lokasyonlara yayılımına bağlı olarak değişir. (1) Genelde ilk bulgu ve belirtiler nöbetin kaynaklandığı anatomik bölgeyi gösterir. Bundan sonra nöbet başlar ve sonrasında postiktal dönem takip eder. Nöbet epilepsinin majör semptomu olmasına rağmen her nöbet epilepsi ile ilişkili olmayabilir. Bazı insanlar hayatı boyunca epilepsiye dönüşmeyen tek bir nöbet geçirebilir ve genelde tedavi bölümünde de değinileceği üzere tek nöbet her zaman tedavi gerektirmeyebilir. Tarihsel verilere bakılacak olursa epilepsi(sara hastalığı) ok eski dönemlerden beri bilinmektedir. Günümüzde kullanılan 'epilepsi' sözcüğü kelime anlamı olarak eski Yunancada 'yakalamak', 'kavramak' anlamlarına gelen 'epilambanein' kelimesinden türemiş olup yalın anlamı yakalama, tutma demektir (2).

Epilepsi ile ilgili bilinen en eski kaynaklar Babiller dönemine aittir. Babillerde nöbetin vücudu istila eden bir şeytandan kaynaklandığı düşünülüyordu. (3) Milattan önce yaklaşık beşinci yüzyılda Hipokrat epilepsi için "kutsal hastalık" tanımını yapmış ve beynin hastalığın merkezi olduğunu ilk kez ifade etmiştir. Epilepsi tanısı ve tedavisi üzerine yüzyıllar boyu süren ilerleme özellikle 20. yüzyılın sonlarında hız kazanmıştır.

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Gelişmiş ülkelerde epilepsi insidansı yaklaşık yüzde 20-50 civarlarındayken gelişmekte olan ülkelerde bu oran daha yüksektir. Batılı ülkelerde ileri yaş özellikle yedinci dekadadan sonra epilepsi insidansı yaşamın ilk on yılına göre daha yüksektir ve epilepsi vakalarının yaklaşık yarısı çocuk ve adolosanları kapsamaktadır (4).

Gelişmiş ülkeler için ortalama epilepsi prevalansının binde 5-6 civarında olduğu ve gelişmekte olan ülkelerde bu oranın yaklaşık üç kat fazla

olduğu bildirilmektedir. (5) Yapılan çalışmaların çoğunda insidans oranlarında cinsiyete zđü farklılık gözlenmemekle birlikte prevalans oranlarının erkeklerde nispeten daha yüksek olduğu bildirilmektedir. (4) Sıklıkla görülen nöbet tipi parsiyel nöbetlerdir ve bunu jeneralize tonik-klonik nöbetler takip etmektedir. Absans, izole tonik, atonik ve miyoklonik nöbetler gibi diğer nöbet tipleri görece daha seyreklerdir. (6)

### **2.1.3. Etiyoloji**

Günümüzde yapılan çalışmalarda hastaların yaklaşık dörtte birinde epilepsi etiyolojisi saptanabilmektedir. İnme yks, serebral palsy gibi nörolojik gelişimsel anormallikler, beyin malformasyonları, bakteriyel menenjit veya viral ensefalit öyküsü, çeşitli genetik ve metabolik hastalıklar ile tümörler sıklıkla saptanan altta yatan etyolojik nedenlerdir. (7) Etiyolojisi saptanamayan epilepsiler idiyopatik ve kriptomjenik olarak iki gruba ayrılır.

### **2.1.4. Sınıflandırma**

Nöbetleri değişik şekilde gruplamak mümkündür (8):

- Etiyolojilerine göre [idyopatik (primer) veya semptomatik (sekonder)];
- Sıklıklarına göre (izole, tekrarlayıcı)
- Klinik şekillerine göre (fokal/jeneralize);
- Kaynaklandıkları yere göre;

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE) sınıflama komisyonunun uzun süren çalışmaları sonucunda hazırlanan ve tüm dünyada kabul gören 1981 Epileptik Nöbetlerin Klinik ve Elektrografik Sınıflaması ve 1989 Epilepsiler ve Epileptik Sendromların Sınıflaması halen yaygın olarak kullanılmaktadır. (Tablo 1) (9) ILAE'nin 1989 da yaptığı sınıflama nöbetlerin klinik tipi ve elektroensefalografi (EEG) karşılığına göre oluşturulmuştur. ILAE'nin 2001 yılında da yaptığı bir sınıflama mevcut olmakla birlikte henüz yaygın olarak kabul görmemektedir.

### **2.1.5. Tedavi**

Epilepsi tedavisinde öncelik doğru tanının konması ve antiepileptik tedaviye gerek olup olmadığının belirlenmesidir. Epilepsi tedavisinde

Tablo.1. Epilepsi ve epileptik sendromların uluslararası sınıflaması ILAE-1989

---

1-Lokalizasyon bağılı(fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar

*A- İdiopatik ( yaşa bağılı başlangıç)*

- Sentrotemporal dikenli selim Çocukluk Çağı epilepsisi
- Oksipital paroksizmlili Çocukluk Çağı epilepsisi
- Primer okuma epilepsisi

*B- Semptomatik*

- Temporal lob epilepsisi
- Frontal lob epilepsisi
- Pariyetal lob epilepsisi
- Oksipital lob epilepsisi
- Çocukluk çağının kronik progresif epilepsia parsiyalis kontinuası
- Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

*C- Kriptojenik*

2-Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

*A- İdyopatik (yaşa bağılı başlangıç)*

- Selim ailesel yenidoğan konvulziyonları
- Selim yenidoğan konvulziyonları
- Süt çocuğunun selim myoklonik epilepsisi
- Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolepsi)
- Juvenil absans epilepsisi
- Juvenil myoklonik epilepsi
- Myoklonik astatik nöbetli epilepsi
- Myoklonik absanslı epilepsi

*B- Semptomatik*

- Nonspesifik etyoloji
- Spesifik sendromlar

3-Fokal veya jeneralize oldukları belirlenemeyen epilepsiler

*A- Jeneralize ve fokal konvulziyonlu epilepsiler*

- Yenidoğan konvulziyonları
- Süt çocuğunun ağır myoklonik epilepsisi
- Yavaş dalga uyku sırasında devamlı diken dalgalı epilepsi
- Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu )
- Diğer belirlenemeyen epilepsiler

*B-Net jeneralize veya fokal konvülziyon özelliği olmayanlar*

4-Özel Sendromlar

- Özel durumla ilişkili nöbetler
- Febril konvüziyonlar
- İzole nöbet veya izole status epileptikus
- Akut metabolik veya toksik nedenlere bağılı nöbetler

hastanın hayat şartlarında değişim yapmak çok önemlidir. Özellikle çocukluk yaşı grubunda yeterli miktarda uyku uyuması, erişkin yaş grubunda da nöbeti tetikleyebilecek olan alkol ve kafein almaması ve psikolojik faktörlerden uzak kalması konusunda hastalar uyarılmalıdır.

Epilepsi tedavisindeki önemli ilerlemelere rağmen (epilepsi cerrahisi, vagal sinir stimülasyonu, genetik temelli tedavi yöntemleri ve hücre transplantasyonları) antiepileptik ilaçların (AEİ) kullanımı hala epilepside tedavinin temelini oluşturmaktadır.

Çocukluk çağı epilepsilerinde hastalığın farmakolojik tedavisinin uzun yıllar ve bazı hastalarda ömür boyu sürecektir olması nedeniyle tedavi başlarken hasta ve ailesi ile iyi iletişim kurulmalıdır. Çocuklarda AEİ'leri seçerken çocuğun büyüme ve gelişmesi, ilaç uyumu, eşlik eden başka sistemik hastalık gibi durumlar da göz önünde bulundurulmalı ve çok dikkatli olunmalıdır. Antiepileptik ilaç tedavisi başlarken, etki-yan etki profili iyi değerlendirilmeli ve mümkünse tekli tedavi (monoterapi) ile başlanmalıdır. Farmakolojik tedavide en önemli amaç; yan etki profili en az ilaçla ve mümkün olan en düşük dozda sonuca gitmektir. Belli periyotlarla ilaç kan düzeyleri ölçülüp düşük ya da toksik kan düzeylerinden kaçınmak gerekir. Hastanın kullanacağı diğer ilaçlarla etkileşimleri iyi hesaplanmalı ve aileler bu konuda uyarılmalıdır. İlacın aniden kesilme yada unutulma ihtimaline karşı mümkünse ilacın gün içinde aynı saatlerde alınması konusunda hastalar motive edilmelidir.

Son yıllarda yeni antiepileptik ilaçların kullanıma girmesi ve eski antiepileptik ilaçların farmakolojik yapıları modifiye edilerek epilepsi tedavisinde daha geniş bir tedavi spektrumu sağlanmıştır. Geçtiğimiz son iki dekada kadar sıklıkla kullanılan ve 'eski kuşak' olarak tabir edilen fenobarbital, fenitoin karbamazepin, valproik asit, etosüksimid ve primidona 'yeni kuşak' olarak adlandırılan lamotrijin, vigabatrin, levetirasetam, topiramet, felbamat, gabapentin, tiagabin, okskarbazepin, zonisamid, pregabalin tedavi seçeneği olarak eklenmiştir.

Günümüzde jeneralize tonik-klonik epilepsilerde genellikle valproik asit, alternatif olarak ise lamotrijin kullanılır. Topiramet ve levetirasetam da yeni kuşak antiepileptikler olarak kullanılabilir. Parsiyel ve sekonder jeneralize epilepsilerde fenitoin, karbamazepin, alternatif olarak okskarbazepin kullanılmaktadır.

Absans ve miyoklonide valproik asit etkin olarak kullanılmaktayken izole absans nöbetlerinde etosüksimidle de başlanabilir.

Valproik asit ve levetirasetam günümüzde iki farklı kuşak antiepileptik ilaç olarak oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda valproik asit ve levetirasetam kullandığımız için konuyu uzatmamak adına bundan sonraki kısımlarda antiepileptik ilaçların sınıflamasına ve etki mekanizmalarına özet olarak değinilecek olup ağırlıklı olarak valproik asit ve levetirasetamın farmakolojik özellikleri, değişik etki mekanizmaları, kemik ve kıkırdak doku başta olmak üzere yan etki profilleri ayrıntılı olarak incelenecektir.

#### **2.1.6. Antiepileptik İlaçların Etki Mekanizmaları**

Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları konusunda değişik görüşler vardır. Antiepileptik ilaçlar, beyin dokusunda gelişmiş olan kronik hipereksitabilite üzerine etkilidir. Hipereksitabiliteyi azaltmakla birlikte, patolojik hücreler üzerinde inhibisyonu arttırmak suretiyle epileptik nöbetin ortaya çıkmasını önler. Bu nedenle antikonvulziv tedavi sadece semptomatik etkili olup, hastalığın kendisini tedavi etmez. Başlıca etki mekanizmaları;

- 1- Nöron membranında yer alan voltaja bağlı Na kanallarını bloke ederek yüksek frekanslı tekrarlayıcı aksiyon potansiyellerinin ateşlenmesini önleyenler: karbamazepin, fenitoin, lamotrijin, okskarbazepin, valproat
- 2- GABA'ya bağımlı inhibisyonu arttırarak; fenobarbital, benzodiazepin, topiramet
- 3- GABA transaminaz inhibisyonu: Vigabatrin inhibitör nörotransmitter olan GABA analogudur ve yıkımını sağlayan GABA–transaminaz enzimini irreversibl olarak inhibe eder.
- 4- Eksitator aminoasid olan glutamatın reseptörünü bloke ederek ya da bizzat glutamatın salınımını inhibe ederek etki edenler: Topiramet, lamotrijin
- 5- Kalsiyum kanallarını bloke ederek etki gösterenler; etosüksimid

### 2.1.7. Valproik Asit

Valproik asit (2-propilvalerik asit/2-propilpentanoik asit) valerik asitten (*Valeriana officinalis* adlı bitkiden doğal yolla elde edilen) sentezlenen, oldukça geniş spektrumlu bir antiepileptik ilaçtır. İlk kez Burton tarafından 1882 yılında sentezlenmiş olup, 1962 yılında Fransız bilim adamları tarafından antiepileptik etkisi saptanmıştır. 1967 yılında antiepileptik ilaç olarak ruhsat almış ve yaklaşık elli yıldır tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır.

Geniş antiepileptik etkinliğinin yanında son yıllarda migren, psikolojik hastalıklar (depresyon, şizofreni vb), kanser gibi oldukça değişik hastalık grubunda da kullanılmaya başlanmıştır.

Antiepileptik etki mekanizması net olarak ortaya konmamış olmakla beraber GABA'nın inhibitör etkisini arttırdığı, nöronal eksitasyona neden olan NMDA reseptörlerini inhibe ettiği ve bununla beraber esas olarak voltaj bağımlı sodyum kanallarını inhibe ettiği ve bu şekilde etki gösterdiği gözlenmiştir. (10) Tedaviye genelde 10-15 mg/kg gibi düşük dozlarda başlanır. Haftalık 5-10 mg artışlarda 30-40 mg/kg optimal doza ulaşılır. > 40 mg /kg ı geçen dozlarda hastaların yakın takibi gerekir.

Valproik asit yaygın kullanılan iyi tolere edilen bir ilaç olmasına rağmen birçok sistem üzerine etkili olan ve bunun sonucunda oldukça geniş bir yan etki profiline sahiptir. (Tablo 2)

### 2.1.8. Levetirasetam

Levetirasetam yeni kuşak antiepileptik ajanlardan olup kimyasal yapısı (S)-alfa-etil—2-okso—1-pirolidin asetamid şeklindedir. Lineer farmakokinetik yapısı, absorpsiyonunun hızlı olması ve ilaç etkileşiminin sınırlı olması nedeniyle son yıllarda kullanımı gittikçe artan levetirasetamın antiepileptik etki mekanizması hala tartışmalıdır. Son yıllarda santral sinir sisteminde özel bağlanma bölgeleri olduğu (pre-sinaptik bir vezikül proteini olan SV2A) ve anormal elektriksel deşarjı bu yolla azaltarak antiepileptik etki gösterdiği düşünülmektedir. Etki spektrumu oldukça geniştir ve hem jeneralize hem de

Tablo 2. Valproik asidin yan etkileri (11,12,13)

Sistem	Yan etki
Hematolojik Sistem	Kemik iliği supresyonu, nötropeni, trombositopeni, trombosit fonksiyon bozukluğu, aplastik anemi, kanama zamanında uzama
Endokrinolojik Sistem	Obezite, insülin direnci, hiperandrojenizm, tiroksin (T4 ) düzeyinde azalma, östrojen ve progesteron seviyesinde azalma, steroidogenez enzimlerinin ekspresyonunda azalma
Santral Sinir Sistemi	Depresyon, tremor, psikoz, ataksi, sedasyon
Gastrointestinal Sistem	Karaciğer enzimlerinde yükselme, heptotoksisite, bulantı, kusma, karın ağrısı
Kas-İskelet Sistemi	Azalmış kemik formasyonu, kemik mineral dansitesinde azalma, raşitizm, osteopeni, osteoporoz
Metabolik yan etkiler	Hiperamonyemi
Diğer	Döküntü, alopesi, teratojenik etkiler (nöral tüp defektleri, dismorfizm)

parsiyel epilepsilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. (14)

İdrarla atılıp, karaciğerde metabolize edilmemesi en önemli avantajıdır. Çocuklarda 10-20 mg/kg dozdan başlanıp haftalık arttırılarak 40-50 mg/kg a kadar çıkılır. Hepatik sistemden metabolize olmadığı için yan etki profili ve ilaç etkileşimleri sınırlı olmakla beraber değişik sıklıklarda görülen yan etkileri; somnolans, asteni, baş ağrısı, döküntü, psikoz, depresyon, davranış bozuklukları, anemi, hematüri, trombositopeni, kemik mineral dansitesinde azalma, osteopeni, osteoporoz değişik sıklıklarda görülür. (15)

## 2.2. Kemiklerde Uzama ve Büyüme Kıkırdağı Fiziolojisi

Kemik dokunun oluşumu genellikle 2 aşamada oluşur. Öncelikle kemik dokunun matriksi oluşur ve daha sonra santral ve hormonal mekanizmalarla bu yapının mineralizasyonu gerçekleşir. İki farklı tip kemik oluşumu vardır:

- 1- İntramembranöz kemikleşme; embriyonal bağ dokudan direk kemik dokusu oluşmakta
- 2- Endokondral kemikleşme; daha sonra kemik dokuya dönüşecek hyalin kıkırdaktan oluşan bir taslak yapı söz konusudur.

Kemikleşme süreci devam ederken metafizle epifiz arasında yaklaşık 1-2 mm kalınlığında büyüme kıkırdağı (Epifizyal Plak) değişik faktörlerden etkilenmekle birlikte yaklaşık 18-24 yaşlarına kadar varlığını sürdürür. Epifizyal plak uzun kemiklerde boyuna uzamadan sorumludur ve zamanla yerini kemik dokuya bırakır.

### **2.2.1. Endokondral Kemikleşme**

Endokondral kemikleşmede asıl rol kıkırdak hücrelerine düşmektedir. Uzun kemiklerin diafizinde başlayan kemikleşmeden epifizyal plak etkilenmez ve daha sonra bu bölgede bulunan hyalin kıkırdak yapısındaki hücrelerde yapısal ve fonksiyonel farklılaşmalar oluşmaya başlar. Zamanla oluşan yapıya kalsiyumun çökmesi ile kemik doku oluşumu tamamlanır ve böylelikle uzun kemiklerin uzaması da durmuş olur.

### **2.2.2. Büyüme Plağı**

Epifizyal büyüme plağı mezoderm kaynaklı ileri derecede özelleşmiş bir kıkırdak yapıdır ve uzunlamasına kemik büyümesinden sorumludur. Pubertal dönem sonrasında yerini tamamen kemik dokuya bırakır. Primer ve sekonder ossifikasyon merkezleri birleşir ve büyüme plağı kapanmış olur. (16,17,19,20)

### **2.2.3. Kıkırdak Farklılaşması**

Kondrosit farklılaşmasının 4 major evresi vardır. (19,20,21,22)

1. Mezenkimal prekürsör hücreler (MPCs),
2. Prekondrositler
3. Erken kondroblastlar
4. Terminal farklılaşmış kondrositler

Mezenkimal prekürsör hücreler paraksiyal mesodermden, lateral plak mesodermden ve nöral krestten iskelete göç ederler. Bu prekürsör hücreler bölünüp prekondrositleri oluştururlar. Uzun şekilden daha yuvarlak hale dönerler. (24) Mezenşimal-endotelyal bileşkeler, TGF $\beta$  tarafından sentezi uyarılan fibronektin vasıtasıyla stabilize edilir. (25,26) Farklılaşan prekondrosit hücreler Sox ailesi genlerini eksprese etmeye başlarlar. Sox genleri, kollajen sentezini regüle eder. (21,27,28) Sox 9 geni kondrogenezisin başlangıcında kritik bir rol oynar. (29) Sox eksprese eden hücrelerin osteoprogenitör hücrelere dönüştüğü düşünülmektedir. (30) Kondroblastlar prekondrositlerin farklılaşması sonucu ortaya çıkan, yeni kemik dokusu oluşturabilen ve hızla çoğalabilen aktif kondrojenik hücrelerdir. Kondroblastlar da kemik dokuya dönüşüm sürecinde Sox genlerini eksprese etmeye devam eder. (31) Prekondrosit hücrelerin farklılaşması sonucu erken kondroblastlar oluşur ve kemiğin uzunlamasına kolonlar şeklinde organize olup hızla çoğalarak kıkırdak yapısındaki büyüme plağını geliştirirler. Erken kondroblastlar daha sonradan bölünmelerinin (proliferasyon fazı) durmasıyla farklılaşma dönemine geçer ve hipertrofik zonu oluştururlar. (32,33) Bu safhadaki hücreler farklılaşarak daha uzun (6-10 kat) hale gelirler ve bu durum uzunlamasına büyümenin en önemli fazıdır. (35) Hipertrofik zon hücreleri ekstrasellüler matriks ve kemik hücrelerinden ve vasküler yapılardan salınan endotelyal büyüme faktörlerinin etkisinde, kalsifiye olarak kemik dokusuna dönüşmeye başlar. (36) Ancak aynı zamanda birçok hipertrofik kondrosit kan damarlarıyla karşılaşmadan önce kısa sürede apoptozise uğrar. (37)

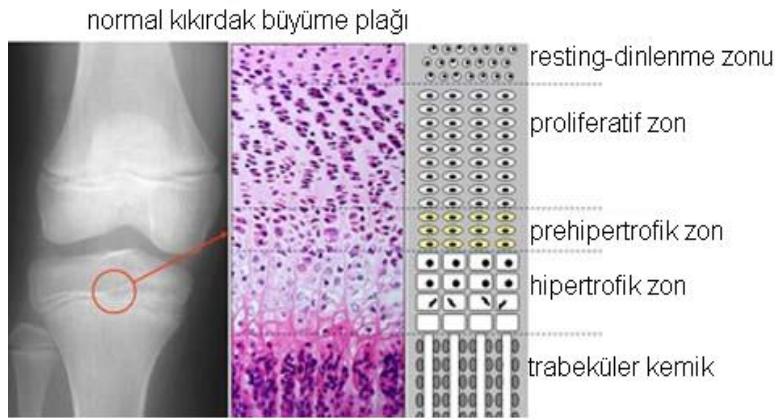
Büyüme plağı oluşum sürecindeki kıkırdak dokunun farklılaşması ve uzunlamasına kemik gelişim hızı yaş ile birlikte azalır. İntrensek faktörlerin etkisiyle büyüme plağının fonksiyonu azalmaya başlar. (34) İnsanlarda seksüel olgunlaşmanın tamamlanmasıyla büyüme plağının proliferatif kapasitesi azalır ve bu durum epifizyal füzyon olarak adlandırılır. (38)

#### **2.2.4. Büyüme Plağı Morfoloji ve Fizyolojisi**

Büyüme plağı dinlenme zonu (resting zon), proliferatif zon ve hipertrofik zon olmak üzere üç zondan (Şekil 1) oluşur. (1) Resting zon

hücreleri yassı, küçük, lipid ve vakuollerden zengin hücrelerdir. ( Şekil 2) Resting zonda proliferasyon hızı ve kollajen sentezi düşüktür. (18, 19)

Resting zondan sonra proliferatif zon başlar. Buradaki hücreler düz ve kemiğin uzun aksına paralel olarak kolonlar halinde dizilmişlerdir. Bölünme hızı yüksek hücrelerden oluşurlar. Mitotik aktivite daha çok kolonların bazalinde bulunur. Bu tabakada kollajen sentezi fazladır. (Şekil 7) (40) Proliferatif zonun devamında hipertrofik zon vardır. Bu tabakadaki hücrelerin en önemli özelliği DNA sentezinin azalması ve bölünmenin olmamasıdır. (17) Bölünme yerine ekstraselüler matriksin komponentleri sentezlenir. Sadece bu tabakada kısa zincirli kollajen bulunur. Alkalen fosfataz da ilk kez burada sentezlenir. Alkalen fosfataz kalsifikasyon için gerekli fosfat iyon düzeyini arttırarak, büyüme plağının genişlemesinden sorumludur. (19, 20, 39) Bu tabakadaki hücreler diğer hücrelere göre oldukça büyüktürler.



Şekil 1. Büyüme plağı zonları

Trabeküler kemiğe doğru dejenerasyona uğramış hücre miktarı artar. Sitoplazmik hacim artar ve erken kıkırdak matriks oluşumu ilgili mRNA ekspresyonu artar (31). Hücrelerin hacmi artarken mitokondri ve endoplamik retikulum gibi organellerin sayısı da artar (23, 35). Terminal farklılaşma ve kondrosit hipertrofisinde en önemli faktörlerden biri kor bağlayıcı faktör 1(CBFA1) 'dir (41).

Trabeküler kemik, osteoprogenitör hücrelerin varlığıyla karakterize olup küçük kan damarları görülebilir (19, 20, 39).

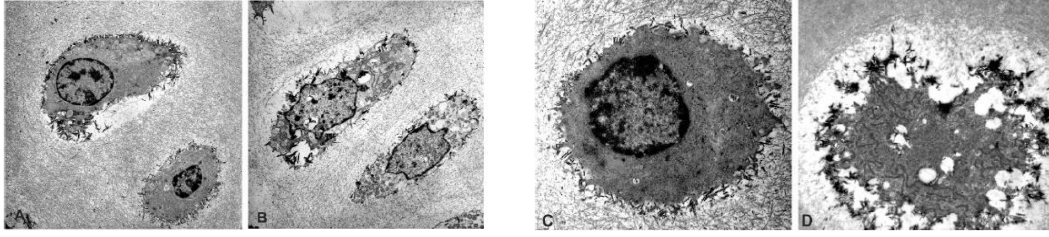
Hipertrofik zondaki hücrelerden farklılaşmış kondrosite geçiş olunca

A; rezerve zon kondrositi

B; proliferatif zon kondrositi

C; hipertrofik zon kondrositi

D; dejeneratif kondrosit



Şekil 2. Zonlara göre kondrosit morfolojisi

Yeni grup genlerin ekspresyonu başlar. Bu genler ECM mineralizasyonu ve apoptoziste rol alırlar. Kıkırdak kalsifikasyonundan sonra kondrositler apoptozise uğrar ve fagositozla yok edilirler. Kalsifiye alanlara kan damarları ve stromal hücreler gelmeye başlar(42, 43, 44). Hipertrofik kondrositlerden salınan VEGF (vasküler endotelial growth faktör), vasküler yapıların büyümesinde en önemli faktördür (23, 39).

### 2.2.5. Farklılaşmanın Düzenlenmesi

Hipertrofik kondrositlerin değişim sürecinde iki farklı mekanizma vardır; ilki apoptozis, ikinci mekanizma ise farklılaşmış kondrositlerin osteoblastlara dönüştüğü transdiferansiyasyon işlemidir (39). Transdiferansiyasyon için esaslı ve yeni genlerin ekspresyonu gerekir (42, 43).

### 2.2.6. Apoptozis

Resting zon hücresi proliferatif döneme girdikten sonra farklılaşmaya başlarlar. Son olarak apoptozis ve mineralizasyon gerçekleşir. Yaşlı ratlarda genç ratlara göre apoptozis daha belirgindir. Apoptozis sürecindeki anahtar enzim 'caspase' lardır. Bu enzimler hücrelerin stoplazmalarında apoptozisi aktive etmek üzere inaktif formda bulunurlar (39,44). Parathormonla ilişkili peptid (PTHrP) apoptozis inhibitörü olan Bcl-2'yi artırarak, apoptozisi inhibe eder. Glukokortikoidler fosfat gibi apoptoziste artışa yol açar (45, 46, 47, 48). On gün boyunca glukokortikoidlerle tedavi edilmiş hayvanlarda, hipertrofik kondrositlerin apoptozis miktarında artış sonucu büyüme plağı genişliğinde azalma olduğu gösterilmiştir (45).

### **2.2.7. Parathormonla İlişkili Peptid ve Indian Hedgehog Peptid**

Paratiroid hormon ve parathormon ilişkili peptid perikondriumun ana aktivatörleridir. Bunlar arasındaki denge kondrosit çoğalması ve farklılaşmasını sağlar. Parathormon ilişkili peptid reseptörleri özellikle prehipertrofik hücrelerde ve proliferasyon zonunda bulunur. Parathormon ilişkili peptid, proliferasyon zonunun altındaki kondrositlerin hipertrofik kondrositlere farklılaşmasını geciktirir ve hücreleri prehipertrofik kondrosit evresinde tutar. PTH/PTHrP reseptör aktivasyonu ile PTHrP, G protein aktivasyonu ile hücre çoğalmasını uyarır ve onların prehipertrofik ve hipertrofik kondrositlere dönüşümünü geciktirir. Çoğalma bittikten sonra kondrositlerden Indian Hedgehog Peptid salgılanır. Indian hedgehog peptid feedback ile PTHrP sentezini uyarır (49,51). Yapılan çalışmalarda parathormonla ilişkili peptid veya reseptörünün bulunmadığı transgenik farelerde, kondrosit farklılaşmasında hızlanma ve erken hipertrofi sonucu cücelik bulguları gözlenmiştir. Parathormonla ilişkili peptidin fazla üretiminin de hücrel farklılaşmada yavaşlamaya bağlı kemik uzunluğunda azalmaya sebep olduğu görülmüştür (55).

Matürasyon ve terminal farklılaşma Indian hedgehog (Ihh) peptid varlığına da bağlıdır (49, 50, 51). Indian hedgehog peptid sentezi mezenkimal yoğunlaşmayla başlar ve kıkırdak oluşumu sürecinde artar. Bu sürecin sonlanmasıyla da sentezi azalmaya başlar. Indian hedgehog peptid yokluğunda, perikondrium kemik doku yerine periosta dönüşür (52). Indian hedgehog peptid aşırı salgılanması, kondrositlerin hipertrofik faza geçişini yavaşlatan perikondrial PTHrP ekspresyonu artırır (53, 54).

### **2.2.8. Tiroid Hormonu**

Kondrosit çoğalmasını, farklılaşmasını düzenleyen ve ECM'deki değişikliklere etkili diğer bir hormonal sistem de tiroid hormonla ilişkili sistemdir (56, 57). Tiroksin kollajen tip-10 sentezini artırır (58). Tiroid reseptörlerinden Tiroid reseptörü- $\alpha$ , çoğunlukla kemik, kalp ve santral sinir sisteminde bulunur (59). Tiroid reseptörü- $\alpha$ 1'i eksprese eden genlerde meydana gelen delesyon sonucu, kemiğin uzunlamasına büyümesinde azalma, kıkırdak mineralizasyonunda yetersizlik, büyüme kıkırdağında

yapısal organizasyon bozukluğu ve kondrosit hipertrofinde eksiklik saptanır. Tiroid reseptörü- $\alpha$  rat büyüme plağında, resting zon ve proliferatif zon kondrositlerinde bulunur fakat hipertrofik zondaki kondrositlerde yoktur (60). İnsan büyüme plağında ise ise bütün kondrositlerde bulunur (61). İn vitro çalışmalarda triiodotironinin (T3), büyüme plağı kıkırdağının büyüme ve matürasyonunu uyardığı gösterilmiştir (60). Triiodotironin bununla beraber mRNA ekspresyonunda, kollajen tip-10 seviyesinde, hücresel hipertrofide ve ALP aktivitesinde artışa sebep olur (42, 44, 57, 62). Tiroid hormonu aynı zamanda büyüme hormonu (GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) gibi diğer büyüme faktörlerinin de düzenleyicisidir (65).

### **2.2.9. Büyüme Hormonu ve IGF-1**

Büyüme hormonu (GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 kemiğin uzunlamasına büyümesinin güçlü uyarıcılarıdır. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 sentezi GH tarafından düzenlenir ve hücre bölünmesinde artışa sebep olur (63, 64). Büyüme hormonu etkisini karaciğerde üretilen IGF-1 aracılığıyla gösterir. Ayrıca lokal etkisi ile büyüme plağına direkt etki ederek kemiğin uzunlamasına büyümesine katkıda bulunur. Yapılan çalışmalarda, büyüme hormonunun IGF-1'den bağımsız olarak da büyüme plağına etkili olduğu gözlemlenmiştir. Büyüme hormonunun asıl etkisi resting zondaki kondrositleri proliferatif zona yönlendirdiği ve ilerlemeyi hızlandırdığı bilinmektedir. IGF-1'in ise hipertrofik zona etkisinin olduğu fakat proliferasyona etkisinin düşük seviyede olduğu belirtilmiştir (66).

### **2.3. Antiepileptik İlaçların Kemik Doku ve Büyüme Plağı Üzerine Olumsuz Etkileri**

Epilepsi hastalarında kronik hastalığa bağlı olarak ve kullanılan antiepileptik ilaçlara bağlı olarak kemik sağlığı olumsuz etkilenir. Antiepileptik ilaçların kemik dokusu üzerine olumsuz etkileri çok çeşitlidir (72, 73, 74, 81, 82). Sitokrom P450 enzim indüksiyonuna bağlı Vitamin D düzeylerinde azalma, bununla beraber Ca alımında ve yeni oluşan kemik doku kalsifikasyonunda azalma, PTH salgısında artış ve sonucunda kemik dokudan kalsiyum mobilizasyonunun artması ile kemik mineral dansitesini

azaltarak erken çocukluk döneminde raşitizm ilerleyen dönemlerde osteoporoz ve fraktür riskini artırır. Kullanılan antiepileptik ilaca göre bu etkiler değişmekteyken çalışmamızda kullandığımız antiepileptiklerden valproik asit de bu etki daha belirginken levetirasetamda daha sınırlı olduğu bilinmektedir. Antiepileptiklerin kemik metabolizması, kemik mineral dansitesi üzerine olumsuz etkileriyle alakalı literatürde birçok çalışma bulunmaktadır (72, 73, 74, 81, 82).

Valproik asit osteoblast ve osteoklast aktivitesini inhibe eder. Valproik asit; kemik turnoverını ile kemik rezorpsiyonunu artırır ve kemik rezorpsiyonunu bozar. (67, 68, 69)

Farhat ve arkadaşları enzim indüksiyonu yapan ve yapmayan antiepileptik ilaçların etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, Vitamin D seviyeleri ile kemik mineral dansitelerinin korele olmadığı, sonuç olarak da antiepileptik ilaçların kemik doku üzerindeki olumsuz etkilerini kalsiyum metabolizması yanında osteoblast-osteoklast fonksiyonlarını inhibe ederek gösterdiklerini belirtmiş. (70)

Kwiecińska ve arkadaşlarının valproik asit ve levetirasetamın etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, valproik asidin caspaz enzim kaskadını uyararak apoptozu uyardığı fakat levetirasetamın apoptoz üzerine etkisi olmadığı gözlenmiş. (71)

Yukarıda belirtildiği üzere büyüme kıkırdağı farklılaşması, kemik dokuya dönüşmesi ve kapanması üzerine etkili birçok hormon ve büyüme faktörü etkilidir. Bu çalışmayı planlarken antiepileptik ilaçların kemik doku üzerine olumsuz etkileri olduğu gibi osteoblast-osteoklast fonksiyonlarını bozarak, hormonlar ve büyüme faktörlerini üzerinden de etki ederek büyüme plağı üzerine olumsuz etkileri olabileceğini düşündük.

Bununla beraber antiepileptik ilaçların büyüme plağı üzerine etkilerini araştıran çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Robinson ve arkadaşları değişik antiepileptik ilaç alan hastalarda parathormon seviyelerinde düşme ve bununla paralel olarak iskelet gelişiminde yavaşlama, epifizyal plağın erken kapanması, küçük ve bozuk diş yapısı gözlendiğini bildirmiş (72).

Yine 1988 yılında Robinson ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada; valproik asit, fenitoin ve karbamezepinin büyüme kıkırdağına etkisini değerlendirmişler. Her üç antiepileptik uyguladıkları gruplarda büyüme kıkırdağının kontrol grubuna göre daha ince olduğunu ve kondrosit sayısının da yine kontrol grubuna göre daha az olduğunu gözlemişler. (73)

Wu ve arkadaşları valproik asidin kemiğin uzunlamasına büyümesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, valproik asidin, kondrosit proliferasyonunu baskıladığı, büyüme kıkırdağındaki kartilaj formasyonunu bozarak uzunlamasına kemik büyümesini olumsuz etkilediğini gözlemişler. (74)

Borusiak ve ark. (2013) valproik asit ve levetirasetam kullanan hastalar üzerinde yapılan kontrollü çalışmada, hastaların %24,4 ünde hipokalsemi, % 25,4 ünde hipofosfatemi, % 13,3 ünde Vitamin D düzeyinde azalma gözlemlenmiş. (75)

El-Khayat ve arkadaşlarının valproik asit kullanan epilepsi hastası çocuk ve adolesanlar üzerinde yaptıkları çalışmada; çocukların boyları kontrol grubuna göre daha kısa saptanmış. Ayrıca bazal GH ve IGF-1 seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmazken uyarılmış GH ve IGF-1 seviyeleri açısından tedavi alan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüklük gözlemlenmiş. (76)

Güngör ve arkadaşlarının valproik asit kullanan pre-pubertal dönemdeki çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada, tedavi alan grupta kontrol grubuna göre IGF-1, IGFBP-3 seviyelerinde anlamlı düşüş saptanmış. (77)

Büyüme kıkırdağı üzerinde özellikle pubertal dönemde daha belirgin olmakla beraber glukokortikoidlerin ve sex hormonlarının da etkisi bulunmaktadır. Leśkiewicz ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya göre, valproik asit ratlarda CRH salınımını azaltmaktadır. (78)

Kristine ve arkadaşlarının valproik asit ve levetirasetamın steroidogenezis üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, valproik asitin steroidogenezde önemli promotor genlerin ekspresyonunu ve özellikle östradiol üretimini belirgin azalttığı, levetirasetamın etkilerinin daha sınırlı olduğu sonucuna varmışlar. (79)

Apak ve arkadaşlarının valproik asit kullanan pre-pubertal yaptığı çalışmada, T4 seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma gözlenmiş. (80)

Levetirasetam da çocukluk çağında valproik asit gibi oldukça yaygın kullanılan yeni kuşak bir antiepileptik ajandır. Levetirasetam kemik mineral dansitesini azaltmadan kemik dokunun dayanıklılığını azaltır. (81)

Levetirasetam osteokalsin seviyesini azaltarak kemik dokunun formasyonunu bozar. Levetirasetam ayrıca serum östradiol seviyesini azaltarak da dolaylı olarak kemik turnoverını artırır. Levetirasetam, femur boynu gibi kıkırdak doku ve trabeküler kemikten zengin bölgelerde mineralizasyonu inhibe ederek endokondral kemikleşmeyi azaltır. (82)

Levetirasetamın endokondral kemikleşmeyi azaltıp, epifizyel plağın mikrostrüktüryel yapısına olumsuz etkisi özellikle prepubertal dönemdeki ratlar üzerinde daha belirgindir. (83)

Taubøll ve arkadaşlarının yaptıkları ve valproik asit ile levetirasetamın apoptoz üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada; her iki ilacın caspaz-3 aktivitesini arttırdığı ve levetirasetamın pro-apoptotik etkisinin valproik asitten daha fazla olduğu sonucuna varmışlar. (84)

Kesim ve arkadaşlarının, monoterapi alan epileptik hastalar üzerinde yaptıkları, antiepileptik ilaçların tiroid fonksiyonları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada; levetirasetam alan grupta TSH düzeyinde anlamlı düşme saptanırken, valproik asit alan grupta T4de azalma ve TSH da artış saptanmış. (85)

Cansu ve arkadaşlarının boy uzaması ve büyüme hormon analizi yaptıkları çalışmalarında prepubertal çocuklarda valproik asit ve okskarbazepinin büyüme üzerine etkilerini değerlendirmişler. Okskarbazepinin IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyini arttırarak çocuklarda lineer büyümeyi stimüle ettiği, valproik asitin ise ghrelin seviyesini azalttığı fakat lineer büyüme üzerine etkisinin olmadığını saptamışlar. (86)

Valproik asit ve levetirasetam çocukluk yaşında oldukça sık kullanılan antiepileptik ilaçlardır. Yukarıda anlatıldığı üzere insan vücudunda birçok doku, organ ve sistem üzerinde olumsuz etkileri olabilmektedir. Özellikle

çocuklar gibi büyüme ve gelişme dönemindeki organizmalarda ileriye yönelik bu olumsuz etkiler daha belirgin olabilmektedir. Biz de bu sık kullanılan iki ilacın çocukların büyüme kıkırdağı, kemik uzaması ve olası nihai boy üzerine etkilerini araştırmak üzere çalışmamızı planladık.

Bu çalışmayı insanlar üzerinde yapmanın histomorfolojik inceleme yapılamayacağından subjektif sonuçlar ortaya koyacağını düşünerek ratlar üzerinde yapmayı planladık. Bilindiği üzere ratların yaşam döngüsü; ilk hafta yenidoğan dönemi olmak üzere, 2-3 haftadan itibaren infant dönem, 5-6 hafta pre-pubertal dönem, 8-10 hafta pubertal/adolsesan dönem, 5-6 ay erişkin dönem olarak devam etmektedir. Büyüme kıkırdağını inceleyeceğimiz için pubertal dönem ve öncesi sex steroidlerinden etkilenmemesi için çalışmamızda 3 haftalık sıçanları seçtik. İlaçların plak üzerine etkileriyle alakalı net veriler elde etmek için histomorfolojik inceleme yaptık. Çalışmamız, literatürde antiepileptik ilaçların büyüme kıkırdağı üzerine etkileriyle ilişkili çalışma oldukça sınırlıyken, bu şekilde histomorfolojik inceleme açısından bizim bilgilerimiz dahilinde ilk çalışmadır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Merkezi (YÜDETAM) ile GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Laboratuvarlarında Mart 2013 ile Mayıs 2013 tarihleri arasında yapıldı.

Çalışmaya, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulunun 19.02.2013 tarih ve 309 sayılı onayı alınarak başlandı. Bütün ratlar aynı ortamda kaldı, annelerinden ayrıldı. Ratların su alımı serbest bırakıldı (Şekil 4). Çalışma ve sakrifikasyon öncesi tüm ratların ağırlığı ölçüldü. Herbiri üç haftalık sekiz Wistar rattan oluşan üç grup oluşturularak:

- 1- Grup 1; 2 hafta süreyle 600 mg/kg/gün dozundan gavajla oral olarak valproik asit (Depakin oral solüsyon/200 mg/ml, Sanofi-Aventis),
- 2- Grup 2; 150 mg/kg/gün dozundan levetirasetam (Keppra 100 mg/ml, UCB Pharma)
- 3- Grup 3; 0,1 cc/gün %0,9 NaCl uygulandı.

İki haftalık uygulamadan sonra dekapite edilen ratların büyüme plakları alındı.



Şekil 3. Ratların yaşadığı ortam

### 3.1. Büyüme Plaklarının Alınması

Ratlar 2 haftalık ilaç uygulaması sonrası dekapitasyonla sakrifiye edildi. Sağ ve sol tibialar dekapitasyondan hemen sonra büyüme plakları incelenmek üzere çıkarıldı (Şekil 8). Tibialar %10'luk formaldehit içinde tespit

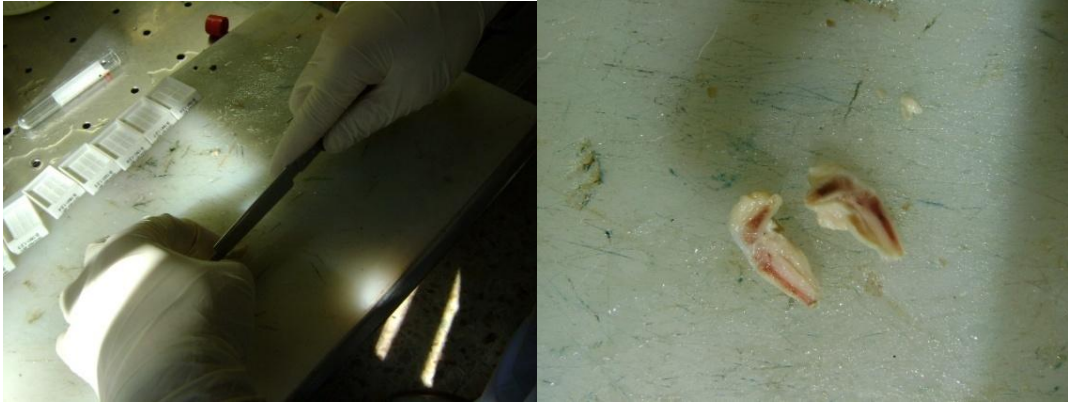
edildi (Şekil 9). Daha sonra ratların sağ ve sol tibialarına sagittal kesi yapıldı (Şekil 10). Doku takip işleminden sonra preparatlar parafin bloklarda saklandı.



Şekil 4. Dekapitasyon sonrası alınan rat tibiaları



Şekil 5. Formaldehit içinde fikse edilmiş rat tibiaları



Şekil 6. Tibialara sagittal kesi uygulanması

### 3.2. Büyüme Plaklarının İncelenmesi

Ratlara ait preparatlar GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Laboratuvarı tarafından hazırlanarak incelendi. Patolog çalışma öncesinde çalışmanın amacı ve gruplar hakkında bilgi sahibi değildi. Preparatlardan dört µm kalınlığında kesitler alınıp Hematoksilen&Eosin ile boyandı. Materyal yüksek rezolüsyonlu mikroskop (Nikon Eclipse E600) altında incelenerek üç farklı yerden zonal ölçüm yapılacak şekilde (Nikon E5400 kamera ile) görüntü alındı (Şekil 12,13,14). Elde edilen görüntüler zon ölçüm analizi için bilgisayarlı ortama aktarıldı.

### **3.3. Büyüme Plağı Uzunluğu ve Zonların Ölçümü**

Boyama sonrasında tibia büyüme plağının zonları ölçüldü. Resting (dinlenme) zon sekonder ossifikasyon merkezinden kondrositlerin kolumnar yapıya dönüştükleri yere kadar ölçülerek kaydedildi. Proliferasyon zonu kolumnar kondrositlerin başlangıcından basık olduğu yere kadar ölçüldü. Hipertrofik zon basık kondrositlerden primer ossifikasyon merkezinin proksimaline kadar ölçüldü. Vertikal bir çizgi çekilerek zon uzunlukları ölçüldü. Büyüme plağının toplam uzunluğu primer ve sekonder ossifikasyon merkezleri arasındaki mesafenin toplamı olarak belirlendi (13). Büyüme plağı zonlarının ölçümü, ACD See Photo Editor 2008 (ACD Systems International, USA) programı kullanılarak bilgisayar ortamında yapıldı ve sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Araştırmada, anket uygulaması ile elde edilen ham bilgilerin veri haline dönüştürülmesi ve analizi için IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 20 istatistik yazılım paket programı kullanılmıştır. Verilerin analizi yapılırken tanımlayıcı istatistiklerden aritmetik ortalama, standart sapma, minimum, maksimum kullanılmıştır.

Araştırma verilerinin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ve grafiksel gösterimlerle bakılmıştır. Verilerden ağırlık normal dağılıma uygunluk göstermediği için Kruskal Wallis ve Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

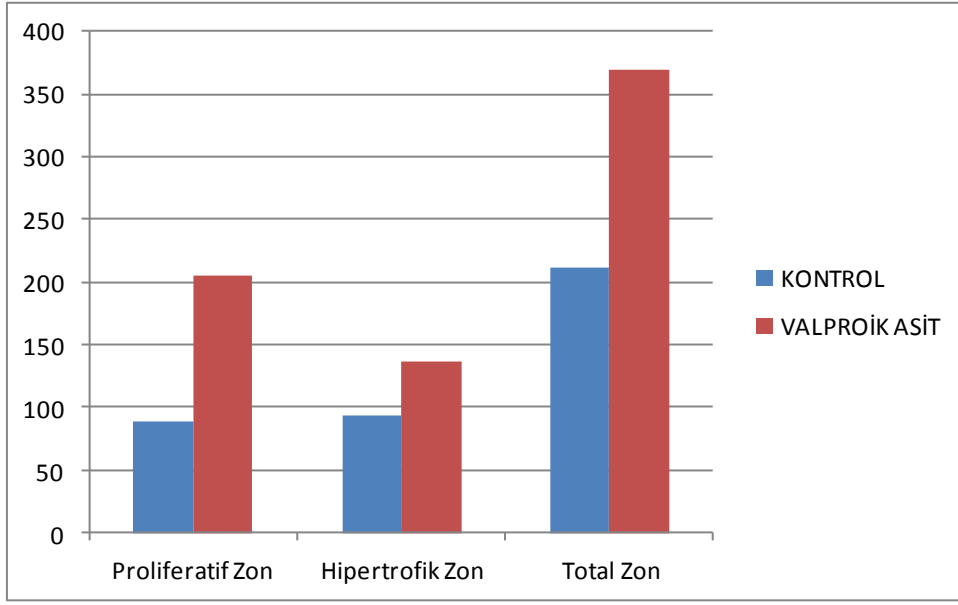
## BULGULAR

Çalışmaya katılan ratlar her üç grupta da 4 erkek 4 dişi olmak üzere 8 rattan oluşmaktaydı. Ratların, yaşam ortamları, başlangıç ve çalışma sonundaki kiloları arasında bir fark gözlenmedi. Çalışma başlangıcında valproik asit grubunda ratların ortalama ağırlıkları; 45,8 +/- 2,3 gr, levetirasetam grubunda ratların ortalama ağırlıkları; 47,56 +/-1.4 gr ve kontrol grubundaki ratların ortalama ağırlıkları; 44, 4 ± 1,9 gr olarak ölçüldü. Çalışma sonunda valproik asit grubunda ratların ortalama ağırlıkları; 74,8 +/- 2,2 gr, levetirasetam grubunda ratların ortalama ağırlıkları; 77,6 +/-3.4 gr ve kontrol grubundaki ratların ortalama ağırlıkları; 84, 2 +/- 4,9 gr olarak ölçüldü. Çalışmada ağırlık takipleri ve histomorfolojik ölçümler açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Çalışmaya katılan 3 grup arasında proliferatif zon, hipertrofik zon ve total zon ile bu değişkenlerin oranlarının farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Üç grup arasında resting zon değişkeninin farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,815$ ).

Grup	Resting Zon	Proliferatif Zon	Hipertrofik Zon	Total Zon	Oran1 Rest. /Tot.	Oran 2 Pro. /Tot.	Oran 3 Hiper./ Tot.
Kontrol (N=8)	27,7±9,3	89,2±21	93,6±21,2	210,7±41,9	0,13	0,42	0,44
VPA (N=8)	28,8±11,9	205±56,9	136±28,1	369,88±71,4	0,08	0,55	0,37
LEV (N=8)	27,1±7,6	120,8±17,9	123±23,5	283,5±84,7	0,10	0,45	0,45

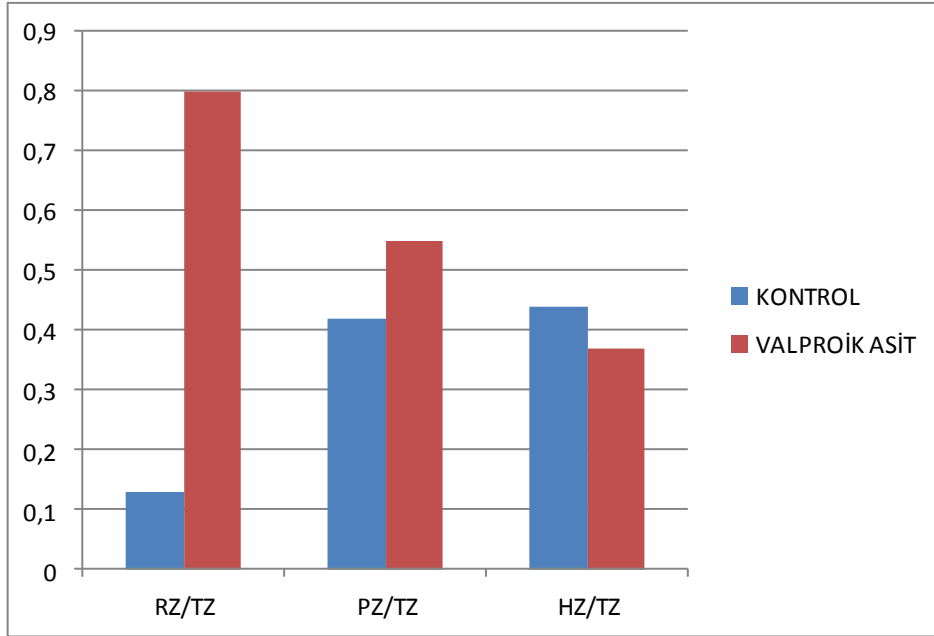
Kontrol grubu ve valproik asit grubu arasında proliferatif zon, hipertrofik zon ve total zon ile bu değişkenlerin oranları, resting zon oranları açısından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Valproik asit alan grupta büyüme kıkırdağı anlamlı oranda genişlemiş saptandı



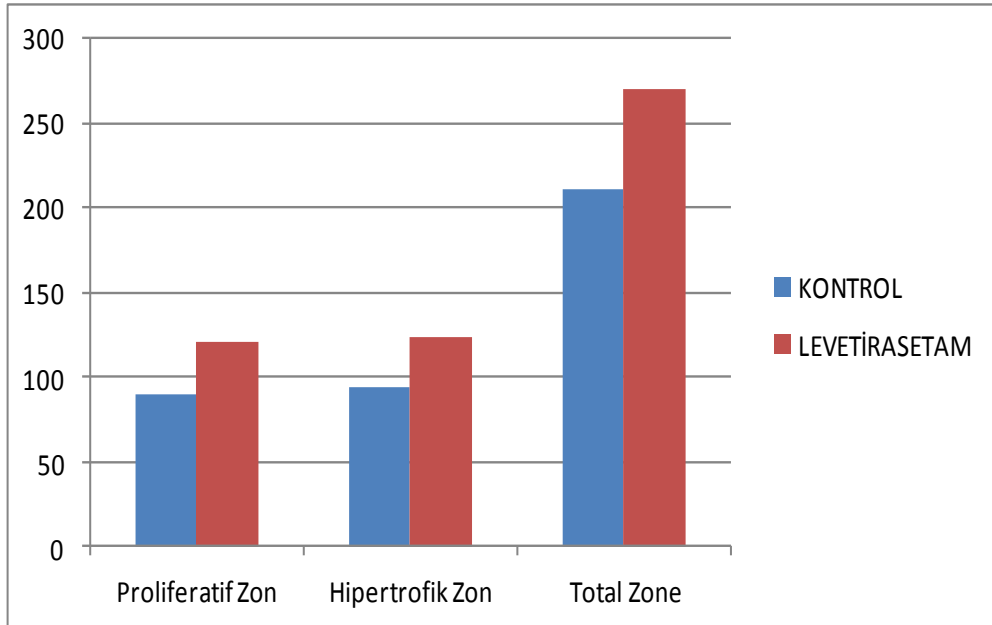
Şekil 7. Kontrol grubu ile valproik asit grubunun zon uzunluklarının karşılaştırılması

Valproik asit verilen grupta proliferatif zon, hipertrofik zon ve total zon uzunlukları ile bu zonların total zona oranları kontrol grubuna oranla istatistiksel anlamlı derece daha yüksek saptandı ( $p < 0,05$ ). Valproik asit verilen grupta plakta özellikle genişlemeden sorumlu proliferatif ve hipertrofik zonun total zona oranları da anlamlı derecede yüksek saptandı. Valproik asit verilen grupta kontrol grubuna göre resting zonun uzunluğu açısından anlamlı fark yokken, resting zonun total zona oranı kontrol grubuna anlamlı derecede düşük bulundu ( $p < 0,05$ ).

Levetirasetam verilen grup ile kontrol grubu arasında proliferatif zone, hipertrofik zone ve total zone açısından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Levetirasetam verilen grupta proliferatif zon, hipertrofik zon ve total zonun uzunlukları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanırken bu zonların total zona oranları arasında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmadı. Levetirasetam verilen grupta büyüme kıkırdağı kontrol grubuna göre anlamlı derecede genişlemiş olarak saptandı.

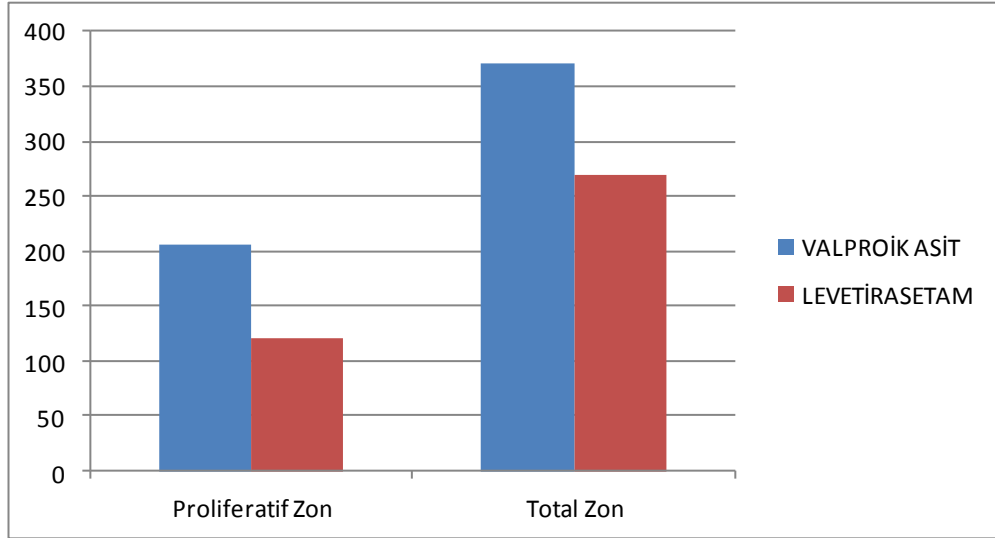


Şekil 8. Kontrol grubu ile valproik asit grubu arasındaki zonların total zona oranlarının karşılaştırılması



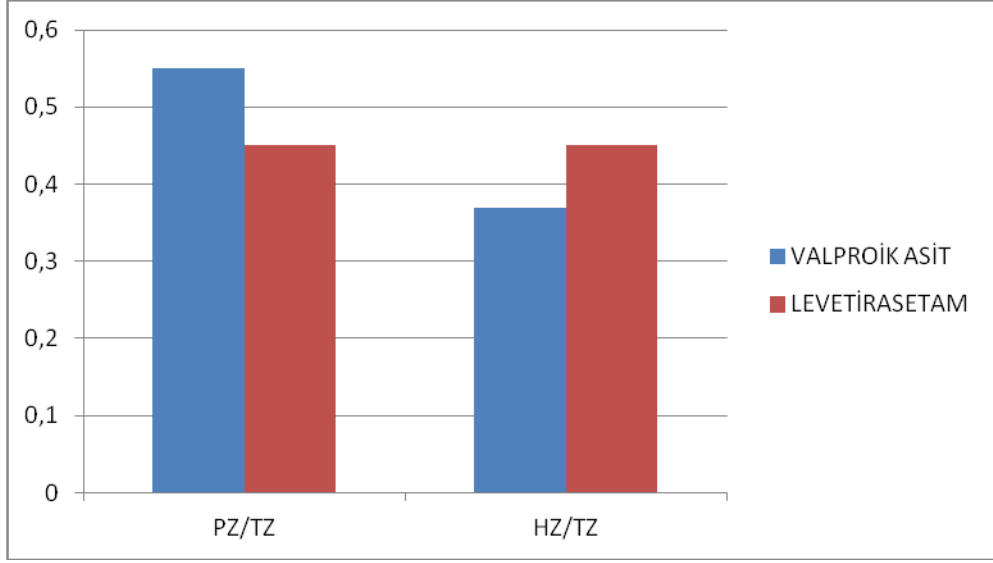
Şekil 9. Kontrol grubu ile levetirasetam grubunun zon uzunluklarının karşılaştırılması

Valproik asit ve levetirasetam verilen gruplar karşılaştırıldıklarında; valproik asit verilen grupta proliferatif zon ve total zon uzunluğu levetirasetam verilen gruba göre anlamlı derecede yüksek saptandı ( $p<0,05$ ). Bu iki antiepileptiğin büyüme kıkırdağında yaptığı genişleme valproik asit alan grupta daha belirgin olarak gözlemlendi.



Şekil 10. Valproik asit grubu ile levetirasetam grubunun zon uzunluklarının karşılaştırılması

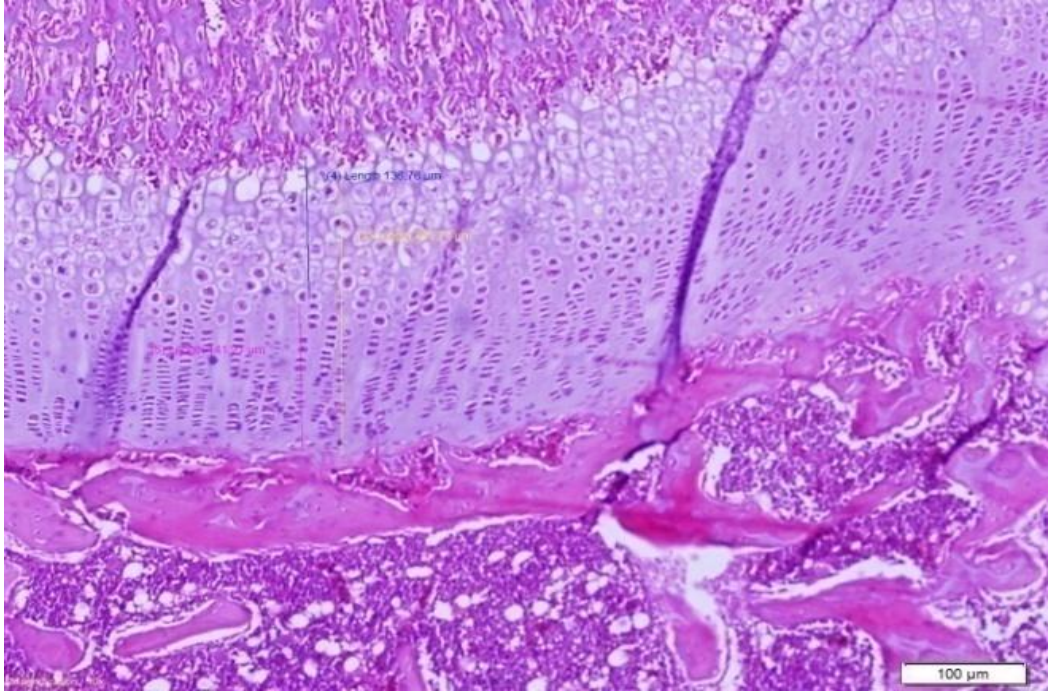
Yine valproik asit verilen grupta proliferatif zonun total zona oranı levetirasetam verilen gruba göre anlamlı derecede yüksek, hipertrofik zonun total zona oranı ise levetirasetam verilen gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0,05$ ).



Şekil 11. Valproik asit grubu ile levetirasetam grubu arasında; zonların total zona oranlarının karşılaştırılması

Tablo 4. Grupların birbirleri arasındaki farklar

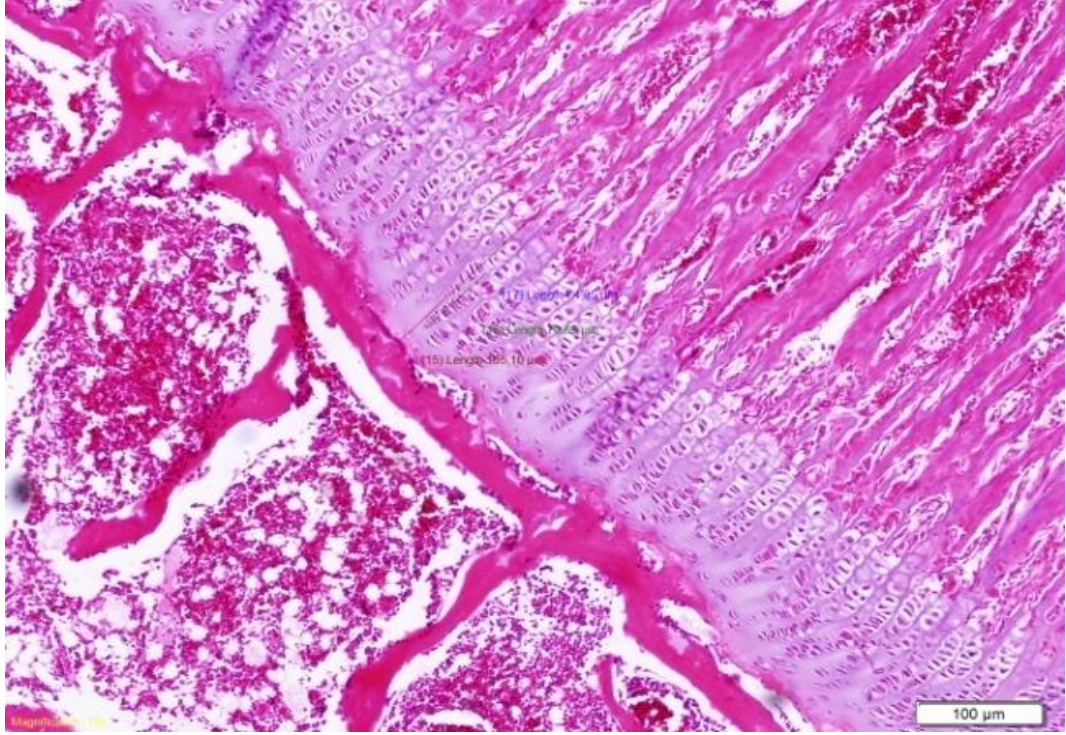
	<i>Kontrol/Valproik asit</i>	<i>Kontrol/Levetirasetam</i>	<i>Valproik asit/Levetirasetam</i>
<i>Resting Zon</i>	0,494	0,833	0,752
<i>Proliferatif Zon</i>	<b>0,001*</b>	<b>0,009*</b>	<b>0,005*</b>
<i>Hipertrofik Zon</i>	<b>0,005*</b>	<b>0,009*</b>	0,171
<i>Total Zon</i>	<b>0,001*</b>	<b>0,012*</b>	<b>0,018*</b>
<i>Oran 1</i>	<b>0,027*</b>	0,059	0,294
<i>Oran 2</i>	<b>0,002*</b>	0,093	<b>0,003*</b>
<i>Oran 3</i>	<b>0,036*</b>	0,400	<b>0,021*</b>



Şekil 12. Valproik asit grubunda büyüme plağı (x 100 büyütme)



Şekil 13. Levetirasetam grubunda büyüme plağı (x 100 büyütme)



Şekil 14. Kontrol grubunda büyüme plağı (x 100 büyütme)

## TARTIŞMA

Bu çalışmamızda antiepileptik ilaçların infant ratların büyüme kıkırdağı üzerine etkilerini araştırdık. Valproik asit ve levetirasetam alan grupta kontrol grubuna oranla büyüme kıkırdağında resting zon dışında proliferatif zon, hipertrofik zon ve total zonun daha genişlemiş olduğunu saptadık. Ayrıca valproik asit alan grupta proliferatif zon ve hipertrofik zonun total zona oranlarının da kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemledik.

Büyüme kıkırdağı farklılaşması, kemik dokuya dönüşmesi ve kapanması üzerine birçok hormon ve büyüme faktörünün etkili olduğu iyi bilinmektedir. Antiepileptik ilaçların kemik metabolizması üzerine olumsuz etkileri olduğu gibi osteoblast-osteoklast fonksiyonlarını bozarak, hormonlar ve büyüme faktörlerini üzerinden de etki ederek büyüme plağı üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. El-Khayat ve arkadaşlarının valproik asit kullanan epilepsi hastası çocuk ve adolesanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, çocukların boyları kontrol grubuna göre daha kısa saptanmış. Ayrıca bazal GH ve IGF-1 seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmazken uyarılmış GH ve IGF-1 seviyeleri açısından tedavi alan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüklük gözlenmiş. (76) Güngör ve arkadaşları da valproik asit kullanan pre-pubertal dönemdeki çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada, tedavi alan grupta kontrol grubuna göre IGF-1, IGFBP-3 seviyelerinde anlamlı düşüş saptamış. (77) Apak ve arkadaşlarının valproik asit kullanan pre-pubertal çocuklarda yaptığı çalışmada, tiroksin seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma gözlenmiş. (80) Kesim ve arkadaşlarının, monoterapi alan epileptik hastalar üzerinde yaptıkları, antiepileptik ilaçların tiroid fonksiyonları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada; levetirasetam alan grupta TSH (açık) düzeyinde anlamlı düşme saptanırken, valproik asit alan grupta tiroksinde azalma ve TSH da artış saptanmış. (85) Büyüme plağını histomorfolojik olarak inceleyip zon ölçümlerini yaptığımız çalışmamızda kantitatif hormonal analiz yerine büyümenin etkilenmesini farklı bir açıdan değerlendirmiş olduk. Bu konu çalışmamızın bir limitasyonu gibi görünse de konuya farklı bir yorum

getirmesi açısından değerlendirilebilir. Çalışmamızın sonucunda ratlara verdiğimiz valproik asit ve levetirasetamın büyüme kıkırdağını genişlettiğini saptadık.

Antiepileptik ilaçların büyüme plağı üzerine direkt etkilerini araştıran çalışma sayısı oldukça sınırlıydı. Robinson ve arkadaşları değişik antiepileptik ilaçlar alan hastalarda parathormon seviyelerinde düşme ve bununla paralel olarak iskelet gelişiminde yavaşlama, epifizyal plağın erken kapanması, küçük ve bozuk diş yapısı gözlemlemiştirler. (72) Valproik asit, fenitoin ve karbamezepinin büyüme kıkırdağına etkisini değerlendiren benzeri bir çalışmada büyüme kıkırdağının ilaç verilen grupta kontrol grubuna göre daha ince olduğunu ve kondrosit sayısının da yine kontrol grubuna göre daha az olduğunu gözlemişler. (73) Biz valproik asit ve levetirasetamın büyüme kıkırdağı üzerine etkilerini değerlendirdiğimiz çalışmada hormonal bir analiz yapmadık fakat Robinson ve arkadaşlarının aksine valproik asidin büyüme kıkırdağını uzattığını gözlemledik.

Cansu ve arkadaşları boy uzaması ve büyüme hormon analizi yaptıkları çalışmalarında prepubertal çocuklarda valproik asit ve okskarbazepinin büyüme üzerine etkilerini değerlendirmişler. Okskarbazepinin IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyini arttırarak çocuklarda lineer büyümeyi stimüle ettiği, valproik asitin ise ghrelin seviyesini azalttığı fakat lineer büyüme üzerine etkisinin olmadığını saptamışlar. (86) Fakat bu çalışma klinik bir çalışma olup genetik ve beslenme gibi faktörlerin etkisini dışlamamakta, büyüme hormonlarının ve büyüme faktörlerinin serum seviyesinin artmasıyla varılan subjektif bir sonuç olarak kalmaktadır. Ayrıca büyüme kıkırdağı üzerine antiepileptiklerin etkileri ancak deneysel olarak gösterilebilir. Wu ve arkadaşları da valproik asidin kemiğin uzunlamasına büyümesi üzerine etkilerini araştırdıkları deneysel çalışmada, valproik asidin, kondrosit proliferasyonunu baskıladığı, büyüme kıkırdağındaki kartilaj formasyonunu bozarak uzunlamasına kemik büyümesini olumsuz etkilediğini gözlemlemiştirler. (74) Ancak bu çalışmada bizim yaptığımız şekilde büyüme kıkırdağı zon ölçümleri yapılmamış olup, hücre kültürü düzeyinde etkilenme araştırılmıştır.

Bilindiği üzere büyüme kıkırdağında kondroblastlar daha sonradan bölünmelerinin (proliferasyon fazı) durmasıyla farklılaşma dönemine geçer ve hipertrofik zonu oluştururlar. Bu aşamadaki hücreler farklılaşarak daha uzun (6-10 kat) hale gelirler ve bu durum uzunlamasına büyümenin en önemli fazıdır. Çalışmamızda valproik asit ve levetirasetamın büyüme plağında hem proliferatif zon hem de hipertrofik zonda uzamaya neden olarak plağı genişlettiğini gözlemledik. Uyguladığımız antiepileptikler büyüme kıkırdağını genişletmiş olsa da bu sonuç endokondral kemikleşme ve uzunlama kemik büyümesinin tüm basamaklarını yansıtmamaktadır. Hipertrofik zon hücreleri ekstrasellüler matriks ve kemik hücrelerinden ve vasküler yapılardan salınan endotelial büyüme faktörlerinin etkisinde, kalsifiye olarak kemik dokusuna dönüşmeye başlar. Ancak aynı zamanda birçok hipertrofik kondrosit kan damarlarıyla karşılaşmadan önce kısa sürede apoptozise uğrar. Resting zon hücresi proliferatif döneme girdikten sonra farklılaşmaya başlarlar. Son olarak apoptozis ve mineralizasyon gerçekleşir. Yaşlı ratlarda genç ratlara göre apoptozis daha belirgindir. Valproik asit ve özellikle levetirasetam caspaz-3 aktivitesini artırıp pro-apoptotik etki göstermektedir (84). Benzer bir çalışmada valproik asidin caspaz enzim kaskadını uyararak apoptozu uyardığı fakat levetirasetamın apoptoz üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (71). Yapılan invitro çalışmalarda yüksek fosfat içeriği olan kondrositlerde apoptotik aktivitenin artmış olduğu gösterilmiştir (49). Parathormonla ilişkili peptid (PTHrP) apoptozis inhibitörü olan Bcl-2'yi artırarak, apoptozisi inhibe eder. Glukokortikoidler fosfat gibi apoptoziste artışa yol açar. On gün boyunca glukokortikoidlerle tedavi edilmiş hayvanlarda, hipertrofik kondrositlerin apoptozis miktarında artış sonucu büyüme plağı genişliğinde azalma olduğu gösterilmiştir. Büyüme kıkırdağı üzerinde özellikle pubertal dönemde daha belirgin olmakla beraber glukokortikoidlerin ve seks hormonlarının da etkisi bulunmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda valproik asitin ratlarda CRH salınımını azalttığı gözlenmiştir (78). Valproik asit ve levetirasetamın steroidogenezis üzerine etkilerinin araştırıldığı başka çalışmada, valproik asitin steroidogenezde önemli promotör genlerin ekspresyonunu ve özellikle östradiol üretimini belirgin azalttığı,

levetirasetamın etkilerinin daha sınırlı olduğu sonucuna varılmıştır (79). Bu yüzden çalışmamızı pubertal döneme ait hormonal etkilerden arındırmak amacıyla infant dönemdeki ratlar üzerinde yaptık.

Valproik asit ve levetirasetamın büyüme kıkırdağı üzerine net etkilerini gösteren çalışma sayısı fazla olmamakla beraber endokondral kemikleşme üzerine literatürde tanımlanmış önemli yan etkileri bilinmektedir. Bununla beraber yapılan çalışmalar antiepileptik ilaçların büyüme kıkırdağı ve endokondral kemikleşme üzerine olumsuz etkilerinin plağın zonlarında meydana gelen değişiklik, hormonal etkiler ve apoptotik süreçle sınırlı olmadığını da göstermektedir. Valproik asit osteoblast ve osteoklast aktivitesini inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu artırır ve kemik mineralizasyonunu bozar. (67, 68, 69) Farhat ve arkadaşları enzim indüksiyonu yapan ve yapmayan antiepileptik ilaçların etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, Vitamin D seviyeleri ile kemik mineral dansitelerinin korele olmadığı, sonuç olarak da antiepileptik ilaçların kemik doku üzerindeki olumsuz etkilerini kalsiyum metabolizması yanında osteoblast-osteoklast fonksiyonlarını inhibe ederek gösterdiklerini belirtmişler. (70) Valproik asit gibi levetirasetamın da osteokalsin seviyesini azaltarak kemik dokunun formasyonunu bozmakta ve femur boynu gibi kıkırdak doku ve trabeküler kemikten zengin bölgelerde mineralizasyonu inhibe ederek endokondral kemikleşmeyi azaltmaktadır. (82) Yine levetirasetamın endokondral kemikleşmeyi azaltıp, epifizyel plağın mikrostrüktürel yapısına olumsuz etkisinin özellikle prepubertal dönemdeki ratlar üzerinde daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. (83) Çalışmamızda valproik asit ve levetirasetamın büyüme plağını genişlettiğini gözlemledik. Ancak bu etkinin endokondral kemikleşmenin son basamağında genişleyen kıkırdak dokunun mineralizasyonunda azalmaya bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Literatürde daha önce kemik metabolizması, kalsiyum ve fosfor düzeyleriyle alakalı birçok çalışma olduğu için çalışmamızda bu verileri tekrar analiz etmek istemedik. Apoptoz boyası büyüme hormonu, IGF-1, IGFBP-3, parathormon, tiroid hormonları gibi büyüme faktörlerinin analiz edilmemesi çalışmamızın etkinliğini kısıtlamaktadır. Antiepileptik ilaçların büyüme plağı ve

uzunlamasına kemik büyümesi üzerine etkilerini daha net olarak ortaya koymak için hormonal faktörlerin ve apoptozun olası etkilerini birlikte değerlendirmek gerekmektedir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Epilepsi çocuklarda en sık görülen nörolojik hastalıktır ve tedavide antiepileptik ilaçlar tüm dünyada oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Zamanla bu ilaçların yan etkilerini tanımlayan çalışmalar yapılmakta ve çocuklar gibi büyüyen ve gelişen organizmalarda bu ilaçların seçimi gittikçe daha çok önem kazanmaktadır.

Biz yaptığımız çalışmayla çocukluk çağı epilepsilerinde oldukça sık kullanılan geniş spektrumlu valproik asit gibi eski kuşaktan ve levetirasetam gibi yeni kuşaktan iki antiepileptik ilacın büyüme ve hedef boy üzerine etkilerini deneysel olarak araştırmayı amaçladık. Bulduğumuz sonuçlara göre valproik asit ve levetirasetam büyüme plağında kontrol grubuna göre uzamaya neden olmakta ve bu durum aslında baştan kurduğumuz hipotezle çelişecek şekilde anlamlı olmakla beraber endokondral kemikleşme ve uzunlama kemik büyümesinin tüm basamaklarını yansıtmamaktadır.

Çalışmamız sadece büyüme plağının zonlarını değerlendirmeye yönelik sınırlı bir analiz imkanı vermektedir. İleriye dönük olarak, çalışmamızda kullandığımız yöntemin yanında büyüme ve kemikleşme üzerine etkili hormonlar ile reseptörlerini ve apoptoz sürecini analiz edecek çalışmalarla daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Böylelikle kullanılan ilaçlarda değişiklik yada bu olumsuz etkileri azaltacak ek tedbirler alınabilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Rowland, L.P., *Merrit's Neurology*. Lippincott Williams & Wilkins. 11 th Ed. 2005; 990.
2. Eşkazan E, Tarihte epilepsi ve Epileptolojinin kısa tarihçesi, *Epilepsi*, ed.Yeni, S.N., Bora, İ., Gürses, C., Nobel Tıp kitapevleri, 2008; 3-10
3. Reynolds, E.H., Milestones in epilepsy. *Epilepsia*, 2009; 50(3):338-42.
4. Engel, J. , Pedley, T., *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. 2 th Ed. 2008; 45-54.
5. Yeni S.N., Epilepsi insidansı prevalansı ve risk faktörleri, *Epilepsi*,ed.Yeni, S. N., Bora, İ., Gürses, C., Nobel Tıp kitapevleri, 2008; 65-71.
6. Bradley, W.G., Daroff, R.B., Finechel, G.M., Jankovic, J., *Neurology in Clinical Practice*. Butterworth Heinemann. 4 th Ed. 2004; 1954.
7. Wyllie, E., Gupta, A., Lachhwani, D.K., *The Treatment of Epilepsy. Principles & Practice* . Lippincott Williams & Wilkins. 4 th Ed. 2006; 110, 243.
8. Ropper, A.H., Brown, R.H., *Adams and Victor's. Principles of Neurology*. McGraw-Hill Medical Publishing Division. 8 th Ed. 2005; 270-83.
9. Aktekin, B., Kayrak, N., Epilepsilerde sınıflandırma çalışmaları, *Epilepsi*, ed. Yeni,S.N., Bora, İ., Gürses, C., Nobel Tıp kitapevleri. 2008; 89-102.
10. Loescher W. Valproic acid: mechanisms of action. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, et al., editors. Antiepileptic drugs. 5th ed. New York: Lippincott Williams&Wilkins, 2002: 767-79
11. Marson A, Jacoby A, Johnson A: MESS Study Group. Immediate versus deferred antiepileptic drug treatment for early epilepsy and single seizures: a randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 2007–2013.
12. Brodie MJ, French JA: Management of epilepsy in adolescents and adults. *Lancet*. 2000; 356: 323-329.
13. Halford JJ, Lapointe M: Clinical perspectives on lacosamide. *Epilepsy Curr*. 2009; 9(1): 1-9.
14. Bootsma HP, Ricker L, Diepman L, Gehring J, Hulsman J, Lambrechts D, et al. Levetiracetam in clinical practice: long-term experience in patients with refractory, epilepsy referred to tertiary epilepsy center.

- Epilepsy Behav. 2007 Mar; 10: 296-303
15. Deepa S, Joseph ES. The safety of levetiracetam. *Expert Opin. Drug Saf.* (2007) 6:3 241-250
  16. Ballock RT, O'Keefe RJ. Physiology and pathophysiology of the growth plate, *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2003 May;69(2):123-43.
  17. Burdan F, Szumiło J, Korobowicz A, Farooquee R, Patel S, Patel A, Dave A, Szumiło M, Solecki M, Klepacz R, Dudka J. Morphology and physiology of the epiphyseal growth plate, *Folia Histochem Cytobiol.* 2009;47(1):5-16.
  18. Atabek ME, Pirgon O, Kurtoglu S, Tavli L, Esen HH, Koylu O, Erkul I, Effects of phototherapy on the growth plate in newborn rats, *J Pediatr Orthop.* 2006 Jan-Feb;26(1):144-7.
  19. Melrose J, Smith SM, Smith MM, Little CB, The use of Histochoice for histological examination of articular and growth plate cartilages, intervertebral disc and meniscus, *Biotech Histochem.* 2008 Feb;83(1):47-53.
  20. Provot S, Schipani E, Fetal growth plate: a developmental model of cellular adaptation to hypoxia, *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Nov;1117:26-39.
  21. Mau E, Whetstone H, Yu C, Hopyan S, Wunder JS, Alman BA, PTHrP regulates growth plate chondrocyte differentiation and proliferation in a Gli3 dependent manner utilizing hedgehog ligand dependent and independent mechanisms, *Dev Biol.* 2007 May 1;305(1):28-39.
  22. Erenpreisa J, Roach HI, Aberrations of cell cycle and cell death in normal development of the chick embryo growth plate, *Mech Ageing Dev.* 1999 May 17;108(3):227-38.
  23. DeLise AM, Fischer L, Tuan RS, Cellular interactions and signaling in cartilage development, *Osteoarthritis Cartilage.* 2000 Sep;8(5):309-34.
  24. Wezeman FH, Morphological foundations of precartilage development in mesenchyme, *Microsc Res Tech.* 1998 Oct 15;43(2):91-101.
  25. Chimal-Monroy J, Díaz de León L, Expression of N-cadherin, N-CAM, fibronectin and tenascin is stimulated by TGF-beta1, beta2, beta3 and beta5

- during the formation of precartilaginous condensations, *Int J Dev Biol.* 1999 Jan;43(1):59-67.
26. Baserga R, Rubin R, Cell cycle and growth control, *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 1993;3(1):47-61.
  27. Huang W, Zhou X, Lefebvre V, de Crombrughe B, Phosphorylation of SOX9 by cyclic AMP-dependent protein kinase A enhances SOX9's ability to transactivate a Col2a1 chondrocyte-specific enhancer, *Mol Cell Biol.* 2000 Jun;20(11):4149-58.
  28. Zhang P, Jimenez SA, Stokes DG, Regulation of human COL9A1 gene expression. Activation of the proximal promoter region by SOX9, *J Biol Chem.* 2003 Jan 3;278(1):117-23.
  29. Akiyama H, Chaboissier MC, Martin JF, Schedl A, de Crombrughe B, The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6, *Genes Dev.* 2002 Nov 1;16(21):2813-28.
  30. Eames BF, de la Fuente L, Helms JA, Molecular ontogeny of the skeleton, *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2003;69:93-101
  31. Lefebvre V, Smits P, Transcriptional control of chondrocyte fate and differentiation, *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2005 Sep;75(3):200-12.
  32. Abad V, Meyers JL, Weise M, Gafni RI, Barnes KM, Nilsson O, Bacher JD, Baron J, The role of the resting zone in growth plate chondrogenesis, *Endocrinology.* 2002 May;143(5):1851-7.
  33. Johnstone EW, Leane PB, Kolesik P, Byers S, Foster BK, Spatial arrangement of physal cartilage chondrocytes and the structure of the primary spongiosa, *J Orthop Sci.* 2000;5(3):294-301.
  34. Kember NF, Cell population kinetics of bone growth: the first ten years of autoradiographic studies with tritiated thymidine, *Clin Orthop Relat Res.* 1971 May;76:213-30.

35. Hunziker EB, Mechanism of longitudinal bone growth and its regulation by growth plate chondrocytes, *Microsc Res Tech*. 1994 Aug 15;28(6):505-19.
36. Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N, VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation, *Nat Med*. 1999 Jun;5(6):623-8.
37. Farnum CE, Wilsman NJ, Cellular turnover at the chondro-osseous junction of growth plate cartilage: analysis by serial sections at the light microscopical level, *J Orthop Res*. 1989;7(5):654-66.
38. Gafni RI, Weise M, Robrecht DT, Meyers JL, Barnes KM, De-Levi S, Baron J, Catch-up growth is associated with delayed senescence of the growth plate in rabbits, *Pediatr Res*. 2001 Nov;50(5):618-23.
39. Ballock RT, O'Keefe RJ, The biology of the growth plate, *J Bone Joint Surg Am*. 2003 Apr;85-A(4):715-26.
40. Smits P, Dy P, Mitra S, Lefebvre V, Sox5 and Sox6 are needed to develop and maintain source, columnar, and hypertrophic chondrocytes in the cartilage growth plate, *J Cell Biol*. 2004 Mar 1;164(5):747-58.
41. Takeda S, Bonnamy JP, Owen MJ, Ducy P, Karsenty G, Continuous expression of Cbfa1 in nonhypertrophic chondrocytes uncovers its ability to induce hypertrophic chondrocyte differentiation and partially rescues Cbfa1-deficient mice, *Genes Dev*. 2001 Feb 15;15(4):467-81.
42. Ahmed YA, Tatarczuch L, Pagel CN, Davies HM, Mirams M, Mackie EJ, Physiological death of hypertrophic chondrocytes, *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 May;15(5):575-86. Epub 2006 Dec 13.
43. Solomon LA, Bérubé NG, Beier F, Transcriptional regulators of chondrocyte hypertrophy, *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2008 Jun;84(2):123-30.
44. Pucci B, Adams CS, Fertala J, Snyder BC, Mansfield KD, Tafani M, Freeman T, Shapiro IM, Development of the terminally differentiated state sensitizes epiphyseal chondrocytes to apoptosis through caspase-3 activation, *J Cell Physiol*. 2007 Mar;210(3):609-15.

45. Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli FR, Mocetti P, Di Grezia R, Wedard BM, Angelucci L, Bonucci E, Evaluation of apoptosis and the glucocorticoid receptor in the cartilage growth plate and metaphyseal bone cells of rats after high-dose treatment with corticosterone, *Bone*. 2000 Jan;26(1):33-42.
46. Pateder DB, Eliseev RA, O'Keefe RJ, Schwarz EM, Okunieff P, Constine LS, Puzas JE, Rosier RN, The role of autocrine growth factors in radiation damage to the epiphyseal growth plate, *Radiat Res*. 2001 Jun;155(6):847-57.
47. Hilton MJ, Tu X, Long F, Tamoxifen-inducible gene deletion reveals a distinct cell type associated with trabecular bone, and direct regulation of PTHrP expression and chondrocyte morphology by *Ihh* in growth region cartilage, *Dev Biol*. 2007 Aug 1;308(1):93-105.
48. St-Jacques B, Hammerschmidt M, McMahon AP, Indian hedgehog signaling regulates proliferation and differentiation of chondrocytes and is essential for bone formation, *Genes Dev*. 1999 Aug 15;13(16):2072-86.
49. Sakamoto A, Chen M, Nakamura T, Xie T, Karsenty G, Weinstein LS, Deficiency of the G-protein alpha-subunit G(s)alpha in osteoblasts leads to differential effects on trabecular and cortical bone, *J Biol Chem*. 2005 Jun 3;280(22):21369-75.
50. Sakamoto A, Chen M, Kobayashi T, Kronenberg HM, Weinstein LS, Chondrocyte-specific knockout of the G protein G(s)alpha leads to epiphyseal and growth plate abnormalities and ectopic chondrocyte formation, *J Bone Miner Res*. 2005 Apr;20(4):663-71.
51. Chung UI, Schipani E, McMahon AP, Kronenberg HM, Indian hedgehog couples chondrogenesis to osteogenesis in endochondral bone development, *J Clin Invest*. 2001 Feb;107(3):295-304.
52. Kirn-Safran CB, Gomes RR, Brown AJ, Carson DD, Heparan sulfate proteoglycans: coordinators of multiple signaling pathways during chondrogenesis, *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2004 Mar;72(1):69-88.

53. Lai LP, Mitchell J, Beta2-adrenergic receptors expressed on murine chondrocytes stimulate cellular growth and inhibit the expression of Indian hedgehog and collagen type X, *J Cell Biochem.* 2008 May 15;104(2):545-53.
54. Schipani E, Lanske B, Hunzelman J, Luz A, Kovacs CS, Lee K, Pirro A, Kronenberg HM, Jüppner H, Targeted expression of constitutively active receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide delays endochondral bone formation and rescues mice that lack parathyroid hormone-related peptide, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Dec 9;94(25):13689-94.
55. Schipani E, Langman CB, Parfitt AM, Jensen GS, Kikuchi S, Kooh SW, Cole WG, Jüppner H, Constitutively activated receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide in Jansen's metaphyseal chondrodysplasia, *N Engl J Med.* 1996 Sep 5;335(10):708-14.
56. Shao YY, Wang L, Ballock RT, Thyroid hormone and the growth plate, *Rev Endocr Metab Disord.* 2006 Dec;7(4):265-71.
57. Wang L, Shao YY, Ballock RT, Thyroid hormone interacts with the Wnt/beta-catenin signaling pathway in the terminal differentiation of growth plate chondrocytes, *J Bone Miner Res.* 2007 Dec;22(12):1988-95.
58. Ballock RT, Mink LM, Chen DH, Mita BC, Thyroid hormone regulates terminal differentiation of growth plate chondrocytes through local induction of bone morphogenic proteins, *Trans Orthop Res Soc.* 2000;25:160.
59. Van Vliet G, Larroque B, Bubuteishvili L, Supernant K, Léger J; Association of Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant, Sex-specific impact of congenital hypothyroidism due to thyroid dysgenesis on skeletal maturation in term newborns, *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 May;88(5):2009-13.
60. Stevens DA, Hasserjian RP, Robson H, Siebler T, Shalet SM, Williams GR, Thyroid hormones regulate hypertrophic chondrocyte differentiation and expression of parathyroid hormone-related peptide and its receptor during endochondral bone formation, *J Bone Miner Res.* 2000 Dec;15(12):2431-42.

61. Abu EO, Horner A, Teti A, Chatterjee VK, Compston JE, The localization of thyroid hormone receptor mRNAs in human bone, *Thyroid*. 2000 Apr;10(4):287-93.
62. Burch WM, Van Wyk JJ, Triiodothyronine stimulates cartilage growth and maturation by different mechanisms, *Am J Physiol*. 1987 Feb;252(2 Pt 1):E176-82.
63. Ohlsson C, Isgaard J, Törnell J, Nilsson A, Isaksson OG, Lindahl A, Endocrine regulation of longitudinal bone growth, *Acta Paediatr Suppl*. 1993 Sep;82 Suppl 391:33-40; discussion 41.
64. Wang Y, Nishida S, Sakata T, Elalieh HZ, Chang W, Halloran BP, Doty SB, Bikle DD, Insulin-like growth factor-I is essential for embryonic bone development, *Endocrinology*. 2006 Oct;147(10):4753-61.
65. Araki O, Ying H, Furuya F, Zhu X, Cheng SY, Thyroid hormone receptor beta mutants: Dominant negative regulators of peroxisome proliferator-activated receptor gamma action, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Nov 8;102(45):16251-6
66. Wang J, Zhou J, Bondy CA, Igf1 promotes longitudinal bone growth by insulin-like actions augmenting chondrocyte hypertrophy, *FASEB J*. 1999 Nov;13(14):1985-90.
67. Nissen-Meyer LS, Svalheim S, Taubøll E, Reppe S, Lekva T, Solberg LB, Melhus G, Reinholt FP, Gjerstad L, Jemtland R. Levetiracetam, phenytoin, and valproate act differently on rat bone mass, structure, and metabolism. *Epilepsia*. 2007 Oct;48(10):1850-60.
68. Sato Y, Kondo I, Ishida S, Motooka H, Takayama K, Tomita Y, Maeda H, Satoh K. Decreased bone mass and increased bone turnover with valproate therapy in adults with epilepsy *Neurology*. 2001 Aug 14;57(3):445-9.
69. Oner N, Kaya M, Karasalihoğlu S, Karaca H, Celtik C, Tütüncüler F. Bone mineral metabolism changes in epileptic children receiving valproic acid. *J Paediatr Child Health*. 2004 Aug;40(8):470-3.

70. Farhat G, Yamout B, Mikati MA, Demirjian S, Sawaya R, El-Hajj Fuleihan G. Effect of antiepileptic drugs on bone density in ambulatory patients. *Neurology*. 2002 May 14;58(9):1348-53.
71. Kwiecińska P, Taubøll E, Gregoraszczyk EL., Comparison of the effects of valproic acid and levetiracetam on apoptosis in the human ovarian cancer cell line OVCAR-3, *Pharmacol Rep*. 2012;64(3):603-14
72. Robinson PB, Harris M, Harvey W, Papadogeorgakis N., Reduced bone growth in rats treated with anticonvulsant drugs: a type II pseudohypoparathyroidism?, *Metab Bone Dis Relat Res*. 1982;4(4):269-75
73. Robinson PB, Harvey W, Belal MS., Inhibition of cartilage growth by the anticonvulsant drugs diphenylhydantoin and sodium valproate, *Br J Exp Pathol*. 1988 Feb;69(1):17-22
74. Wu S, Legido A, De Luca F., Effects of valproic acid on longitudinal bone growth, *J Child Neurol*. 2004 Jan;19(1):26-30
75. Borusiak P, Langer T, Heruth M, Karenfort M, Bettendorf U, Jenke AC, Antiepileptic drugs and bone metabolism in children: data from 128 patients, *J Child Neurol*. 2013 Feb;28(2):176-83
76. El-Khayat HA, Aly GS, Tomoum HY, Mamdouh RM, Al-Badani AK, Mohamed EI, Growth hormone levels in children and adolescents with epilepsy, *Eur J Paediatr Neurol*. 2010 Nov;14(6):508-12
77. Gungor S, Yücel G, Akinci A, Tabel Y, Ozerol IH, Yologlu S., The role of ghrelin in weight gain and growth in epileptic children using valproate, *J Child Neurol*. 2007 Dec;22(12):1384-8
78. Leśkiewicz M, Budziszewska B, Lasoń W, Endocrine effects of antiepileptic drugs, *Przegl Lek*. 2008;65(11):795-8
79. von Krogh K, Harjen H, Almås C, Zimmer KE, Dahl E, Olsaker I, Taubøll E, Ropstad E, Verhaegen S., The effect of valproate and levetiracetam on steroidogenesis in forskolin-stimulated H295R cells, *Epilepsia*. 2010 Nov;51(11):2280-8
80. İsmail A., Yusuf T., Muazzez S., Banu T., Antiepileptik ilaçların tiroid hormon düzeylerine etkisi, *Dicle Tıp Dergisi*, 2006, Cilt: 33, Sayı: 3, 145-152

81. Nissen-Meyer LS, Svalheim S, Taubøll E, Gjerstad L, Reinholt FP, Jemtland R., How can antiepileptic drugs affect bone mass, structure and metabolism? Lessons from animal studies, *Seizure*. 2008 Mar;17(2):187-91
82. Nissen-Meyer LS, Svalheim S, Taubøll E, Reppe S, Lekva T, Solberg LB, Melhus G, Reinholt FP, Gjerstad L, Jemtland R., Levetiracetam, phenytoin, and valproate act differently on rat bone mass, structure, and metabolism, *Epilepsia*. 2007 Oct;48(10):1850-60
83. Svalheim S, Taubøll E, Surdova K, Ormel L, Dahl E, Aleksandersen M, McNeilly A, Gjerstad L, Ropstad E., Long-term levetiracetam treatment affects reproductive endocrine function in female Wistar rats, *Seizure*. 2008 Mar;17(2):203-9
84. Taubøll E, Gregoraszczyk EL, Wojtowicz AK, Milewicz T., Effects of levetiracetam and valproate on reproductive endocrine function studied in human ovarian follicular cells, *Epilepsia*. 2009 Aug;50(8):1868-74
85. Özlem K, Monoterapi ile tedavi edilen epilepsi hastalarında tiroid fonksiyonlarının incelenmesi, *Tıpta Uzmanlık Tezi-2009*
86. Cansu A, Yesilkaya .E, Serdaroglu .A, Camurdan O. , Hirfanoglu TL., Karaoglu A., Bideci A., Cinaz P., The effects of oxcarbazepine and valproate therapies on growth in children with epilepsy *Endocr Res*. 2012;37(4):163-74
87. Genç FA, Farklı basınçlardaki hiperbarik oksijen tedavisinin yenidoğan ratların büyüme plağı üzerine etkileri, *Tıpta Uzmanlık Tezi-2011*

