

T.C
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DIŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

BEŞ FARKLI BİTKİ EKSTRESİNDEN ELDE EDİLEN KANAMA
DURDURUCU AJANIN (ANKAFERD) KEMİK YÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

HASAN ONUR ŞİMŞEK

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Şenol TÜZÜM

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 1775-D-09 Proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez. No:

2010-İSPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/08/2010

- Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Şenol TÜZÜM
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
- Üye : Prof. Dr. Doğan DOLANMAZ
Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
- Üye : Prof. Dr. Timuçin BAYKUL
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı
- Üye : Doç. Dr. H. Hüseyin YILMAZ
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı
- Üye : Yrd. Doç. Dr. Gülperi ŞANLI KOÇER
Süleyman Demirel Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi
Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu' nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Serpil DEMİRCİ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince emeğini, bilgisini, tecrübesini ve desteğini benden esirgemeyen başta değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. M. Şenol TÜZÜM'e,

Doktora eğitimde desteğini her an hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Timuçin BAYKUL'a

Doktora eğitimimde ve tez aşamasında bana destek olan tüm hocalarıma, asistan arkadaşlarıma ve S.D.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi klinik ve ameliyathane personeline,

Tez çalışmamın histomorfometrik incelemeleri yapan sayın Prof. Dr. Elif İnanç GÜRER, Dr. İbrahim BAŞSORGUN'a

Tez çalışmamın istatistiksel analizlerinde bana yardımcı olan sayın Arş. Gör. Dr. Şükran ÖZKAHRAMAN'a,

Çalışmama maddi destek sağlayan S.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Benimle birlikte bu zorlu dönemde bana destek olan, sevgisini ve sabrını esirgemeyen ve zorluklarla baş etmemde bana güç veren sevgili eşim Fevziye ÖZDEMİR ŞİMŞEK'e

Bana verdikleri destek için sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay Sayfası.....	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller Dizini	vii
Resimler Dizini	viii
Tablolar Dizini	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. KEMİK DOKUSU	2
2.1.1. Kemik Hücreleri.....	2
2.1.1.1. Osteoprogenitör Hücreler.....	2
2.1.1.2. Osteoblastlar.....	3
2.1.1.3. Osteoklastlar.....	3
2.1.1.4. Osteositler	4
2.1.2. Kemik Zarları	4
2.1.2.1. Periost.....	4
2.1.2.2. Endosteum.....	5
2.1.3. Kemik Tipleri	5
2.1.3.1. Birincil (Olgunlaşmamış-Örgü) Kemik Dokusu.....	5
2.1.3.2. İkincil (Olgunlaşmış-Lamelli) Kemik Dokusu	6
2.1.4. Kemik Matriksi	6
2.1.4.1 Organik Matriks	7
2.1.4.2 İnorganik Matriks.....	7
2.1.5. Kemik Oluşum Şekilleri.....	7
2.1.6. Kırık İyileşmesi.....	8
2.1.6.1. Enflamasyon Evresi	9
2.1.6.2. Tamir Evresi.....	9
2.1.6.3. Yeniden Şekillenme Evresi	10
2.2. HEMOSTAZ.....	11
2.2.1. Vazokonstrüksiyon.....	11
2.2.2. Trombositler ve Koagülasyon Sistemi	12
2.2.2.1. Primer Hemostaz Mekanizması	12
2.2.2.2. Sekonder Hemostaz Mekanizması	13
2.2.2.2.1. Ekstresek Yol	14
2.2.2.2.2. İntresek Yol.....	15
2.2.3. Fibrinolitik sistem	17
2.3. KANAMA KONTROLÜ.....	18
2.3.1 Lokal Hemostatik Ajanlar	19
2.4. ANKAFERD BLOOD STOPPER.....	26
2.4.1. Ankaferd Blood Stopper'in Bileşimi	26
2.4.1.1. Urtica Dioica (Isırgan Otu)	26
2.4.1.2. Vitis Vinifera (Üzüm)	27

2.4.1.3. Glycyrrhiza Glabra (Meyan)	27
2.4.1.4. Alphina Officinarum (Havlican)	28
2.4.1.5. Thymus Vulgaris (Kekik)	28
2.4.2. ABS'in etki mekanizması	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Gereç	30
3.2. Yöntem	30
3.2.1. Cerrahi Uygulamalar	30
3.2.2. Histomorfometrik İncelemeler	34
3.2.2.1. Fiksasyon ve Formalinden Arındırma İşlemi	34
3.2.2.2. Gümüş Boyama İşlemi	35
3.2.2.3. Dekalsifikasyon İşlemi	35
3.2.2.4. Doku Takip İşlemi	36
3.2.2.5. Bloklama İşlemi	36
3.2.2.6. Kesit Alma İşlemi	37
3.2.2.7. Hematoksilen Eozin Boyama İşlemi	38
3.2.2.8. Preperatları Kapama İşlemi	39
3.2.2.9. Histomorfometrik Değerlendirme	40
4.BULGULAR	44
5.TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	66
ÖZET	67
KAYNAKLAR	69
EKLER	75
Ek 1: Deneysel Hayvan Etik Kurul Belgesi	75
ÖZGEÇMİŞ	76

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
ABS	: Ankaferd Blood Stopper
ADE	: AMA Drug Evaluation
ADP	: Adenozin Difosfat
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Siklikadenozin Monofosfat
Cm	: Santimetre
H&E	: Hemotoksilen-Eozin
HCL	: Hidroklorik Asit
INR	: International Normalized Ratio (uluslararası normalleştirilmiş oran)
μm	: Mikrometre
μm^2	: Mikrometre kare
Md	: Mineralize Kemik
mg	: Miligram
mg/kg	: Miligram/kilogram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
O	: Osteoid
Ob	: Osteoblast
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat
p	: p değeri
PBS	: Tamponlu Fosfat Solüsyonu
PDR	: Physicians Desktop Reference
Sn	: Saniye
tb	: Trabeküler Kemik
yy	: Yüzyıl

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Pıhtılaşma mekanizması	13
Şekil 2: Pıhtılaşma mekanizmasını başlatan ekstrinsek yol	14
Şekil 3: Pıhtılaşma mekanizmasını başlatan intrinsek yol	16
Şekil 4: Fibrin yıkım sistemi	17
Şekil 5: Ankaferd Blood Stopper etki mekanizması	29

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Operasyon sahasının görünümü.....	31
Resim 2: Cilt insizyonu.....	31
Resim 3: Femur kemiğine ulaşmak için yapılan yumuşak doku diseksiyonu	32
Resim 4: Kemik kavitelerinin hazırlanması.....	32
Resim 5: Cilt altı dokuların suture edilmesi.....	33
Resim 6: Cildin suture edilmesi	33
Resim 7: Operasyon bölgesinin temizlenmesi	34
Resim 8: Otomatik kaset yazıcı cihazı (Thermo Shandon-Microwriter)	35
Resim 9: Otomatik doku takip cihazı (Thermo Shandon-Pathcenter)	36
Resim 10: Parafin blok içerisinde doku örneği	37
Resim 11: Mikrotom cihazı (Thermo Shandon-Rotary)	37
Resim 12: Etüv (Thermo Shandon-Heraeus Oven)	38
Resim 13: Otomatik boyama cihazı (Thermo shandon-Varistain XY).....	39
Resim 14: Otomatik preparat kapama cihazı (Theermo Shandon-Consul)	39
Resim 15: Axiocam cihazı (Zeiss Axiocam MRc)	40
Resim 16: 1 Grup 1 no'lu örneğe ait histolojik kesit.....	41
Resim 17: 2. Grup 6 no'lu örneğe ait histolojik kesit.....	41
Resim 18: 3. grup 23 no'lu örneğe ait histolojik kesit.....	42
Resim 19: 4. grup 22 no'lu örneğe ait histolojik kesit.....	42
Resim 20: 5. Grup 47 no'lu örneğe ait histolojik kesit.....	43
Resim 21: 6. Grup 60 no'lu örneğe ait histolojik kesit.....	43

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Kanama durdurucu ajanlar.....	24
Tablo 2: Grup 1 (7. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu).....	45
Tablo 3: Grup 2 (7. gün kontrol grubu)	45
Tablo 4: Grup 3 (28. Gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu).....	45
Tablo 5: Grup 4 (28. gün kontrol grubu)	46
Tablo 6: Grup 5 (42. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu).....	46
Tablo 7: Grup 6 (42. gün kontrol grubu)	46
Tablo 8: Grup 1 - Grup 2 Trabeküler kemik yüzey alanları ilişkisi.....	47
Tablo 9: Grup 1 - Grup 2 Medullar kemik çapları ilişkisi	47
Tablo 10: Grup 1 - Grup 2 Osteoid yüzey alanları ilişkisi.....	48
Tablo 11: Grup 1 - Grup 2 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi.....	48
Tablo 12: Grup 1 - Grup 2 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi	48
Tablo 13: Grup 1 - Grup 2 Histolojik skorlamaları ilişkisi.....	49
Tablo 14: Grup 3 - Grup 4 Trabeküler kemik yüzeyleri ilişkisi	49
Tablo 15:Grup 3 - Grup 4 Medullar kemik çapı ilişkisi.....	50
Tablo 16: Grup 3 - Grup 4 Osteoid yüzey alanları ilişkisi.....	50
Tablo 17: Grup 3 - Grup 4 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi.....	50
Tablo 18: Grup 3 - Grup 4 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi	51
Tablo 19: Grup 3 - Grup 4 Histolojik skorlamaları ilişkisi.....	51
Tablo 20: Grup 5 - Grup 6 Trabeküler kemik yüzeyleri ilişkisi	51
Tablo 21: Grup 5 - Grup 6 Medullar kemik çapları ilişkisi	52
Tablo 22: Grup 5 - Grup 6 Osteoid yüzey alanları ilişkisi.....	52
Tablo 23: Grup 5 - Grup 6 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi.....	52
Tablo 24: Grup 5 - Grup 6 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi	53
Tablo 25: Grup 5 - Grup 6 Histolojik skorlamaları ilişkisi.....	53
Tablo 26: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Trabeküler kemik yüzey alanları ilişkisi	54
Tablo 27: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Medullar kemik yüzey alanları ilişkisi.....	54
Tablo 28: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Osteoid yüzey alanları ilişkisi	55
Tablo 29: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi	55
Tablo 30: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi.....	56

1. GİRİŞ

Ağız, diş çene hastalıkları ve cerrahisi alanı en basit diş çekiminden, sert ve yumuşak dokularda meydana gelen lezyonların eksizyonuna, yüz bölgesinde meydana gelen travmalar sonucu oluşan kırıkların tedavisine veya preprotetik ve ortognatik cerrahi işlemlere kadar birçok alanı içermektedir. Yapılan tüm cerrahi işlemler operasyon bölgesinde değişik derecelerde kanamalara sebep olmaktadır. İyi bir cerrahinin sağlanması için operasyon sırasında ve sonrasında etkin bir hemostazın sağlanması en temel cerrahi gereksinimlerin başında gelmektedir. Özellikle kanama problemlili hasta gruplarında kanama kontrolünün sağlanabilmesinde tek başına mekanik yöntemler yetersiz kalabilmekte ve mekanik yöntemlerinin yanı sıra kanama durdurucu maddelerin kullanılma ihtiyaçları doğabilmektedir. Bu amaç için üretilmiş birçok kanama durdurucu madde operasyonlar sırasında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Ankaferd Blood Stopper® özellikle diş hekimliği alanında kullanılmak üzere üretilmiş etkin bir kanama durdurucu maddedir. Kanama durdurucu ajan olarak bilinen Ankaferd Blood Stopper (ABS); Thymus Vulgaris (kekik), Glycyrrhiza Glabra (meyan kökü), Vitis Vinifera (üzüm), Alginia Officinarum (havlıcan) ve Urtica Dioica (ısırgan otu) isimli geleneksel Türk tıbbında kullanılan beş bitki özütünün özel bir karışımıdır (Göker et al., 2008). Kanama kontrolündeki başarısı çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir.

Operasyon sırasında kullandığımız tüm hemostatik maddeler operasyon sırasında açığa çıkan kemik yüzeylerine ve çevre dokulara temas etmektedir. Özellikle diş çekimi sonrasında açığa çıkan alveol kemiği ile kullandığımız kanama durdurucu maddeler direkt olarak temas etmektedir. Ancak yaygın klinik kullanıma girmiş olan ABS'nin uzun dönemde kemik yüzeylerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Canlı dokulara uygulanan bütün maddelerin o doku üzerine olan etkileri bilimsel olarak bilinmesi gereken koşullardandır.

Çalışmamızda beş bitki özütünden oluşan Ankaferd Blood Stopper®'in kemik yüzeylerine etkisinin deneysel olarak incelenip ortaya konulan etkilerine bağlı olarak klinik uygulamalar için güvenilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU

Kemik, vücut iskeletinin en önemli yapı taşlarından birini oluşturmaktadır. Kemik, kalsiyum tuzlarının çökmesiyle güçlenen sert organik bir matrikstir (Guyton and Hall 2007). Gelişimini tamamlamış kemik dokusu dişin mine tabakasından sonra dentin ile birlikte vücudun en sert dokusudur (Cireli 1999). Ayrıca iskelet yapısını oluşturarak vücudun hayati öneme sahip dokularını korur. Kemik vücudun kalsiyum ve fosfat iyon konsantrasyonunu dengede tutar, kas kasılması sırasında gereken güçleri harekete geçirir ve kan yapım merkezlerinden olan kemik iliğini barındırırlar.

Uzun kemiklerde farklı bölgelerden söz edilebilir. Kemiğin iki ucu şişkin olan uç bölgeleri epifiz adını alır. Uzun gövde kısmı diafiz, diafizden epifize doğru olan alan ise metafiz olarak adlandırılır. Diafizin korteks duvarı kompakt kemik, merkez kısmını içten endosteum tabakası sarar ve medullar boşluklu bir yapı gösterir (Öber ve İzzetoğlu 2006).

2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik özel bir bağ dokusudur ve kemik matriksi denilen hücreler arası maddenin kalsikasyonu ile oluşmuştur. Kemik dokusu dört hücre tipi içerir. Bunlar; osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositlerdir.

2.1.1.1. Osteoprogenitör Hücreler

Periostun iç kısmında ve merkezi kanalların çevresinde yerleşen endotelde yer alan, mezenşimden köken alan hücrelerdir (Öber ve İzzetoğlu 2006). Fonksiyonel olarak kemik yapıcı öncü hücrelerdir ve mitozla çoğalarak osteoblastlara ve

osteoklastlara farklılaşma gösterirler. Özellikle kırık oluşmasıyla beraber çok hızlı bir şekilde yeni osteoblastlara farklılaşırlar. Böylece kırık oluşmasıyla aynı anda iyileşme sürecini de başlatmış olurlar (Guyton and Hall 2007).

2.1.1.2. Osteoblastlar

Osteoblastlar 20-50 µm çapında mononükleer hücrelerdir (Bain et al., 2010). Osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenlerinin yapımından sorumlu olan hücrelerdir (Junqueira et al. 2009). Osteoblastları birbirlerine sitoplazmik uzantıları bağlar. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığında daha da belirgin hale gelir. Osteoblastlar yeni sentez edilmiş matriks ile sarıldığında, osteosit adını alırlar (Junqueira et al. 2009). Kemikğin inorganik kısımlarının yapılabilmesi için canlı osteoblastlara ihtiyaç vardır. Osteoblastlar daha önceden sentezlenen kemik matriksi ile temas halindeki hücre yüzeylerinden salgılanan matriks elemanları, osteoblastlar ile kemik arasında osteoid adı verilen yeni matriks tabakasını oluştururlar. Osteoidler henüz mineralize olmamış kemiklerdir (Junqueira et al. 2009). Osteoblastlar matriksin tüm organik bileşiklerini sentezlemeleri yanında, paratiroid hormonu için gerekli reseptörleri de sentezler ve kemikte gerçekleşecek olan mineralizasyona katılırlar (Öber ve İzzetoğlu 2006).

2.1.1.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar monositlerin birleşmesiyle oluşan çok çekirdekli, 30-100 mikron büyüklüğünde hücrelerdir (Cireli 1999). Kemik dokusunun yıkımından sorumlu olan çok sayıda lizozom içerirler. Lizozomlara ek olarak granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri ve iyi gelişmiş golgi kompleksi bulunur (Junqueira et al., 1998). Kemikğin yüzeyinde Howship's lakünleri denilen resorpsiyon bölgelerinde bulunur (Öber ve İzzetoğlu 2006). Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen asit, kollojenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgılar. Böylece kalsifiye olmuş temel maddeyi serbest hale

getirirler ve kemik rezorpsiyonu sırasında meydana gelen artıkları ortadan kaldırılmasında sağlarlar (Junqueira et al., 1998).

2.1.1.4. Osteositler

Osteoblastlardan köken alan osteositler matrik lamelleri arasında bulunan lakünalar içinde yerleşmiş olarak bulunurlar (Junqueira et al., 1998). Sitoplazmik uzantıları mevcuttur. Bu uzantılar nutrientlerin, oksijenin ve artık maddelerin kan yoluyla uzaklaştırılmalarını veya toplanmalarını sağlarken kemiğin beslenmesinde önemli rol oynarlar. Ayrıca diğer osteositlerle olan bağlantısı ile siklikadenozin monofosfat (cAMP), “insülin-like” büyüme faktörü ve osteokalsin salınımı sağlayarak mekanik uyarılar algılama gerçekleştirirler (Öber ve İzzetoğlu 2006).

2.1.2. Kemik Zarları

Bütün kemikler iç yüzeylerinde endotel ve dış yüzeyinde periost denilen osteojenik özelliklere sahip zarlarla örtülüdür. Periost ve endotelin temel işlevleri, kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüebilmesi ve onarımı için gerekli olan yeni osteoblastları aralıksız olarak sağlamaktır. Bu nedenle kemik cerrahisinde periosteum ve endosteumun korunmasına çok dikkat edilmelidir (Junquera et al., 2009).

2.1.2.1. Periost

Periost kemiğin dış yüzeyini örten tabakadır. Periost iç tabaka ve dış tabaka olmak üzere iki bölümü bulunmaktadır. Periostun dış yüzeyini kollajen lifler ve fibroblastlar oluşturur. Bu tabaka fibröz tabakadır. Demetler halinde sharpey liflerini oluşturan periosteal kollajen lifler, matrik içine girerek periostu kemiğe bağlar (Junquera et al., 1998).

Periostun iç tabakası ise osteojenik tabakadır. Periostun kemiğe yakın bölgelerindeki hücreleri kemik yapım özelliği kazanır. Kemik oluşturma özelliği olan bu tabakanın bulunmadığı yerlerde kemik yüzeyiyle ilişkili bağ dokusu osteojenik potansiyelini yitirir ve kemik kırıklarının iyileşmesine katkıda bulunamaz (Erkoçak 1982).

2.1.2.2. Endosteum

Kemiğin içindeki bütün boşlukları örten yapıdır. Endosteum tek kat yassı hücreler ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Bu yüzden periosttan oldukça incedir (Junquera et al., 1998). Bu tabaka içinde de kemik ve kan hücrelerinin öncüleri olan osteoprogenitör hücreler vardır (Öber ve İzzetoğlu 2006). Kompakt kemikteki medullar kaviteyi ve spongioz kemikteki trabeküllerin yüzeyini örterler.

2.1.3. Kemik Tipleri

Kemik dokusunun mikroskopik olarak incelenmesinde iki tip kemik olduğu bilinmektedir. Bunlar; birincil (olgunlaşmamış ya da kaba lifli) kemik dokusu ve ikincil (olgun ya da lameller) kemik dokusudur.

2.1.3.1. Birincil (Olgunlaşmamış-Örgü) Kemik Dokusu

Birincil kemik embriyonal gelişim sürecinde, kırık iyileşmesi ve onarım aşamalarında ilk oluşan kemik dokusudur (Junqueira and Carneiro 2009). Birincil kemikte ikincil kemiğe karşın kollajen lifler ince ve değişik yönlere dağılmış durumdadır (Junquera et al. 1998). Bu kemik daha az mineral içerir bu nedenle röntgende birincil kemik fark edilmez ve ikincil kemik dokusuna oranla daha fazla osteosit içerir. Birincil kemik dokusu (kafatasının düz kemik eklemleri çevresi, dış

yuvaları ve bazı tendonların kemiğe girdiği yerler hariç) 2-5 yaşları arasında ikincil kemik dokusuna farklılaşır (Cireli 1999, Junqueira and Carneiro 2009).

2.1.3.2. İkincil (Olgunlaşmış-Lamelli) Kemik Dokusu

İkincil kemik dokusu yetişkinlerde bulunan kemik dokusudur. İki tip ikincil kemik dokusu vardır. Bunlar; kortikal (kompakt) kemik ve spongioz (süngerimsi) kemiktir.

Spongioz kemik daha çok kemiklerin metafiz ve epifizlerin iç kısımları ve yassı kemiklerin iç yüzeylerinde bulunur. Geniş trabeküler aralıkları vardır. Trabeküllerin arasında kemik iliği ile dolu, düzensiz şekilli boşluklar vardır.

Kortikal kemik (kompakt) ise tüm kemiklerin dış tabakasında bulunur. Bu kemik dokusunda havers sistemi ya da osteon denilen dairesel lamellerin meydana getirdiği ve kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokunu içeren bir kanal sistemi bulunur. Havers kanalları, yatay ya da oblik seyreden volkman kanalları aracılığı ile kemik iliği boşlukları ve periosteum arasında bağlantı kurar (Junqueira et al., 1998). Kemik dokusu sert bir matrikse sahip olmasından dolayı kanal ve kanaliküllerle metabolizma için gerekli maddelerin hücrelere kadar iletilmesinde önemli rol oynarlar. Kortikal kemiğin mekanik gücü havers kanallarının sıkı dizilimine bağlıdır (Junqueira and Carneiro 2009)

2.1.4. Kemik Matriksi

Kemik dokusunda su, organik ve inorganik matriks bulunur. Kemik dokusu % 20 oranında su içerir. Kemik dokusunun kuru ağırlığının % 30-35 oranında organik matriks, % 60-70 oranında inorganik matriks oluşturur (Guyton and Hall 2006).

2.1.4.1 Organik Matriks

Kemiğin organik matriksi % 90-95 oranında kollajen lifler, %10'unu ise nonkollajen dokular meydana getirir. Bunları proteinler (glikoproteinler, proteoglikanlar), peptitler, karbohidratlar ve lipidler meydana getirir (Lynch et al.,2007). Genel olarak kemiğin organik kısmını oluşturan bileşenlere osteoid adı verilir (Öber ve İzzetoğlu 2006).

2.1.4.2 İnorganik Matriks

İnorganik matriks kuru kemik ağırlığının % 60-70 oranını oluşturan bölümdür. Kemik dokusu kalsiyum ve fosfat yönünden oldukça zengin bir dokudur. Bunların dışında birçok inorganik iyonlar bulunur. Bunlar; bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum olarak söylenebilir. Vücuttaki kalsiyumun %99'u, fosforun %85'i, magnezyum ve sodyumun %40-60'ı kemik dokusunda bulunur. Kalsiyum ve fosfor birleşerek hidroksiapatit kristallerini oluştururlar. Kollajen liflerin yanında amorf madde ile çevrili halde bulunurlar. Hidroksiapatit kristalleri kollajenlerle birlikte kemik sertliğini ve dayanıklılığını sağlarlar (Junqueira et al., 1998).

2.1.5. Kemik Oluşum Şekilleri

Kemik oluşumunda iki yoldan söz edilebilir. Bunlar; osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile gerçekleşen intramembranöz kemikleşme ve daha önce var olan kıkırdak matriksinin üzerine kemik matriksinin çökmesi ile oluşan endokondral kemikleşmedir (Junqueira and Carneiro 2009).

İntramembranöz kemikleşme, mezenşimin direkt olarak kemik hücresine dönmesiyle oluşur. Daha çok kafatası, sternum, pelvis gibi yassı kemiklerde, yüz kemiklerinde, mandibulanın koronoid çıkıntısında ve simfiz dışındaki bölgelerinde meydana gelir. Kemikleşmenin ilk başladığı yere “primer kemikleşme merkezi” denir. Küçük odaklar halinde oluşan primer kemik merkezleri birleşerek kemik oluşumunu tamamlar. Primer veya intramembranöz tip kemikleşme gösteren kemikler süngerimsi bir yapı gösterirler (Cireli 1999). Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise periosteum ve endosteumu oluşturular (Junquera et al., 1998).

Endokondral kemikleşme, daha çok uzun ve kısa kemiklerde görülür. Endokondral kemikleşmede iki basamaktan bahsedilebilir. Birinci basamak kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Bu yıkımla birlikte kemik lakünaları oluşur. İkinci basamakta ise osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuk, dejenere olmuş kıkırdak hücrelerinden geriye kalan aralıklara girer. Bu hücreler osteoblastlara dönüşür. Böylece osteoblastlar kıkırdak septumlarında kemikleşmeye başlar (Junquera et al. 1998).

Endokondral kemikleşmede kemikleşme için hyalin kıkırdak taslaklarına gereksinim vardır. Bu şekilde oluşan kemikler yedek kemik doku ve ayrıca iğsi ipliksi kemik doku ve son şekli ise lamelli kemik dokusudur (Cireli 1999).

Her iki yolla da, ilk ortaya çıkan kemik dokusu, birincil ya da olgunlaşmamış kemik dokusudur. Bu geçicidir ve kısa bir süre sonra yerini ikincil kemik dokusu alır. Kemiğin yapımı ve yıkımı (appozisyon-rezorbsiyon) sadece büyüyen kemiklerde olmayıp, yetişkinlerde de hızını oldukça azaltarak hayat boyu devam eder (Ovalle and Nahirney 2009).

2.1.6. Kırık İyileşmesi

Kemik dokusu ömür boyu osteoklastların sağladığı kemik yıkımı ve osteoblastların sağladığı yeni kemik yapımının olduğu (remodelasyon) eşsiz bir dokudur. Yeniden şekillenme ile kemik dokusu ömür boyu kendini yeniler. Kemikte yeniden şekillenme, kemiğe gelen stresin yönüne ve mekanik etkilere göre

olmaktadır. Ayrıca; yaşlılıkla beraber gelişen organik matriksin dejenerasyonundan dolayı yeni organik matriks ihtiyacını karşılamak için hayat boyu yeniden şekillenme devam eder. Kemik yapımı kemiğin taşımak zorunda olduğu sıkışma yüküne ve stres yönüne orantılı olarak gelişir (Guyton and Hall 2006).

Kemikte kırık meydana geldiği anda kemiğin tamir olayı da başlar; kırık uçlarının birleşmesine ve remodelasyonla kemik oluşmasına kadar devam eder. İyileşme 3 evrede incelenebilir. Bunlar;

2.1.6.1. Enflamasyon Evresi

Kırık bölgesinde travma sonucu kemiğin medüller ve periferik bölgelerindeki damarların hasarı ile kanama olur. Oluşan kanama kırık aralığının hematoma ile dolmasına neden olur. Kemik segmentleri arasındaki bölgede ayrıca canlılığını yitirmiş kemik hücreleri ve zarar görmüş yumuşak doku artıkları da bulunabilir. Kırık bölgesine polimorfonükleer lökositler ve makrofajların göçü ile inflamasyon başlar (Peterson et al., 1998). Oluşan hematoma ile birlikte bölgede fibrin ağı, fibroblast ve yeni kapiller gelişimi başlar.

Hematoma kitlesi yeni kapiller gelişimi ve proliferen olan hücrelerden oluşan olan hücresel granülasyon dokusu ile çevrilir. Zamanla hematoma yerini granülasyon dokusuna bırakır, granülasyon dokusu kırık aralığını kaplar.

2.1.6.2. Tamir Evresi

Granülasyon dokusu çevresinde toplanan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşür. Kemik segmentleri arasında toplanan osteoblastik doku kitlesi kollajen salgılayarak organik matriksi oluşturur. Organik matrikse kalsiyum tuzlarının depo edilmesi ile immatür ve düzensiz yapıda kemik yapılır. Buna kallus adı verilmektedir (Guyton and Hall 2007).

Kallus oluşumu; kırık segmentlerini immobil olarak bir arada tutunması için var olan fizyolojik bir mekanizmadır. Segmentler arasındaki aralık ne kadar fazla ise oluşan kallus da paralel olarak artar. Segmentler arasındaki mesafenin azalmasıyla kallus oluşumu azalır. Kallus oluşumu ile oluşan iyileşme sekonder iyileşme olarak adlandırılır. Fragmanların kırık aralığı kalmadan bir araya getirilip immobilize edilmesi ile kallus oluşmadan sağlanan iyileşmeye ise primer kemik iyileşmesi denilir. Primer kemik iyileşmesi kemik fragmanlarının bir araya getirilerek kırık aralığının ideal olarak ortadan kaldırılmasıyla ve bu şekilde tespit edilmesiyle sağlanır.

2.1.6.3. Yeniden Şekillenme Evresi

Düzensiz trabeküler yapıda olan kallus, kademeli olarak rezorbe olur ve direnç çizgilerine uygunluk gösteren, düzgün kanal yapılarına sahip olan lameller kemik ile yer değiştirir. Lameller kemik dördüncü haftadan itibaren oluşmaya başlar. Kırık parçalarının cerrahi olarak bir araya getirilmesi ve kırık parçalarının stabilizasyonun iyileşme için son derece önemlidir. Kırık parçaları arasında temas noktalarının bulunması bu alanlarda lameller kemik oluşmasını artırmaktadır. Kırık parçalar arasındaki mesafe ne kadar fazla ise oluşan kallus miktarı fazla olacak ve kırığın fibröz iyileşme riski artacaktır (Peterson et al., 1998). Kırılan kemiğin karşıt uçlarında stres yaratmak, osteoblastik aktiviteyi artırarak iyileşme sürecini kısıltacaktır (Guyton and Hall 2007).

Wolf et al. kemiğin işlevsel durumundaki değişikliklerin dokuda yapısal değişikliklere yol açtığını bildirmişlerdir. Bu kanun günümüzde de güncelliğini korumaktadır. Wolf'a göre; Mekanik strese maruz kalan kemiğin dışbükey yüzü pozitif, içbükey yüzü ise negatif elektrikle yüklendiğinden, osteoklastik aktivitenin egemen olduğu dışbükey yüzde kemik yıkımı ve osteoblastik aktivitenin yoğun olduğu içbükey yüzde ise yeni kemik yapımı olmaktadır (Wolf (1915)'e atfen, Ahn and Grodzinsky 2009).

2.2. HEMOSTAZ

Hemostaz, damar zedelenmeleri sonucu oluşan kanamaların çeşitli sistemlerle damar bütünlüğünün bozulmadan kanamanın kendiliğinden durmasını sağlayan fizyolojik sistemler bütünüdür. Kanamanın büyüklüğü ve hızı esas olarak damar duvarında oluşan deliğin çapına, damarın içi ve dışı arasındaki basınç farkına bağlıdır. Ayrıca damarın cinsi, yaranın oluş şekli ve genişliği de kanamanın hızı için belirleyici faktörlerdir (Torunoğlu 1968). Buna rağmen büyük arterlerde meydana gelen yaralanmalar bazen doğal hemostaz mekanizmasını devre dışı bırakabilir. Dışarıdan yardım olmadığı takdirde tehlikeli boyutlara ulaşabilir. Buna karşılık büyük ven yaralanmalarında, damar içindeki basınç düşük olduğu için kanamanın olduğu ekstremitenin kalp seviyesinin üzerine çıkarılması kanamayı durdurabilir. Kuagulopatisi olmayan kişilerde doğal hemostaz mekanizması birkaç dakika içerisinde kanamayı durdurur (Torunoğlu 1968). Doğal hemostazın sağlanabilmesi belirli basamaklara bağlıdır. Doğal hemostaz mekanizmaları sırasıyla; vazokonstriksiyon, trombosit tıkaçı oluşumu, kanın koagülasyonu sonucu kan pıhtısı oluşumu ve fibröz dokunun pıhtı içine doğru büyümesi ile damardaki deliğin kalıcı olarak tıkanması olarak söylenebilir (Guyton and Hall 2007). Hemostaz mekanizmaları basamakları arasında zamanlama açısından birbiri içerisine geçişler olabilmektedir (Ferhanoğlu 2003).

2.2.1. Vazokonstriksiyon

Hemostaz, damar spazmı olarak ta adlandırabileceğimiz sistem ile damar hasarı oluşmasıyla aynı anda damar duvarlarında meydana gelen kasılmayla başlar. Damar hasarı sonucu dokuya çıkmış olan kan damar üzerinde gittikçe artan baskı oluşturmaya başlar. İlk anda gelişen damar spazmı 3-4 dakika sürer (Torunoğlu 1968). Damar spazm miktarı damarda meydana gelen zedelenme miktarıyla doğrudan ilişkilidir. (Guyton and Hall 2007).

2.2.2. Trombositler ve Koagülasyon Sistemi

Trombositler megakaryositlerden oluşan yuvarlak ya da oval, çekirdeksiz, 1-4 mikrometre çapında olan kan elemanlarıdır. Bölünme özellikleri yoktur. Kandaki normal yoğunlukları milimetreküp 150000 ile 300000 arasındadır (Öber ve İzzetoğlu 2006, Guyton and Hall 2007). Trombositlerin üzerinde bulunan glikoprotein örtüsü trombositlerin normal endotele yapışmasını engellerken, zedelenen endotel hücrelerine ve kollajene yapışmasını sağlar. Trombositler küçük damarlardaki ve endotel hücrelerindeki yırtıkların kapatılmasında gün içerisinde son derece önemlidir. Trombosit sayısı az olan kişilerde normal kişilerde gözlenmeyen derialtı ve tüm vücut dokularında yüzlerce küçük hemorajik odaklar gelişebilir.

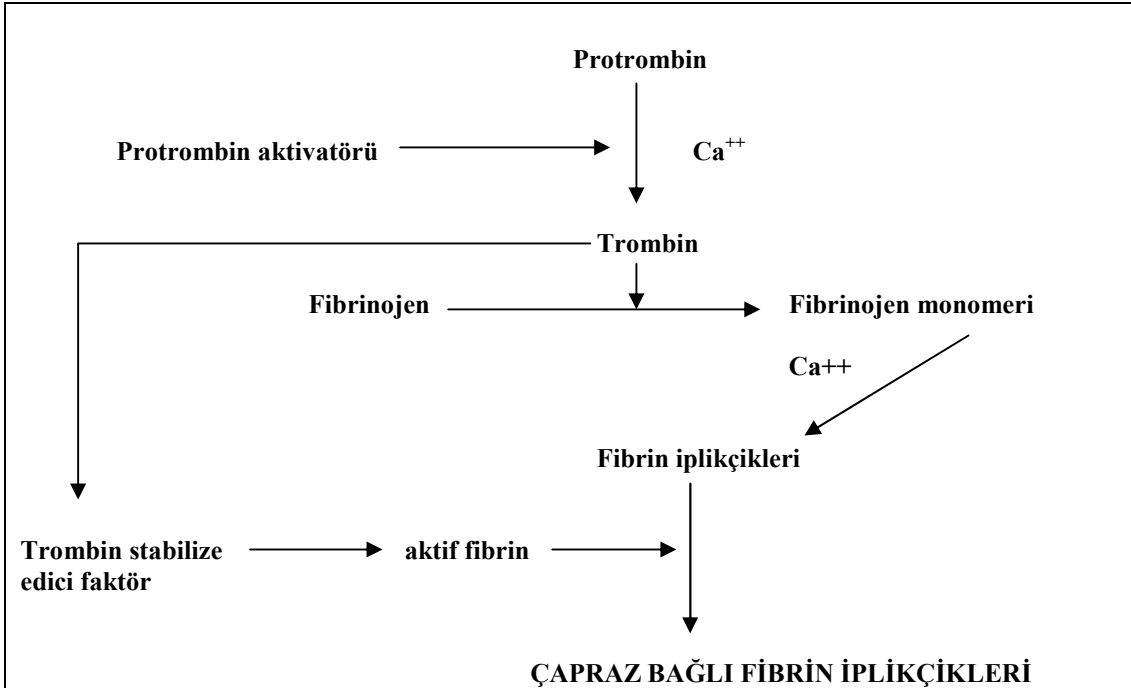
Hemostazın sağlanmasında trombosit aktivasyonu ile koagülasyonun birbirinden ayrılmaz bir bütün olduğu tartışılmaz. Trombositler çok çeşitli koagülasyon faktörleri ile interaksiyona girerken trombin de güçlü bir trombosit uyaran olarak dikkati çeker (Ferhanoğlu 2003).

2.2.2.1. Primer Hemostaz Mekanizması

Trombositlerin hasar görmüş damar bölgesinde zedelenme oluşumundan sonra çok kısa süreler içinde oluşturduğu trombosit tıkaç mekanizmasıdır. Trombositlerin hasar görmüş yüzeye temasları ile birlikte yüzey özellikleri değişime uğrar. Bu değişiklikler yüzeylerinde şişme, düzensiz bir şekil ve çok sayıda psödopod uzantıları olarak gözlenir. Trombositler güçlü bir şekilde kasılarak aktif faktörler içeren granüllerini serbestleştirirler. Bu şekilde yapışkan hale gelir ve dokudaki kollajene ve plazmadan hasarlı doku içine sızan von Willebrand faktörü adı verilen bir proteine tutunurlar. Çok miktarda ADP salgılar ve enzimleri tromboksan A₂ yi oluştururlar. Bu maddeler çevredeki trombositleri aktive ederek birbirlerine yapışmalarını sağlar. Bu mekanizma ile damar hasarı oluşmuş bölgede yoğun trombosit birikmesi ile trombosit tıkaçı oluşturulur (Guyton and Hall 2007).

2.2.2.2. Sekonder Hemostaz Mekanizması

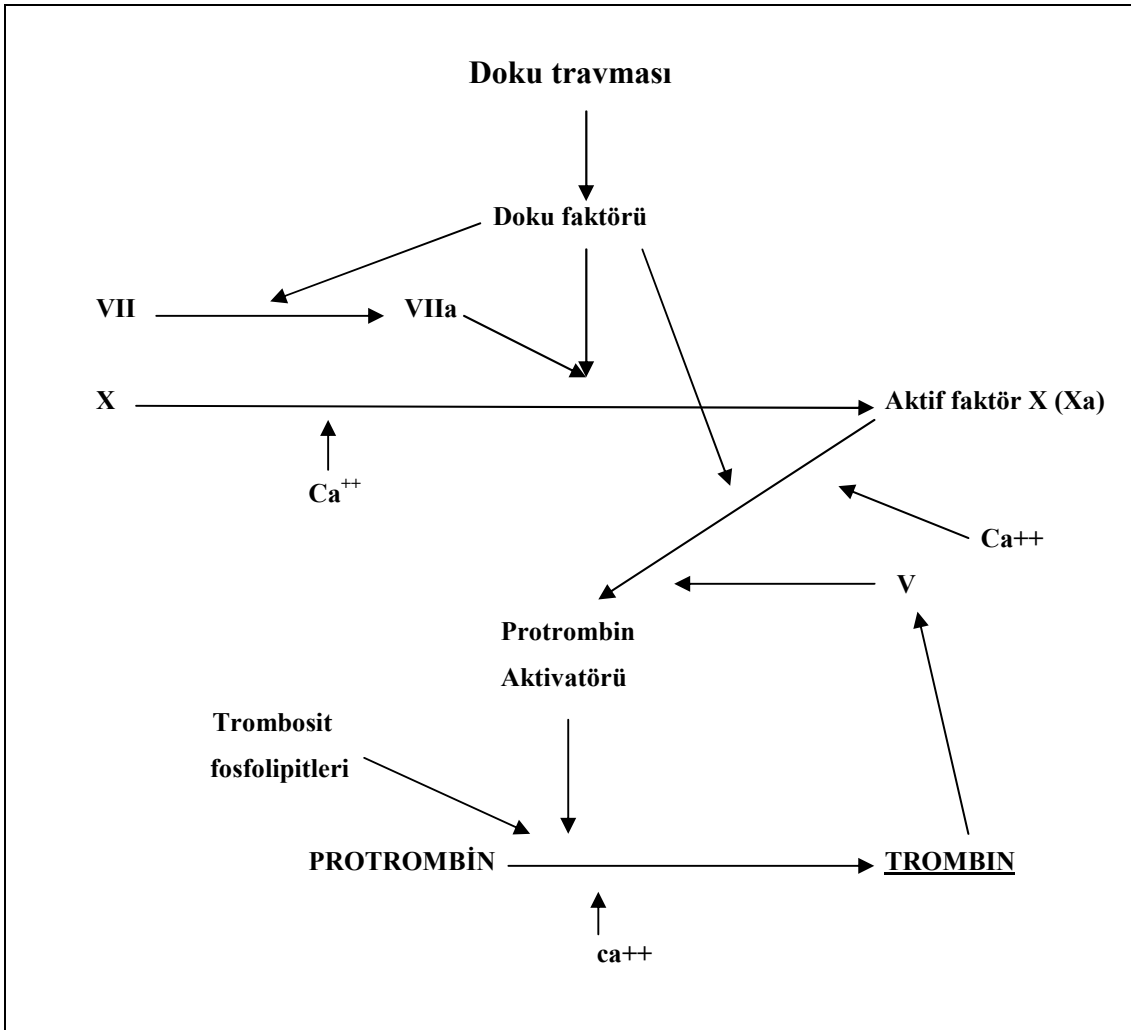
Sekonder hemostaz mekanizması; damar hasarının miktarının büyük olduğu ve trombosit tıkaçının yetersiz kaldığı damar zedelenmelerinde kuagülasyon proteinlerinin de aktive olmasıyla ortaya çıkar. Pıhtı oluşumu 15-20 saniye içerisinde hızlı bir şekilde başlar. Hasarlanan damar duvarı ve trombositlerden kaynaklanan aktivatör maddeler ve kan proteinleri pıhtılaşma sürecini başlatırlar. Genel olarak pıhtılaşma süreci damarın yırtılmasına veya hasar görmesine cevap olarak pıhtılaşma faktörlerinin reaksiyonlarıyla başlar. İlk olarak aktive olan tüm maddeler protrombin aktivatörü kompleksi oluşturur. Protrombin aktivatörü protrombini trombine çevirir. Trombin bir enzim görevi yaparak fibrinojeni fibrin iplikçiklerine çevirir ve en son olarak ise fibrin iplikçikleri, trombositler, kan hücreleri ve plazmayı da içine alarak pıhtıyı oluşturur (şekil 1). Pıhtılaşma sürecinin başında oluşan protrombin aktivatörü iki farklı şekilde meydana gelebilir. Bunlar ekstrensek yol ve intrinsek yoldur. Pıhtılaşma süreci bu iki yolun aynı anda aktivasyonu ile başlar. Doku faktörü ekstrensek yolu, faktör XII ve trombositlerin damar duvarındaki kollajene teması intrinsek yolu başlatır (Guyton and Hall 2007).



Şekil 1: Pıhtılaşma mekanizması

2.2.2.2.1. Ekstresek Yol

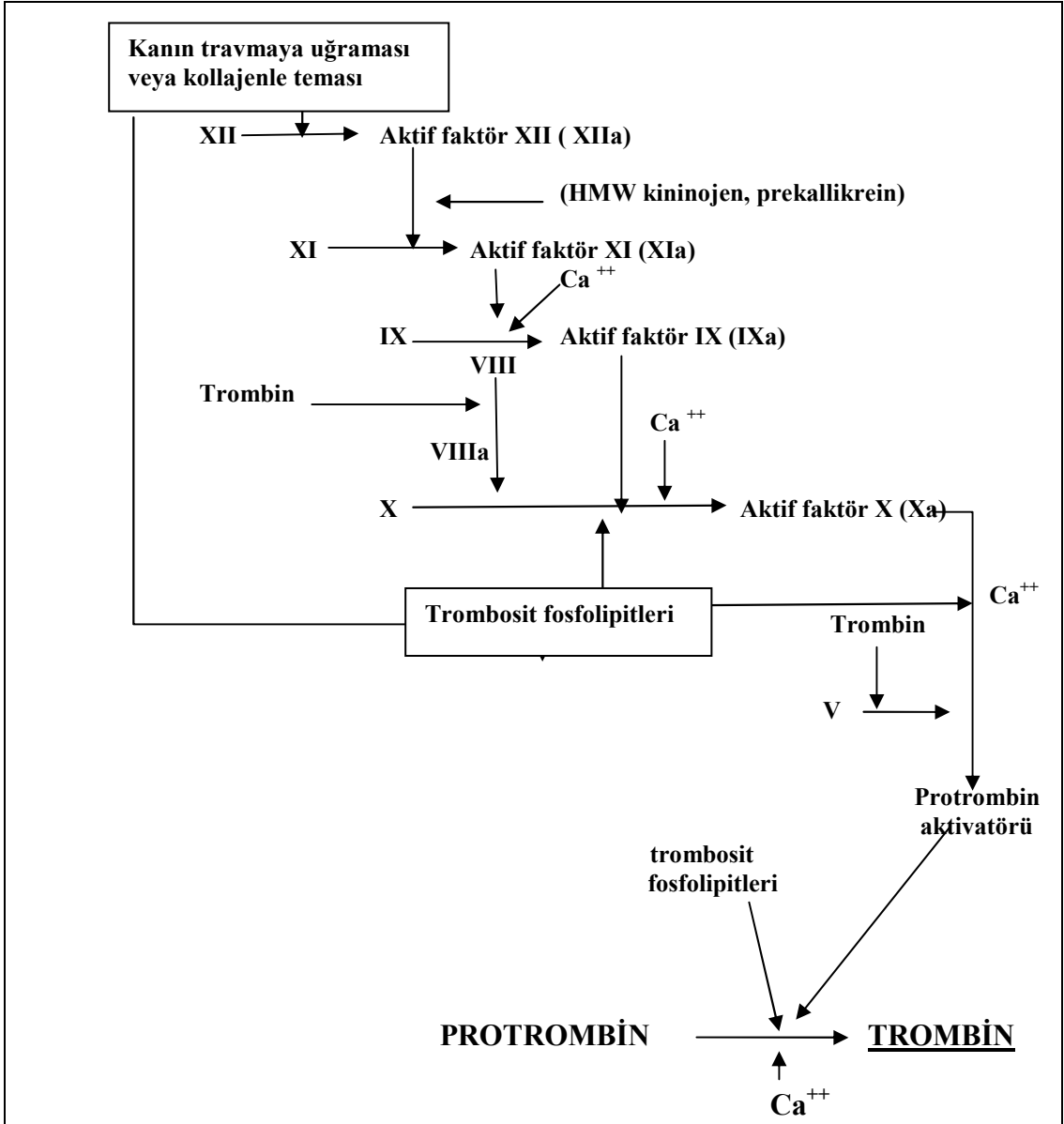
Damar duvarı ve çevresindeki dokuların travmaya uğramasıyla başlar. Çeşitli aşamaları vardır. İlk olarak travmadan sonra dokudan doku faktörü ya da doku tromboplastini denilen çeşitli faktörlerin oluşturduğu bir bileşim serbestlenir. Doku faktörünün lipoprotein kompleksi koagülasyon faktörü VII ile kompleks oluşturur ve kalsiyum iyonları varlığında faktör X üzerine enzimatik etki göstererek faktör X'un aktivasyonu gerçekleşir ve aktif faktör X'u (Xa) oluşturur. En son aşamada Xa, doku fosfolipitleri ya da trombositlerden serbestlenen fosfolipitler ve faktör V ile birleşerek protrombin aktivatörü denen kompleksi oluşturur. Birkaç saniye içinde, kalsiyum iyonlarının varlığında, bu protrombini trombine parçalar ve pıhtılaşma işlemi devam eder (şekil 2) (Torunoğlu 1968, Öber ve İzzetoğlu 2006, Guyton and Hall 2007).



Şekil 2: Pıhtılaşma mekanizmasını başlatan ekstresek yol

2.2.2.2.2. İntrensek Yol

Kanın kendisinin travmaya uğraması veya kanın travmatize bir damar duvarındaki kollajenle teması sonucu başlar. Ekstresek yolda olduğu gibi çeşitli aşamaları vardır. Ekstresek yoldan farkı ilk olarak faktör XII'nin aktivasyonu ve trombosit fosfolipitlerinin serbestlenmesiyle başlamasıdır. Aktif faktör XII (XIIa) kininojen ve prekallikrein varlığında Faktör XI'in aktivasyonu gerçekleşir. Aktif hale gelen Faktör XI Ca^{++} iyonları ile birlikte Faktör IX'u aktif faktör IX (IXa)'a dönüştürür. Aktif Faktör IX (IXa), aktif Faktör VIII (VIIIa), trombosit fosfolipitleri ve travmatize trombositlerden salınan faktör 3 ile birlikte Faktör X'un aktivasyonu gerçekleşir. Bu aşamadan sonra artık ekstresek yol ile kesişerek aynı şekilde aktif Faktör X (Xa) oluşumuyla pıhtılaşma süreci devam eder (şekil 3) (Torunoğlu 1968, Öber ve İzzetoğlu 2006, Guyton and Hall 2007).

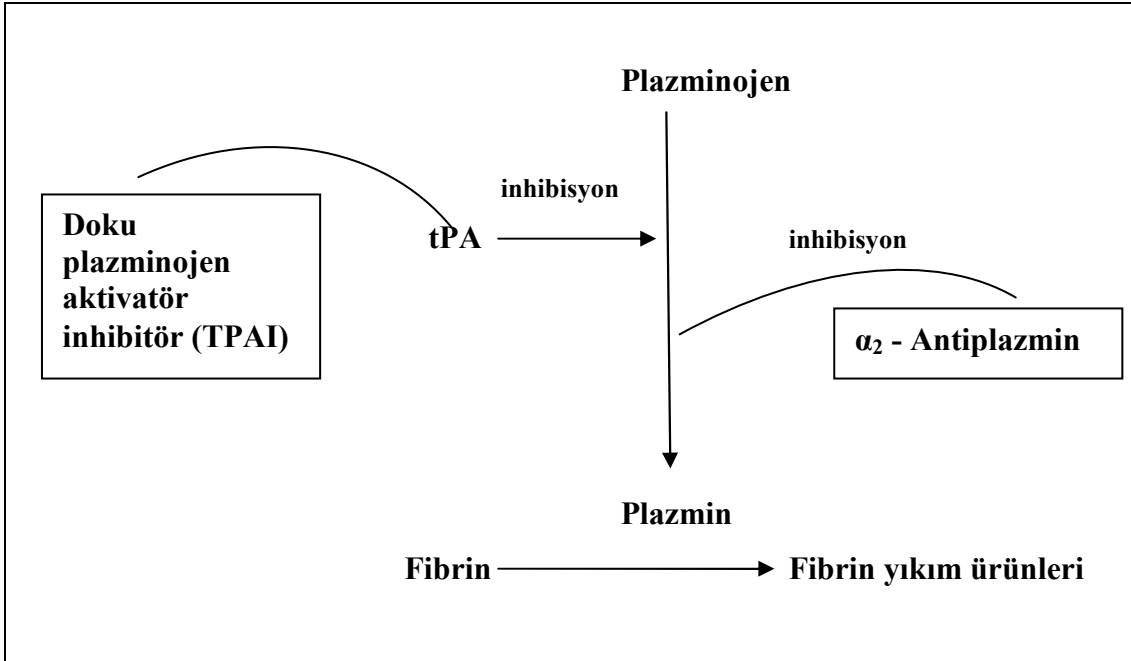


Şekil 3: Pıhtılaşma mekanizmasını başlatan intrinsek yol

2.2.3. Fibrinolitik sistem

Pıhtı oluşumunu takiben pıhtı iki şekilde değişiklik gösterebilir. Birincisi fibroblastlarca istila edildikten sonra tüm pıhtı bağ dokusuna dönüşür. İkincisi ise pıhtı eriyebilir. Genellikle küçük pıhtılar 1-2 haftalık süreç içerisinde tamamen fibröz dokuya dönüşür. Fibrin doku oluşumu trombinin fibroblastları fibrin monomerlerine dönüştürmesiyle başlar. Fibrin monomerleri uzun fibrin iplikçiklerine polimerize olurlar. Bu bağ gevşek bir bağdır. Fibrin stabilize edici faktör bu gevşek yapıyı çok sayıda çapraz bağ oluşturarak fibrin ağının yapısını kuvvetlendirir.

Bir pıhtı oluştuğunda, çok miktarda plazminojen inaktif halde pıhtının içinde bulunur. Pıhtının erimesi plazminojenin damar endotelinden çok yavaş salınan doku plazminojen aktivatör sayesinde aktif plazmin haline dönüşmesiyle başlar. Bu madde pıhtı oluşumundan birkaç gün sonra salgılanmaya başlar. Plazminojenden oluşan plazmin fibrin yıkımı yaparak pıhtı erimesini sağlar. Plazmin aktivitesi ise onu inhibe eden plazma α_2 -antiplazmin enzimi ile kontrol altındadır. Bu mekanizma ile kan akımının pıhtılarla azaldığı birçok küçük kan damarı tekrar açılır. Bu şekilde damar içinde oluşan küçük pıhtılar temizlenerek, damar içinde akımın tekrar düzenlenmesi sağlanır (şekil 4)(Torunoğlu 1968, Öber ve İzzetoğlu 2006, Guyton and Hall 2007).



Şekil 4: Fibrin yıkım sistemi

2.3. KANAMA KONTROLÜ

Cerrahi operasyonlar ya da travmalar sonucunda fizyolojik hemostaz mekanizmalarıyla durdurulamayan kanamalar görülebilmektedir. Operasyon sırasında ve operasyon sonrasında ki dönemde kanama kontrolünü sağlamak için eskiden beri çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Temel olarak kanama kontrolünde mekanik yöntemler, termal yöntemler ve kimyasal yöntemlerden bahsedilebilir (Wagner et al., 1996).

Mekanik yöntemler, kanama kontrolü için temel bir uygulamadır. Mekanik yöntemlerde genel prensip; kanama odağına yapılan basınçtır. Bu yöntem için tampon, ped veya spançlar kullanılabilir. Mekanik yöntemler kanama bölgesine yapılan direkt bası olabildiği gibi ayrıca damara müdahale imkânının olduğu vakalarda damarın suture edilmesi, stappler ya da ligasyon klipsi uygulamaları da kullanılmaktadır. Mekanik yöntemlerle kanamanın yoğun olması, hastanın antitrombosit, antikoagülan ilaç kullanması, kanama problemi gibi nedenlerle her zaman kanamanın etkin olarak durdurulması mümkün olmayabilir.

Termal yöntemler kanama bölgesine ısı uygulanması esasına dayanır. Bu yöntem içerisinde elektrokoterizasyon, lazer uygulamaları gösterilebilir. Koter uygulamaları kanamanın olduğu bölgede protein denaturasyonu yaparak hemostazı sağlar. Küçük damarlardan kaynaklanan kanamalarda etkili olurken, daha büyük damarlarda etkili değildir. Kemik içi kanamalarda uygulama zorluğu ve kemikte nekroz riski nedeniyle uygulamamaktadır (Seyednejad et al., 2008). Subkutan kanamalarda bipolar koter kullanımı ile kanama kontrolü yapılabilir (Schonauer et al., 2004). Lazer son yıllarda daha popüler olmaktadır. Yumuşak dokularda oluşan kanamanın kontrolünde lazer kullanımı avantajlı olup, özellikle hemorajik diatezli hastalarda, lokal hemostazı sağlamak amacıyla tercih edilebilir (Akal ve ark., 2003). Lazerle uygulamalarında kanama riski çok azdır. Şiddetli kanama bölgelerinde Argon, Neodyum YAG (Nd: YAG) ve Holmiyum YAG (Ho: YAG) lazerler seçilebilir. Sekonder kanamaları önlemek için lazerler kullanılabilir.

Kimyasal yöntemlerin kullanılması çok eski zamanlara kadar uzanmaktadır. Modern dönemde kimyasal hemostaz yöntemi 18.yy sonlarında Carnot'un ürettiği jelatin ile başlar (Schonauer et al. 2004). Kimyasal teknikler ile geniş yüzeyde ve yoğun şekilde gözlenen kanamalara daha etkin bir müdahale imkânı olmaktadır. Kimyasal yöntemler içerisinde epinefrin, desmopressin, topikal hemostatik ajanlar, doku sealantleri ve doku adhezinleri sayılabilir. Günümüzde cerrahi işlemlerde uygulama kolaylığı ve etkinliği açısından diğer mekanik ve ya termal konvansiyonel tekniklerine oranla daha çok lokal hemostatik ajanlar tercih edilmektedir (Oz et al., 2003).

2.3.1 Lokal Hemostatik Ajanlar

Ağız, çene, yüz cerrahisi uygulamalarında etkin bir hemostazın sağlanabilmesi için lokal hemostatik maddelerin kullanılması yoğunlaşmıştır. Günümüzde kullanılan birçok hemostatik madde bulunmaktadır (Oz et al. 2003, Sabel and Stummer 2004, Schonauer et al., 2004, Seyednejad et al 2008). Genel olarak hemostatik ajanları sınıflandırmada kanama durdurucu maddenin içeriği göz önüne alınmıştır (Tablo 1). Klinik kullanımda en çok tercih edilen jelatin bazlı ve selüloz bazlı hemostatik ajanlardır. Absorbe olabilen hemostatik ajanların kullanımı pıhtı formasyonu oluşturması ve pıhtıyı stabilize etmesinden dolayı tercih sebebi olmaktadır. Bu maddelerin kullanılmasında hızlı etkinliği, uygulama kolaylığı, kolay ulaşabilirliği gibi birçok avantajdan söz edilebileceği gibi aynı zamanda immünosupresif tedavi gören hastalarda enfeksiyon oluşturma risklerinin olabileceği unutulmamalıdır (Gupta et al., 2007). Lokal hemostatik ajanlar, basınç, cerrahi ped, sutur veya cerrahi stentler gibi teknikler ile kombine olarak kullanılabilen gibi tek başına da uygulanabilirler (Gupta et al., 2007). Hemostatik ajanların ampül, spanç, toz, sprey şeklinde formları mevcuttur.

İyi bir hemostatik ajanın özellikleri

- Uygulama kolaylığı olmalı, uygulanması için özel ekipman ve eğitim gerekmemelidir. Uygun koşullarda paketlenmesi yapılmış olmalıdır.
- Raf ömrü uzun olmalı, özel saklama koşulları gerektirmemeli ve ayrıca maliyeti çok yüksek olmamalıdır.
- Uygulama bölgesinde alerjik reaksiyonlara ve istenmeyen yan etkilere sebep olmamalıdır.
- Uygulama sahasında antimikrobiyal, antibakteriyel ve antifungal özellik göstermelidir.
- Uygulama süresi kısa olmalı ve etkinliğini hemen gösterebilmelidir.

Selüloz Kaynaklı Hemostatik Ajanlar

Hemostatik ajanlar içerisinde diş hekimliği pratiğinde en sık kullanılan grubu selülozdan üretilmiş kanama durdurucu ajanlar almaktadır. Kendi içerisinde okside selüloz ve rejenere okside selüloz olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Hemostat kanla temas ettiği zaman kısa süre içerisinde hacim olarak genişler ve pıhtı oluşumunu sağlayacak kahverengimsi-siyah jelatinimsi kütle oluşturur (ADE 1983). Bu kitle plateletlerin tutunabilmesi için ortam oluşturur. Ayrıca çok düşük pH özelliğine sahiptirler ve ortamda pH'nın düşmesine neden olarak hemostaza yardımcı olurlar. Okside selüloz aynı zamanda düşük pH nedeniyle bakteriyostatik etkinlik gösterir (Seyednejad et al., 2008). Kontak aktivasyonu ile etkinliğini gösterirler. Cerrahi sırasında istenilen boyutlarda şekillendirilebilmesi ve kullanım kolaylığı açısından avantajlıdır (Sabel and Stummer 2004). Tamamen rezorbe olabilir ancak rezorbe olmadığı vakalar da gösterilmiştir (Schonauer et al. 2004).

Jelatin Kaynaklı Hemostatik Ajanlar

Jelatin bazlı hemostatikler etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, etkinliğini kanama yüzeyi ile kontak sağlayarak mekanik olarak gerçekleştirdiği söylenmektedir (Oz et al. 2003). Kollajen bazlı hemostatiklere oranla daha etkin bir hemostaz sağlamaktadır (Szpalski et al. 2004). Jelatinin etkinliğini artırmak için pıhtılaşma faktörü olan trombin ile birlikte kullanıldığı preparatlar vardır (Oz et al., 2003) Topikal trombin uygulamaları kanama odağına direkt olarak uygulanabilmesi ve fibrinojeni hızlı şekilde fibrine dönüştürmesi sonucunda hemostazın sağlanmasında etkin rolü nedeniyle kullanılmaktadır (Gupta et al., 2007).

Kollajen Kaynaklı Hemostatik Ajanlar

Kollajen bazlı hemostatik ajanlar ilk olarak 1970 yılında kullanılmıştır (Schonauer et al. 2004). Genellikle sığır kollajeninden kaynak alır. Kanama odağına temasla beraber bölgeye plateletleri çekerek trombosit aktivitesini uyarır ve agregasyonun sağlanmasıyla trombositlerden oluşan bir tıkaç meydana getirerek etkinliğini gösterir. Sonuçta doğal bir pıhtı tıkaçı oluşumu gerçekleşir. Mikro fibriller kollajen hemostat yedi hafta içerisinde rezorbe olur (ADE 1983, Seyednejad et al. 2008).

Polisakkarit Yapıda Hemostatik Ajanlar

Polisakkarid kaynaklı kanama durdurucu ajanlar da kullanılmaktadır. Bu ajanlar pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonlarını artırmak için üretilmiştir. Genel olarak Poly N-asetil glukozamin ve mikroporöz polisakkarid hemosfer olarak 2 gruba ayrılır. Poly N-asetil Glukozamin grubu bitkisel kaynaklı deniz yosunlarından üretilmiştir. Etki mekanizması, dokuya yapışma, dolaşımdaki kan hücrelerini toplaması, nitrik oksiti temizlemesi ile beraber vazospazm şeklinde özetlenebilir.

Mikroporöz polisakkarid hemosfer yapısı arındırılmış patetes nişastasından elde edilen tamamen bitkisel kaynaklı bir polisakkarittir. Yüzeyinde bulunan geniş porlar sebebiyle kanayan yüzeye uygulanmasıyla bu porlar hızlıca kanın sıvı komponentini absorbe ederek, pıhtılaşma faktörlerinin, trombositlerin ve kırmızı kürelerin ortamdaki konsantrasyonunu artırır. Ayrıca porların şişmesiyle pıhtı oluşumu için bir yüzey oluşturabilecek hemostatik plak gibi davranan jelleri oluşturur. Genel olarak polisakkarit yapıda üretilen kanama durdurucu ajanlar insan proteini içermediğinden dolayı hastalık bulaş riski son derece azdır.

İnorganik Yapıda Hemostatik Ajanlar

Mineral yapıda sentetik, granüler bir zeolittir. Piyasa formu QuikClot®'tur. Özellikle ilk yardım uygulamalarında kullanılmaktadır. Etki mekanizması kanama odağından suyun absorbe edilmesi ve ortamda pıhtılaşma faktörleri ile plateletlerin konsantrasyonunu artırmadır. Uygulandığı bölgede ekzotermik reaksiyona neden olur ve bu şekilde uygulandığı bölgedeki kan damarında koterizasyona sebep olur. Uygulama sırasında lokal olarak 57⁰C'ye ulaştığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Alam et al. 2004).

Fibrin ve Fibrin yapıştırıcı

Fibrin yapıştırıcılar 1909 yılında Bergen tanımlamış ve cerrahi olarak 1915 yılında Grey tarafından ilk defa kullanılmıştır (Grey 1915 atfen Okomato et al 2006). İlk kullanımlardan sonra hastalık taşıma potansiyeli nedeniyle kullanımı sınırlanmıştır (Eryılmaz ve ark., 2007). Günümüze gelen süreçte 1970'li yıllardan sonra tekrar kullanılmaya başlanmıştır (Seyednejad et al., 2008). Fibrin yapıştırıcılar yüksek oranda fibrinojen konstrayonuna sahiptir. Bu özellik etkinliğin yavaş olmasına sebep olur. Yüksek trombin konsantrasyonu olanlar ise hızlı pıhtılaşma sağlarken, nispeten güçsüz bir pıhtı oluşturur (Busittil 2003). Fibrin yapıştırıcıların içinde buldukları trombin fibrinojeni fibrine dönüştürmeye aktive eder. İçinde

bulundurduğu faktör XIII pıhtıyı stabilize ederken, aprotinin ise pıhtının bozulmasını engelleme özelliğindedir. Dezavantaj olarak kan patojenlerinin taşınma olasılıkları vardır (Seyednejad et al. 2008). Fibrin yapıştırıcı uygulamaları ile suture gereksinimleri en aza indirmektedir ancak tek başına suture alternatif olarak kullanılmamalıdır (Batur ve Tunç 2009). Fibrin yapıştırıcılar bu şekilde cerrahi travmanın azaltılarak bölgede ödem oluşumunun sınırlanmasını ve enfeksiyon riskinin azaltılması sağlanır.

Aminokaproik asit ve tranekzamik asit

Aminokaproik asit ve tranekzamik asit antifibrinolitik ilaçlar grubuna girerler. Etkinliğini pıhtılaşma mekanizmasının fibrinolizis aşamasında, plazminojene bağlanıp, plazmin oluşumunu engelleyerek ve plazminin etkisini antagonize ederek gösterir. Tranekzamik asit, aminokaproik asitten daha uzun süre etkili olup, sistemik ve lokal kullanımları bulunmaktadır. Kanama diatezli hastalarda cerrahi işlemler sonrasında sistemik tedaviye yardımcı olarak ta kullanılmaktadır (Vinckier and Vermeylen 1983).

Albuminden Türetilmiş Hemostatik Ajanlar

Albuminden türetilmiş maddeler kanama durdurucu ve doku yapıştırıcı özellikleri nedeniyle geniş kullanım alanları vardır. Bioglue® albumin ve gluteraldehitten türetilmiş içerisinde formaldehit bileşikleri içermeyen kanama durdurucu bir ajandır (Seyednejad et al., 2008). İçerisinde bulunan albumin ve gluteraldehit sebebiyle proteinle ile güçlü çapraz bağlar oluşturarak etkinliğini gösterir (Oz et al., 2003). Rezorbe olabilmesiyle ilgili kesin sonuçlar gösterilememiştir.

Tablo 1: Kanama durdurucu ajanlar

Materyal	Etken maddesi
Selüloz	
<ul style="list-style-type: none">• Surgicel® (Ethicon)• Oxycel® (Becton Dickinson)	<p>Okside rejenere selüloz</p> <p>Okside selüloz</p>
Jelatin	
<ul style="list-style-type: none">• Gelfoam®(Pharmacia &Upjohn)• Surgifoam® (Ethicon)• Floseal® Matrix (Baxter Healthcare)	<p>Domuz jelatini</p> <p>Domuz jelatini</p> <p>Sığır jelatini + insan trombini</p>
Kollajen	
<ul style="list-style-type: none">• Avitene® (Daval)• D-Stat® (Vaskuler Solutions)• Instat® (Ethicon)• CoStasis®/Dynastat,• Vitagel™(Cohesion tec.)• Helistat/helitene® (Integra)	<p>Sığır Kollajeni</p> <p>Sığır Kollajeni + Sığır trombini</p> <p>Sığır Kollajeni</p> <p>Sığır Kollajeni</p> <p>Otolog Plazma ile kombine Sığır trombini</p> <p>Sığır Kollajeni</p>
Fibrin yapıştırıcı	
<ul style="list-style-type: none">• Tisseel® (Baxter)• Quixil® (Ethicon)• TachoComb® H (Nyccomed)	<p>İnsan fibrinojeni, insan trombini ve insan faktör XIII,</p> <p>Sığır aprotinin</p> <p>İnsan fibrinojeni, insan trombini, traneksamik asit</p> <p>At kollajeni, İnsan fibrinojeni, insan trombini, sığır aprotinin</p>
Albuminden Türetilmiş Hemostatik Ajanlar	
<ul style="list-style-type: none">• BioGlue®(CryoLife)	<p>Albumin, gluteraldehit</p>

Polisakkarit Yapıda Hemostatik Ajanlar

- TraumaDex®(Medafor) Bitkisel kökenli, patates nişastası
- Bleed-X ®(Medafor)
- RDH® bandaj(Marine Polymer Tec.) Deniz yosunu
- HemCon® bandaj(Marine Polymer Tec.)

İnorganik Yapıda Hemostatik Ajanlar

- QuikClot® (Z-Medica) Kalsiyum sodyum aluminosilikat, magnezyum aluminosilikat, kuartz

Tranexamic asit - Aminokaproik asit

- Cyklokaprol (Pfizer) Aminoasit türevi
-

2.4. ANKAFERD BLOOD STOPPER

Ankaferd Blood Stopper® (ABS) özellikle diş hekimliği alanında kullanılmak üzere üretilmiş tamamen bitkisel kaynaklı kanama durdurucu bir maddedir. İçeriğinde; *Urtica dioica* (ısırgan otu), *Vitis Vinifera* (üzüm), *Glycyrrhiza Glabra* (meyan kökü), *Alginia Officinarum* (havlıcan) ve *Thymus Vulgaris* (kekik) bulunmaktadır (Göker et al., 2008). Tamamen Türk buluşu bir üründür.

2.4.1. Ankaferd Blood Stopper'in Bileşimi

ABS formülünde 100 ml'lik ürün içerişinde; *Urtica dioica* (kurutulmuş kök ekstresi) 6 mg, *Vitis vinifera* (kurutulmuş yaprak ekstresi) 8 mg, *Glycyrrhiza glabra* (kurutulmuş yaprak ekstresi) 9 mg, *Alpinia officinarum* (kurutulmuş yaprak ekstresi) 7 mg, *Thymus vulgaris* (kurutulmuş ot ekstresi) 5 mg bulunmaktadır (<http://www.ankaferd.com/abs-formul.php> Erişim tarihi: 10 Temmuz 2010).

2.4.1.1. Urtica Dioica (Isırgan Otu)

Isırgan otunun taze veya kurutulmuş çiçek açmış bitki ve kökleri tıbbi olarak kullanılmaktadır. Taze ısırgan otunun içeriğinde; histamin, serotonin, asetilkolin, formik asit, lökotrienler, flavanoidler, silisik asit, uçucu yağlar, potasyum iyonları, nitratlar kök kısmında ise steroid, lektin, polisakkaridler, hidroksikumarinler bulunmaktadır (PDR 2004).

Isırgan otu antik çağlardan bu yana tedavi edici bir bitki olarak kullanılmaktadır. Yunan bilgin Dioskorides ve Galen ısırgan otunun idrar söktürücü ve ishal yapıcı etkilerinden ve astma, plörezi ve karaciğer kökenli hastalıkların tedavisinde kullanımından bahsetmişlerdir. Yine Romalı tabiat bilgini Pliny hemostatik özelliklerini rapor etmiştir. Geleneksel Afrika tıbbında burun kanamalarında, menstrasyon ve iç kanamaların tedavisinde, yanıklarda

kullanılmıştır. Hindistanda uterin kanamalarda, cilt döküntülerinde, egzemalarda ve burun kanamalarında kullanılmaktadır. Kuzey Amerika yerlileri antiromatizmal ve doğumda yardımcı olarak kullanmışlardır. Isırgan otu ile yapılan çalışmalarda antifungal, antioksidan, antiinflamatuvar, antiülser ve analjezik etkinliği olduğu gösterilmiştir (Gülçin et al., 2003, Göker ve Özmen 2009).

2.4.1.2. Vitis Vinifera (Üzüm)

Üzümün yaprak kısımları, meyve ve suları tıbbi olarak kullanılmaktadır. Üzüm (Vitis) yeryüzünde kültürü yapılan en eski meyve türlerinden birisidir. Dünyanın değişik bölgelerinde bulunmakla birlikte anavatanı Anadolu, Kafkasya'yı da kapsayan bölgedir ayrıca güney Avrupa'da sıklıkla bulunur (PDR 2004). Üzümün içeriğinde flavoidler, tanin, meyve asitleri, fenilakrilik asit bulunmaktadır. Üzümün periferik venöz yetmezliğe karşı, ayrıca antiaterosklerotik etkinliği, antikarsinojenik ve antitümöral etkinliği, antioksidan etkinliği, sitotoksik etkinliği, vasküler etkinliği gibi birçok alanda pozitif etkinliği vardır (Ye et al. 1999).

2.4.1.3. Glycyrrhiza Glabra (Meyan)

Meyan kökü daha çok tıbbi olarak kullanılmaktadır (PDR 2004). Meyan kökünün içeriğinde tripene saponin, flavoidler, gliserol, isoflavoidler, steroid uçucu yağlar bulunmaktadır. Üst solunum yolları ve bronşit için mukolitik etkili ekspektorandır. Saponinleri özellikle glisirinizik asit bakteriyostatik ve antiviral aktiviteye sahiptir. Gastrit ve mide ülserlerinde, peptik ülser profilaksisinde ve tedavisinde antiflojistik ve spazmolitiktir. Glisirinizik asit ve aglikonu gliseretik asit antiflojistik aktiviteye sahiptir, prostaglandin sentezini engellemez. Her iki madde de drogun mineralokortikoid etkilerinden sorumludur. Spazmolitik etki flavonoidlerden ileri gelmektedir. Yoğun tatlı lezzeti nedeniyle ilaç, şekerleme ve bazı gıda ürünlerine lezzet zenginleştirici olarak konur. Yapılan çalışmalarda antibakteriyel,

antifungal, antiviral, antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar etkileri gösterilmiştir. (Heck et al. 2000, PDR 2004) .

2.4.1.4. *Alphina Officinarum* (Havlıcan)

Bir çenekliler sınıfının zencefilgiller familyasından güzel çiçekli, ıtırılı, çok yıllık, otsu bitkidir. Havlıcanın kök kısımları tıbbi olarak kullanılmaktadır (PDR 2004). Havlıcanın içeriğinde flavoidler, tanin, gingerol, uçucu yağlar bulunmaktadır. Antispazmotik ve antibakteriyel özellikleri vardır (PDR 2004).

2.4.1.5. *Thymus Vulgaris* (Kekik)

Kekiğin taze kekik yağı, kuru ve taze yaprakları, çiçek kısımları tıbbi olarak kullanılmaktadır (PDR 2004). Kekiğin içeriğinde uçucu yağ, flavoidlerden luteolin, salvigenin, kafeik asit, ursolik asit gibi birçok bileşik bulunmaktadır. Kekiğin; bronşlarda antispazmodik, balgam sökücü, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoan ve antioksidan etkileri vardır (PDR 2004, Benli ve Yiğit 2005).

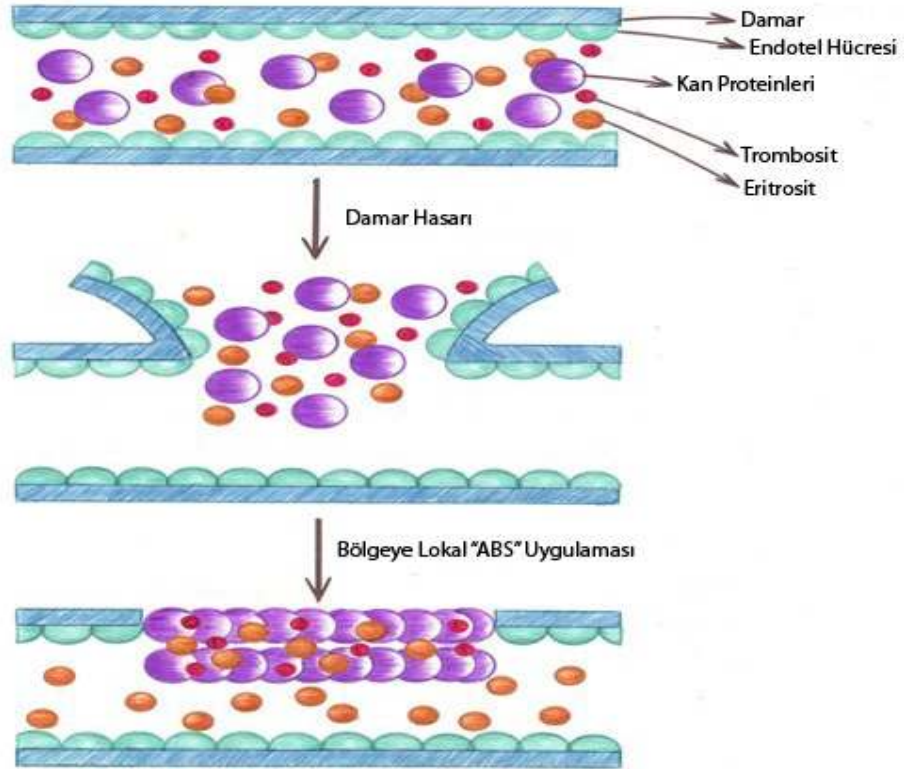
2.4.2. ABS'in etki mekanizması

Ankaferd Blood Stopper, fibrinojen başta olmak üzere kan proteinleri ve eritrositlerin plazma ve serumunda protein ağı(network) meydana getirmesiyle etkinliğini göstermektedir. Ankaferd Blood Stopper'in etkisi saliseler gibi kısa sürede ve çok hızlı başlamaktadır.

ABS ile indüklenmiş ağ formasyonu ABS ve kan proteinleri (özellikle fibrinojen) arasındaki etkileşime bağlıdır. ABS 'nin temel mekanizması en kapsüle protein ağı formasyonu aracılığıyla eritrositlerin agregasyonunu(çökelme) için fokal odak oluşumunu sağlamaktadır. ABS kullanımını takiben plazma fibrinojen

aktivitesinde azalma ve fibrinojen antijeninde düşme olduğu, buna bağlı trombin zamanının uzadığı bildirilmektedir. Ayrıca plazmada; total protein, albumin ve globulin seviyelerinin de anlamlı oranda düştüğü görülmüştür. Bu yüzden, ABS, fibrinojen–eritrosit aglütinasyon ilişkisini etkilemekte ve sonuçta eritrosit agregasyonunu stimüle eden bir protein ağı oluşturmaktadır (Şekil 5)(Göker et al. 2008).

ABS ile indüklenmiş protein ağı formasyonu bireyin pıhtılaşma faktörlerinden (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII) bağımsız olarak bütün fizyolojik hemostatik süreçlere etki eder bu nedenle Ankaferd Blood Stopper hem normal hemostatik değerlere sahip bireylerde hem de birincil ya da ikincil hemostazı defektif olan bireylerde etkilidir (Göker et al., 2008)



Şekil 5: Ankaferd Blood Stopper etki mekanizması

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü tarafından desteklendi. Çalışma için, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan hayvan etiği açısından onay alındı (EK 1). Defekt alanından alınan kemik biopsi örnekleri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında ışık mikroskopik ve histomorfometrik olarak değerlendirildi.

3.1. Gereç

Çalışmaya 30 adet iskeletsel gelişimini tamamlamış, 12 aylık erkek, (360 ± 40) gr ağırlığında Wistar Albino rat cinsi deney hayvanı dahil edildi. Çalışmada deney hayvanlarının her iki femuru da kullanılarak çalışma ve kontrol grupları oluşturuldu.

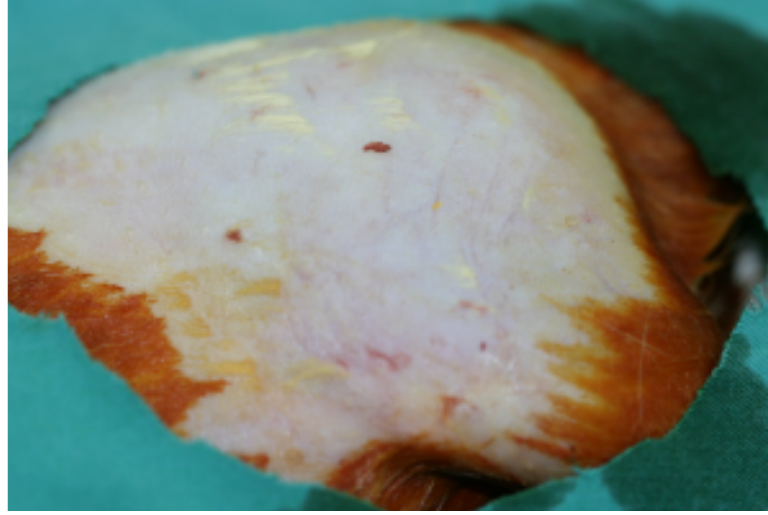
3.2. Yöntem

3.2.1. Cerrahi Uygulamalar

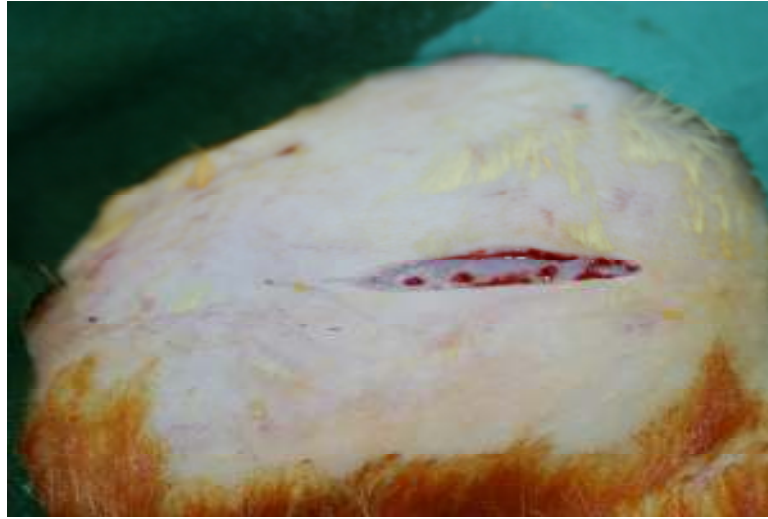
Çalışmada kullanılacak deney hayvanları standardize edilmiş kafeslerde 5 ratlık gruplar halinde normal diyet ve musluk suyu ile beslendi. Denekler deney süresince 21±1 C° sıcaklıkta, bağıl nem oranı %40-60, ışık periyodu 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde standart odalarda muhafaza edildi.

Araştırmada cerrahi girişimler Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarında, genel anestezi altında, standart asepsi-antisepsi koşulları sağlanarak yapıldı. Çalışmada her ratın sağ ve sol femurları kullanıldı. Ratlarda çalışma grubu sağ femur, kontrol grubu ise sol femur olarak standartize edildi. Ameliyat öncesi ratların ağırlıkları ölçülerek, ağırlıklarına oranla yaklaşık olarak 15 mg/kg Ketamin HCL (*Alfamine %10*[®]) ve 60 mg/kg Kslazine HCL (*Alfazyne %2*[®]) IM uygulanarak genel anestezi sağlandı. Yeterli

anestezi derinliği elde edildikten sonra deneklerin femur bölgeleri %10 luk Povidon-Iyot solüsyonu (*İsosol*[®], *Merkez Lab., İst.*) ile temizlenip tıraş edildi (Resim1). Operasyon bölgesinde 2 cm uzunluğunda longitudinal cilt insizyonu yapıldı (Resim2).



Resim 1: Operasyon sahasının görünümü



Resim 2: Cilt insizyonu

Cilt insizyonunu takiben künt diseksiyonla, femoral damar ve sinire dikkat edilerek, femurların medial yüzeylerine ulaşıldı (Resim3). Femurun proksimal kısmında en geniş çaplı bölgede 3 mm çaplı trefin frez ile medullaya ulaşan 3 mm derinlikte monokortikal dairesel defektler oluşturuldu (Resim4). Ratın sağ femur defekt bölgesine 0,5 ml Ankaferd Blood Stopper (*Immun*[®]) uygulandı. Aynı deneğin

sol femur defekt bölgesi kontrol grubu olması amacıyla herhangi bir işlem uygulanmadı.



Resim 3: Femur kemiğine ulaşmak için yapılan yumuşak doku diseksiyonu



Resim 4: Kemik kavitelerinin hazırlanması

Deney prosedürü uygulandıktan sonra kas ve cilt altı dokular 4/0 emilebilir suture (*Buril 4/0 AlfaTıp. Bursa*) ile (Resim 5), cilt 3/0 ipek (*Bursilk® USP 3/0 Göksel Med. Bursa*) ile (Resim6) primer olarak suture edildi. Dokular primer olarak suture edildikten sonra operasyon bölgesi tekrar %10 luk Povidon-Iyot solüsyonu ile dezenfekte edildi (Resim7).



Resim 5: Cilt altı dokuların suture edilmesi



Resim 6: Cildin suture edilmesi



Resim 7: Operasyon bölgesinin temizlenmesi

Tüm deneklere operasyondan sonra ve 3 gün süre ile antibiyotik (*Amikozit, Eczacıbaşı-Zenitiva*[®]) intramuskuler olarak verildi. Denekler 7.gün, 28.gün ve 42.gün olmak üzere yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi. Defekt bölgesi çıkarılarak histomorfometrik incelemenin yapılabilmesi için %10'luk formol solüsyonu içerisine yerleştirildi.

3.2.2. Histomorfometrik İncelemeler

Elde edilen örneklerin histomorfometrik değerlendirmesinin yapılabilmesi için dokular birtakım aşamalardan geçirildi.

3.2.2.1. Fiksasyon ve Formalinden Arındırma İşlemi

Örnekler %10'luk tamponlu nötral formalin içerisinde en az 72 saat fikse edildi. Örneklerden formalinin uzaklaştırılması için, önce akan çeşme suyunda sonra tamponlu fosfat solüsyonunda (PBS) en son da distile suda yıkandı.

3.2.2.2. Gümüş Boyama İşlemi

Örnekler %10'luk gümüş nitrat solusyonu içerisinde 24 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda doku içerisine alınan gümüş nitratin doku içerisinde tesbitini sağlamak için önce %10'luk formalin daha sonra da sodyum tiyosülfat solüsyonu içerisinde bekletilip daha sonra akan suda 2 saat yıkanarak dekalsifikasyon işlemine hazır hale getirildi. Bu şekilde görece osteoid-mineralize kemik ayrımına gidildi. Ayrıca aşağıda belirtilen aşamalar sonrası hematoksilen eozinle (H&E) boyanan kesitler incelendi

3.2.2.3. Dekalsifikasyon İşlemi

Dekalsifikasyon işleminde boyaya ve kemik dokuya zarar vermeden dekalsifiye etme yeteneği yüksek olan TBD-2 dekalsifiyer solüsyonu tercih edildi. En az 24 saat bu solüsyon içerisinde bekletilerek dekalsifikasyon işlemleri tamamlandı. Tüm örnekler dekalsifiye olduktan sonra 3-4 saat akan suda yıkandı. Kemik örnekleri, otomatik kaset yazıcısı ile kasetlenerek doku takibi işlemine geçildi (Resim 8).



Resim 8: Otomatik kaset yazıcı cihazı (Thermo Shandon-Microwritten)

3.2.2.4. Doku Takip İşlemi

Doku takip işlemi parafin tekniği kullanılarak kapalı devre otomatik ototeknikon cihazında gerçekleştirildi. Bu takip cihazı ile doku takip kasetleri içindeki dokulara pres, ısı, vibrasyon ve titrasyon uygulamaları otomatik olarak gerçekleştirildi (Resim 9). Daha sonra sırasıyla, %10'luk tamponlu nötral formalin, alkol, ksilen, parafin uygulamalarından geçirilerek doku takip işlemi sona erdirildi.



Resim 9: Otomatik doku takip cihazı (Thermo Shandon-Pathcenter)

3.2.2.5. Bloklama İşlemi

Doku takip işleminden sonra dokulara otomatik bloklama cihazında bloklama işlemine geçildi (Resim 10). Doku takip kaseti içinde gerçekleştirildi. Bloklama sonrası dokular dondurucuda -20 derecede donduruldu.



Resim 10: Parafin blok içerisinde doku örneği

3.2.2.6. Kesit Alma İşlemi

Parafin bloklardan tam motorize rotary mikrotomu (Resim 11) yardımıyla 3-4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu dokular sıcak su banyosuna alınarak kırışıkları giderilirdi. Tam açılan kesitler lam üzerine alındı. Lamın üzerine alınan kesitler etüve konularak kurutulur. Etüv (Resim 12) sıcaklığı parafinin erime derecesinden 10 derece daha yüksek ayarlanarak parafinin tam olarak erimesi ve dokunun lam üzerine fikse olması sağlandı.



Resim 11: Mikrotom cihazı (Thermo Shandon-Rotary)



Resim 12: Etüv (Thermo Shandon-Heraeus Oven)

3.2.2.7. Hematoksilen Eozin Boyama İşlemi

Otomatik boyama cihazında gerçekleştirilen boyama işlemine geçildi (Resim 13).

Sırasıyla;

Ksilen

Alkol

Suda yıkama

Hematoksilen boyası içinde bekletme

Suda yıkama

Asit alkol

Suda yıkama

Amonyaklı suda bekletme

Suda yıkama

Eozin boyası içinde bekletme

Alkol

Ksilen işlemleri uygulanarak boyama işlemi tamamlandı.



Resim 13: Otomatik boyama cihazı (Thermo shandon-Varistain XY)

3.2.2.8. Preperatları Kapama İşlemi

Hemotoksilen-Eozin ile boyanan preparatlar ksilenden çıkarıldıktan sonra otomatik cihazda üzerine 1 damla entellan damlatılarak lamelle kapatıldı(Resim 14). İşlem tamamlanmasından sonra mikroskopik incelemelere geçildi.



Resim 14: Otomatik preperat kapama cihazı (Theermo Shandon-Consul)

3.2.2.9. Histomorfometrik Değerlendirme

Axiocam cihazı mikroskobu kullanılarak elde edilen görüntüler bilgisayara aktarıldı ve Axiovision Release 4.7.1 software yazılım programı ile değerlendirildi(Resim 15).

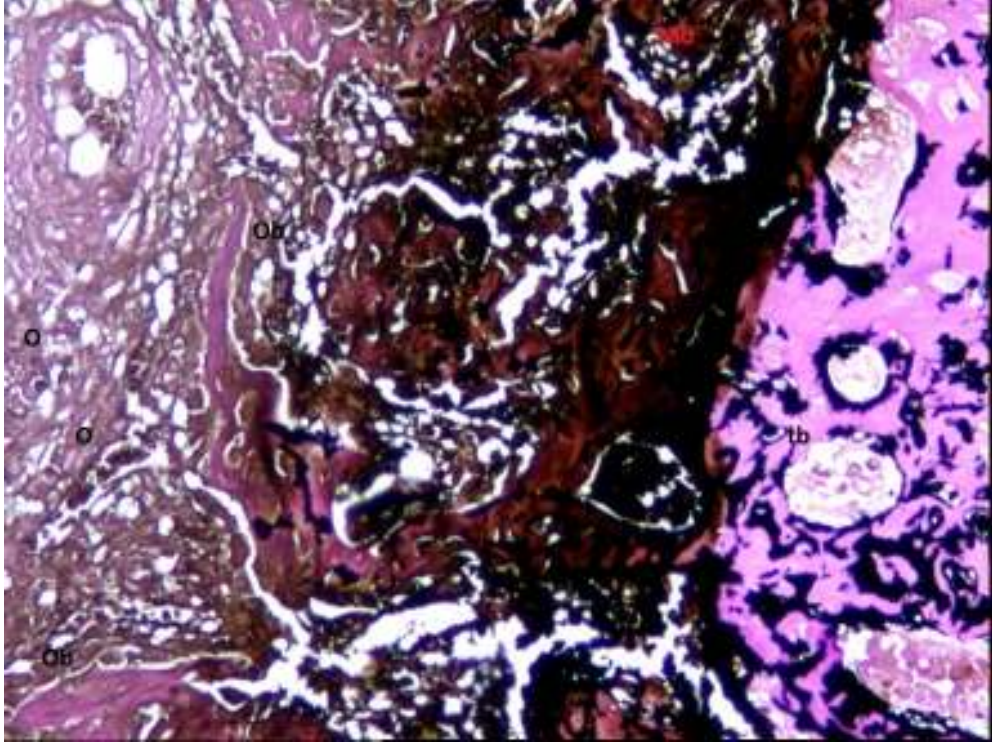


Resim 15: Axiocam cihazı (Zeiss Axiocam MRC)

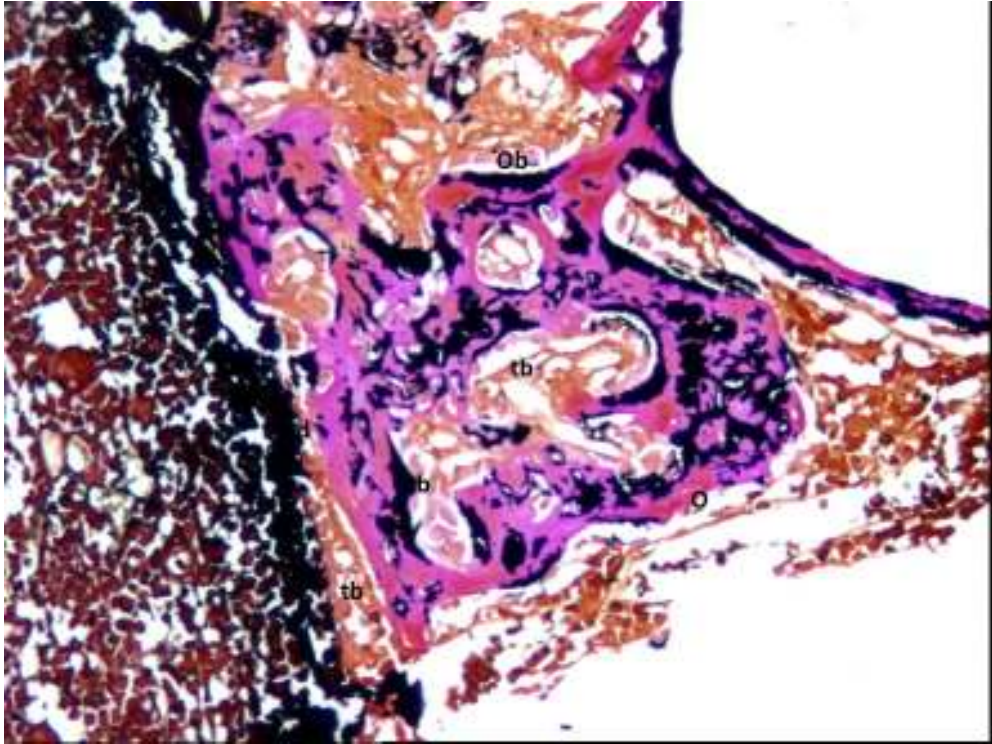
Herbir örnek ışık mikroskobik ve histomorfometrik olarak defekt bölgesindeki yeni oluşan kemiğin değerlendirilmesi yapıldı. İlk olarak histolojik değerlendirmesi sonucunda skorlama yapıldı. Bu skorlamaya göre defekt bölgelerinde:

- 1 puan: hematoma varlığı
- 2 puan: hematoma ve fibröz doku varlığı
- 3 puan: hematoma ve örgü kemik
- 4 puan: hematoma ve yoğun örgü kemik
- 5 puan: örgü kemik olarak değerlendirme yapılmıştır.

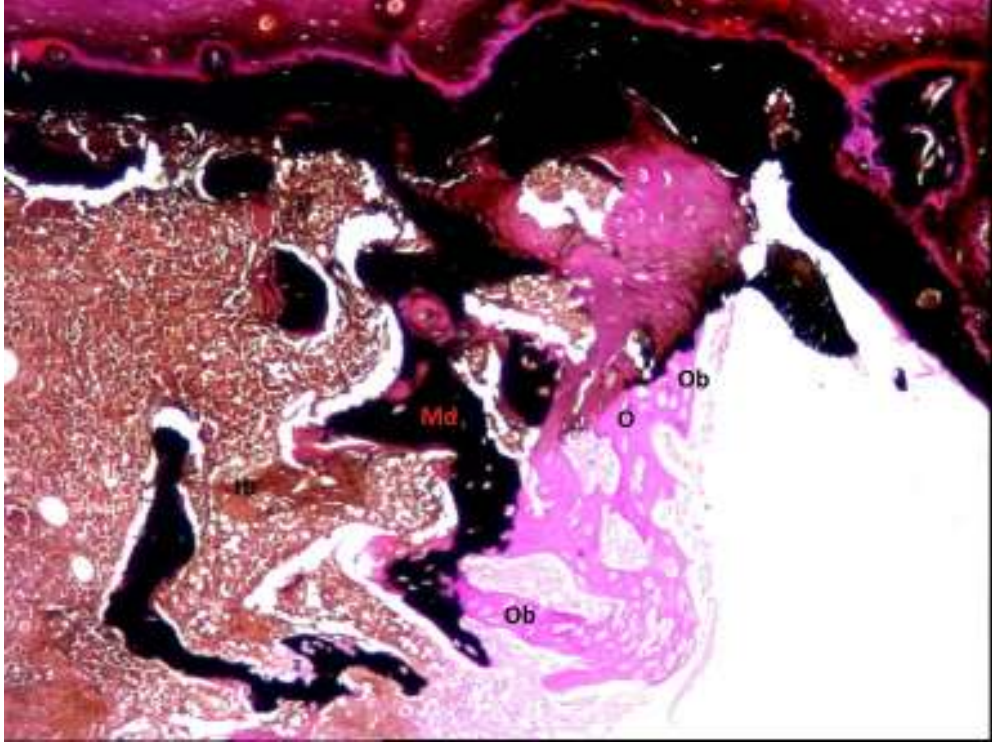
Işık mikroskobik değerlendirme sonrasında dokular histomorfometrik olarak medullar kemik çapı, trabeküler kemik yüzey alanı, osteoid yüzey alanı, mineralize kemik yüzey alanı, osteoblast yüzey alan ölçümleri yapılmıştır. Her bir örnekte trabeküler kemik yüzey alanı ve medullar kemik çapı x40 (4/0.10 objektif, 10/23 oküler büyütmede) standart alanlarda ölçümler yapıldı. Diğer histomorfometrik parametrelerden osteoid yüzey alanı, osteoblast yüzey alanı ve mineralize kemik yüzey alanı x400 (40/0.65 objektif, 10/23 oküler büyütmede) ölçümleri yapıldı. Gruplara ait histolojik kesitlerin fotoğrafları aşağıdadır (Resim 16,17,18,19,20,21).



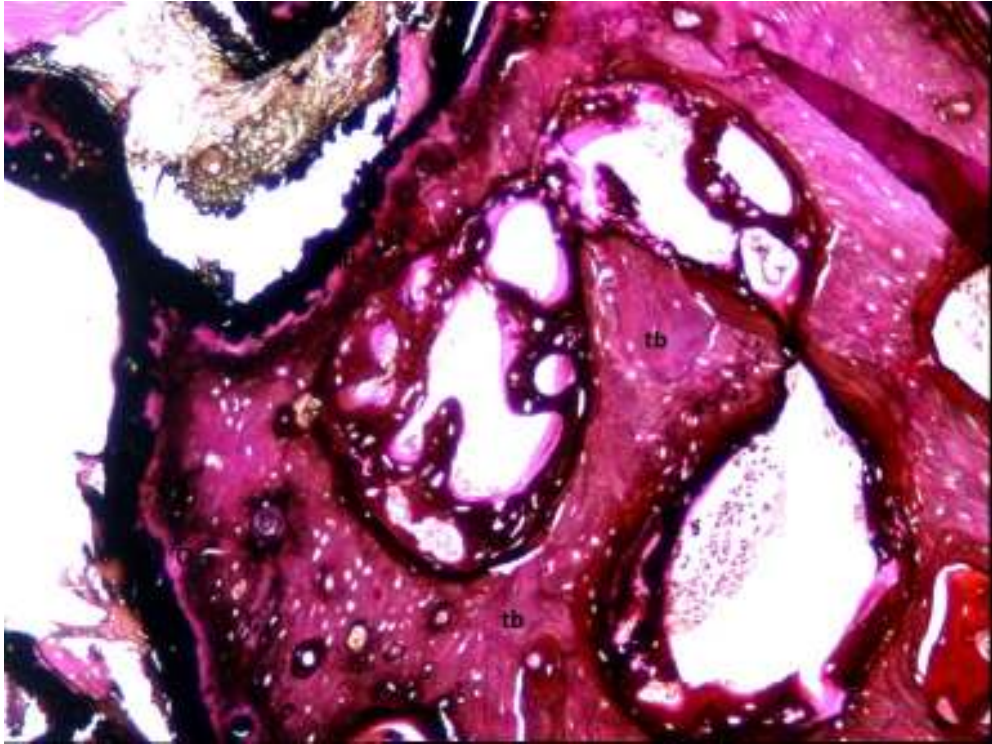
Resim 16: 1 Grup 1 no'lu örneğe ait histolojik kesit
modifiye gümüşleme ve H&E boyası x 200
Md: mineralize alan, O: osteoid, Ob: osteoblast, Tb: trabeküler kemik



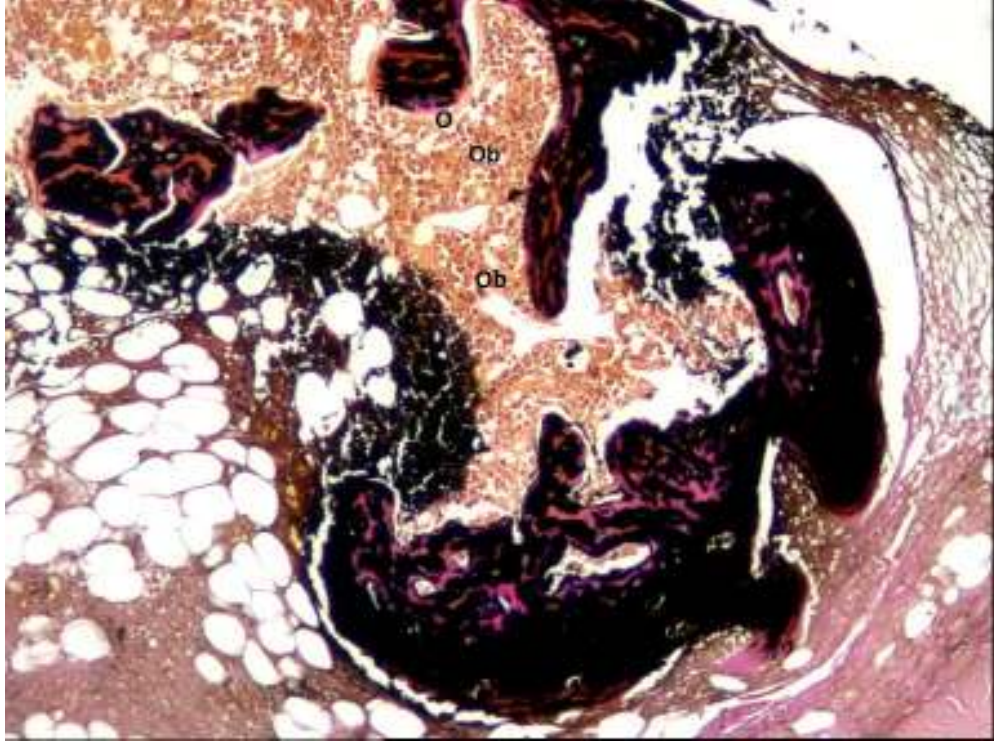
Resim 17: 2. Grup 6 no'lu örneğe ait histolojik kesit
modifiye gümüşleme ve H&E boyası x 100
Md: mineralize alan, O: osteoid, Ob: osteoblast, Tb: trabeküler kemik



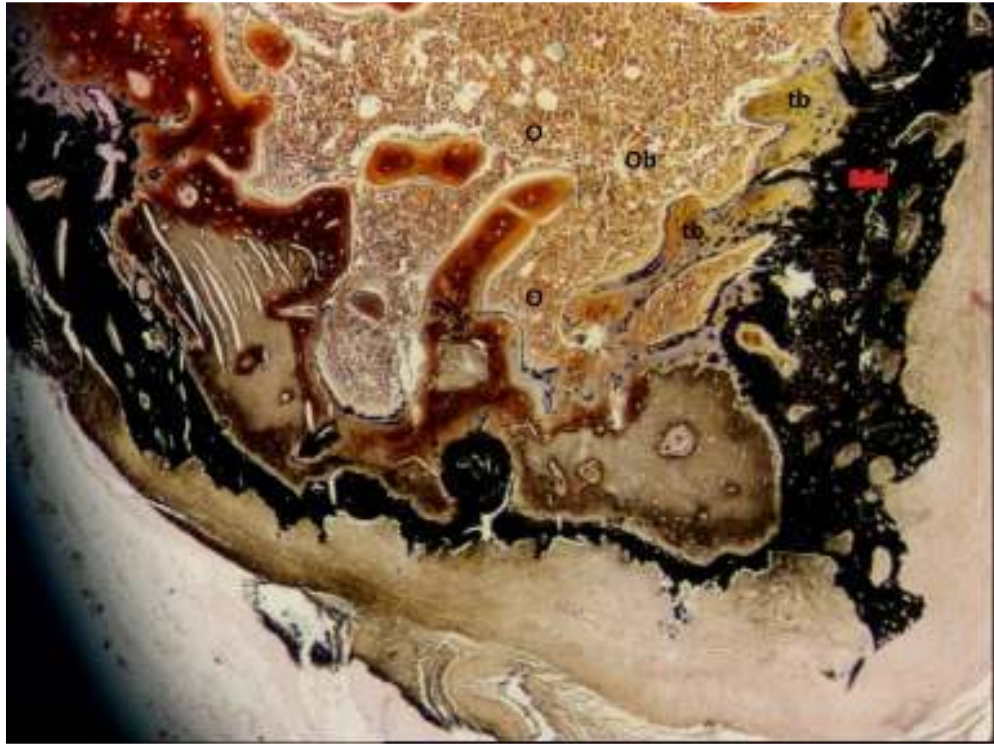
Resim 18: 3. grup 23 no'lu örneğe ait histolojik kesit
modifiye gümüşleme ve H&E boyası x 100
Md: mineralize alan, O: osteoid, Ob: osteoblast, Tb: trabeküler kemik



Resim 19: 4. grup 22 no'lu örneğe ait histolojik kesit
modifiye gümüşleme ve H&E boyası x 200
Md: mineralize alan, O: osteoid, Ob: osteoblast, Tb: trabeküler kemik



Resim 20: 5. Grup 47 no'lu örneğe ait histolojik kesit
modifiye gümüşleme ve H&E boyası x 100
Md: mineralize alan, O: osteoid, Ob: osteoblast, Tb: trabeküler kemik



Resim 21: 6. Grup 60 no'lu örneğe ait histolojik kesit
modifiye gümüşleme ve H&E boyası x 100
Md: mineralize alan, O: osteoid, Ob: osteoblast, Tb: trabeküler kemik

4.BULGULAR

Çalışmaya, 30 adet Wistar Albino rat dahil edilmiştir. 1 rat anestezi komplikasyonu nedeniyle ölmüştür. Operasyonları takiben 10 rat 7. gün, 10 rat 28. gün ve 9 rat 42. gün sonunda sakrifiye edilmiştir. Çalışma sonucunda deney grubundan 29 adet örnek ve kontrol grubundan 29 adet örnek olmak üzere toplam 58 örnek histolojik olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel incelemeler, SPSS 10.0 (Chicago, SPSS Inc. 1999) paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak Mann-Whitney-U, Ki Kare ve Pearson Korelasyon analizi yapılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler 7. gün deney ve kontrol grubu, 28. gün deney ve kontrol grubu, 42. gün deney ve kontrol grubu olmak üzere 6 grup içerisinde incelenmiştir.

Grup 1 (7. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu)

Grup 2 (7. gün kontrol grubu)

Grup 3 (28. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu)

Grup 4 (28. gün kontrol grubu)

Grup 5 (42. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu)

Grup 6 (42. gün kontrol grubu) olarak değerlendirilmiştir.

Histomorfometrik inceleme sonrasında elde edilen veriler tablo 2-3-4-5-6-7 da gösterilmiştir.

Tablo 2: Grup 1 (7. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu)

Örnek no	Trabeküler kemik yüzey alanı (μm^2)	Medullar kemik çapı (μm)	Osteoid yüzey alanı (μm^2)	Mineralize kemik yüzey alanı (μm^2)	Osteoblast yüzey alanı (μm^2)	Histolojik skorlama
1	78931,32	2451,6	1575,64	10278,71	619,96	3
3	144276,79	1799,42	170,97	2178,83	96,38	1
5	197475,35	1741,42	570,67	2478,25	142,12	3
7	105857,99	1584,48	191,21	348,47	29,7	3
9	885502,96	2322,9	203,43	762,89	10,19	3
11	670555,56	2222,92	95,95	529,07	364,21	4
13	227534,52	2116,87	1304,55	5114,88	566,95	3
15	483892,18	2283,37	568,76	1826,98	694,84	3
17	73458,25	2105,2	406,86	2345,73	94,83	2
19	88389,22	2408,69	1798,26	11157,44	430,42	3

Tablo 3: Grup 2 (7. gün kontrol grubu)

Örnek no	Trabeküler kemik yüzey alanı (μm^2)	Medullar kemik çapı (μm)	Osteoid yüzey alanı (μm^2)	Mineralize kemik yüzey alanı (μm^2)	Osteoblast yüzey alanı (μm^2)	Histolojik skorlama
2	90483,23	2038,3	613,71	2337,02	167,22	3
4	40764,72	2524,96	176,75	4750,8	29,41	1
6	212932,28	1987,61	552,66	8841,41	71,8	3
8	106118,25	2173,77	279,01	1058,33	22,48	3
10	141429,98	2123,17	356,39	5058,78	88,16	2
12	869976,99	2106,5	659,72	2679,97	155,39	3
14	255095,33	1784,25	398,55	2107,89	355,08	2
16	374677,84	2235,56	299,97	1442,95	20,67	2
18	261186,72	1963,13	910,53	6289,5	81,39	2
20	127537,8	1658,33	287,91	2195,85	303,95	3

Tablo 4: Grup 3 (28. Gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu)

Örnek no	Trabeküler kemik yüzey alanı (μm^2)	Medullar kemik çapı (μm)	Osteoid yüzey alanı (μm^2)	Mineralize kemik yüzey alanı (μm^2)	Osteoblast yüzey alanı (μm^2)	Histolojik skorlama
21	906229,45	2238,03	405,42	3251,82	862,16	1
23	176402,37	2082,22	909,84	8123,5	439,16	4
25	1009582,51	2303,59	1666,33	7399,78	1141,07	1
27	191831,03	1773,74	931,1	10512,77	563,21	2
29	483957,92	1920,38	1269,78	6109,36	409,99	2
31	897508,22	1810,64	1395,53	6602,38	700,69	1
33	889230,77	2030,68	1268,83	6572,55	521,05	1
35	192817,23	2058,1	1455,55	10967,28	632,18	1
37	387856,67	2317,39	138,6	832,03	138,3	2
39	1039145,3	2138,2	800,95	7317,17	743,7	3

Tablo 5: Grup 4 (28. gün kontrol grubu)

Örnek no	Trabeküler kemik yüzey alanı (μm^2)	Medullar kemik çapı (μm)	Osteoid yüzey alanı (μm^2)	Mineralize kemik yüzey alanı (μm^2)	Osteoblast yüzey alanı (μm^2)	Histolojik skorlama
22	721354,37	2077,82	977,33	4686,06	377,22	4
24	328524	2048,46	470,68	3706,99	522,5	1
26	782938,86	1817,68	3074,91	16693,73	974,34	1
28	229066,14	1978,4	1013,38	12379,97	371,84	2
30	687603,55	2048,23	2518,2	14627,47	1225,13	1
32	544674,56	1669,83	651,21	6095,56	234,81	3
34	1026324,79	2081,46	769,1	8608,61	404,3	2
36	447508,22	2252,14	541,69	4614,72	195,64	3
38	92024,98	1540,85	2545,05	11248,32	1274,41	3
40	298336,62	1695,41	695,01	2889,58	143,1	3

Tablo 6: Grup 5 (42. gün Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubu)

Örnek no	Trabeküler kemik yüzey alanı (μm^2)	Medullar kemik çapı (μm)	Osteoid yüzey alanı (μm^2)	Mineralize kemik yüzey alanı (μm^2)	Osteoblast yüzey alanı (μm^2)	Histolojik skorlama
41	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>Yok</i>
43	499641,68	1953,33	1356,66	15862,03	354,85	3
45	462764,63	2680,77	3138,19	29514,44	1061,75	4
47	609779,75	2311,14	949,11	12015,26	426,64	5
49	212504,93	2014,37	1783	18615,28	326,92	4
51	872955,29	2648,22	2164,7	33965,06	518,78	4
53	844579,22	2391,97	2739,22	20176,36	591,5	5
55	539694,28	1911,8	1127,1	28131,75	407,9	5
57	794023,67	2446,8	655,51	5791,38	481,09	4
59	1182123,6	2485,15	1806,14	24766,7	995,96	5

Tablo 7: Grup 6 (42. gün kontrol grubu)

Örnek no	Trabeküler kemik yüzey alanı (μm^2)	Medullar kemik çapı (μm)	Osteoid yüzey alanı (μm^2)	Mineralize kemik yüzey alanı (μm^2)	Osteoblast yüzey alanı (μm^2)	Histolojik skorlama
42	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>yok</i>	<i>Yok</i>	<i>Yok</i>
44	414671,27	1690,3	2379,14	24741,2	339,07	3
46	852011,83	2684,19	1925,59	27861,81	661,92	3
48	469276,79	2207,98	683,34	9063,44	201,3	4
50	409454,31	2067,35	3965,66	18417,33	761,02	4
52	552639,71	2757,21	557	7672,91	301,62	5
54	200088,76	2085,25	1924,77	33386,97	963,43	5
56	827426,04	2058,97	2385,65	34342,78	665,33	5
58	658145,96	2196,74	3721,71	50619,1	1391,85	5
60	669957,26	1774,36	3319,02	41248,69	1049,3	5

7.gün gruplarının istatistikî sonuçları (Grup 1 – Grup 2)

Grup 1 trabeküler kemik yüzey alanı ile grup 2 trabeküler kemik yüzey alanları arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 8).

Tablo 8: Grup 1 - Grup 2 Trabeküler kemik yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 1	10	73458,25	885502,96	295587,414	2,8605
Grup 2	10	40764,72	869976,99	248020,314	2,3993

Mann Whitney U=49.000 p=0.940

Grup 1 medullar kemik çapı ile grup 2 medullar kemik çapı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 9).

Tablo 9: Grup 1 - Grup 2 Medullar kemik çapları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 1	10	1584,48	2451,60	2103,7000	2,9855
Grup 2	10	1658,33	2524,96	2059,6000	240,0405

Mann Whitney U=42.000 p=0.545

Grup 1 osteoid yüzey alanı ile grup 2 osteoid yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 10).

Tablo 10: Grup 1 - Grup 2 Osteoid yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 1	10	95,95	1798,26	688,6300	6,3308
Grup 2	10	176,75	910,53	453,5200	225,4333
Mann Whitney U=48.000		p=0.880			

Grup1 mineralize kemik yüzey alanı ile grup 2 mineralize kemik yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 11)

Tablo 11: Grup 1 - Grup 2 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 1	10	348,47	11157,44	3702,1000	3,9434
Grup 2	10	1058,33	8841,41	3676,2000	2491,1528
Mann Whitney U=43.000		p=0.597			

Grup 1 osteoblast yüzey alanı ile grup 2 osteoblast yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 12).

Tablo 12: Grup 1 - Grup 2 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 1	10	10,19	694,84	304,9600	2,6160
Grup 2	10	20,67	355,08	129,5500	117,4167
Mann Whitney U=29.000		p=0.112			

Grup1 histolojik skorlama ile grup 2 histolojik skorlama arasında yapılan Ki kare testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur $p<0.05$ (Tablo 13).

Tablo 13: Grup 1 - Grup 2 Histolojik skorlamaları ilişkisi

Histolojik skorlama	Grup 2			
	1	2	3	toplam
Grup 1	1	0	0	1
	2	1	0	1
	3	3	4	7
	4	0	1	1
Toplam	1	4	5	10

Ki kare=10.800 p=0.013

28. gün gruplarının istatistiki sonuçları (Grup 3 – Grup 4)

Grup 3 trabeküler kemik yüzey alanı ile grup 4 trabeküler kemik yüzey alanları arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 14)

Tablo 14: Grup 3 - Grup 4 Trabeküler kemik yüzeyleri ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 3	10	176402,37	1039145	617460,0000	3,6420
Grup 4	10	92024,98	1026324,79	515840,0000	2,3993

Mann Whitney U=42.000 p=0.545

Grup 3 medulla çapı ile grup 4 medulla çapı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 15)

Tablo 15: Grup 3 - Grup 4 Medullar kemik çapı ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 3	10	1773,74	2617,39	2067,3000	190,8574
Grup 4	10	1540,85	2252,14	1921,0000	227,2756

Mann Whitney U=31.000 p=0.151

Grup 3 osteoid yüzey alanı ile grup 4 osteoid yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 16).

Tablo 16: Grup 3 - Grup 4 Osteoid yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 3	10	138,60	1666,33	1024,2000	482,4930
Grup 4	10	470,68	3074,91	1325,7000	982,9520

Mann Whitney U=48.000 p=1.000

Grup 3 mineralize kemik yüzey alanı ile grup 4 mineralize kemik yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 17)

Tablo 17: Grup 3 - Grup 4 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 3	10	832,03	10967,28	6768,9000	3023,8691
Grup 4	10	2889,58	16693,73	8555,1000	4911,9422

Mann Whitney U=43.000 p=0.597

Grup 3 osteoblast yüzeyi alanı ile grup 4 osteoblast yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 18).

Tablo 18: Grup 3 - Grup 4 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 3	10	138,30	1141,07	615,1500	273,6054
Grup 4	10	143,10	1274,41	572,3300	425,5337

Mann Whitney U=39.000 p=0.406

Grup 3 histolojik skorumla ile grup 4 histolojik skorumla arasında yapılan Ki kare testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p < 0.05$ (Tablo 19).

Tablo 19: Grup 3 - Grup 4 Histolojik skorlamaları ilişkisi

Histolojik Skorumla	Grup 4					Toplam
	1	2	3	4		
Grup 3	1	1	2	1	5	
	2	1	1	0	3	
	3	0	0	0	1	
	4	1	0	0	1	
Toplam	3	2	4	1	10	

Ki kare=2.000 p=0.572

42. gün gruplarının istatistiksel sonuçları (Grup 5 – Grup 6)

Grup 5 trabeküler kemik yüzey alanı ile grup 6 trabeküler kemik yüzey alanları arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p > 0.05$ (Tablo 20).

Tablo 20: Grup 5 - Grup 6 Trabeküler kemik yüzeyleri ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 5	9	212504,93	1182123,6	668675,00000	2,8530
Grup 6	9	200088,76	852011,83	56152,000000	2,1216

Mann Whitney U=31.000 p=0.402

Grup 5 medullar kemik çapı ile grup 6 medullar kemik çapı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 21)

Tablo 21: Grup 5 - Grup 6 Medullar kemik çapları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 5	9	1911,80	2680,77	2316,0000	291,7255
Grup 6	9	1690,30	2757,21	2169,1000	358,4773
Mann Whitney U=33.000		p=0.508			

Grup 5 osteoid yüzey alanı ile grup 6 osteoid yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 22).

Tablo 22: Grup 5 - Grup 6 Osteoid yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 5	9	655,51	3138,19	1746,6000	826,4227
Grup 6	9	557,00	3965,66	2318,0000	1213,3317
Mann Whitney U=27.000		p=0.223			

Grup 5 mineralize kemik yüzey alanı ile grup 6 mineralize kemik yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 23)

Tablo 23: Grup 5 - Grup 6 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 5	9	5791,38	33965,06	20982,0000	9016,8393
Grup 6	9	7672,91	50619,10	27484,0000	14266,4553
Mann Whitney U=30.000		p=0.354			

Grup 5 osteoblast yüzeyi alanı ile grup 6 osteoblast yüzey alanı arasında yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p>0.05$ (Tablo 24).

Tablo 24: Grup 5 - Grup 6 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama değer	Standart sapma
Grup 5	9	326,92	1061,75	573,9300	270,7206
Grup 6	9	201,30	1391,85	703,8700	389,5480
Mann Whitney U=35.000		p=0.627			

Grup 5 histolojik skorlama ile grup 6 histolojik skorlama arasında yapılan Ki kare testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır $p<0.05$ (Tablo 25).

Tablo 25: Grup 5 - Grup 6 Histolojik skorlamaları ilişkisi

Histolojik skorlama	Grup 6				Toplam
	3	4	5		
Grup 5	3	1	0	0	1
	4	1	1	2	4
	5	0	1	3	4
Toplam		2	2	5	9
Ki kare=2.000		p=0,368			

Deney grupları arasında yapılan karşılaştırmaların istatistiki sonuçları (Grup 1 – Grup 3 – Grup 5)

Grup 1 ve Grup 3'ün trabeküler kemik yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Korelasyon katsayısı= .066 $p=0.856$ bulunmuştur $p>0.05$ olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 1 ve Grup 5'in trabeküler kemik yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .0396 p=0.292 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 3 ve Grup 5'in trabeküler kemik yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .0036 p=0.927 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 26).

Tablo 26: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Trabeküler kemik yüzey alanları ilişkisi

	Ortalama değer	Standart sapma	Sayı
Grup 1	295587,414	2,8605	10
Grup 3	617460,0000	3,6420	10
Grup 5	668675,00000	2,8530	9

Grup 1 ve Grup 3'ün medullar kemik yüzeyleri arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .154 p=0.672 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 1 ve Grup 5'in medullar kemik yüzeyleri arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .031 p=0.937 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 3 ve Grup 5'in medullaları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .040 p=0.920 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 27).

Tablo 27: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Medullar kemik yüzey alanları ilişkisi

	Ortalama değer	Standart sapma	Sayı
Grup 1	2103,7000	2,9855	10
Grup 3	2067,3000	190,8574	10
Grup 5	2316,0000	291,7255	9

Grup 1 ve Grup 3'ün osteoid yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .276 p=0.441 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 1 ve Grup 5'in osteoid yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .586 p=0.097 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır

Grup 3 ve Grup 5'in osteoid yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .191 p=0.623 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 28).

Tablo 28: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Osteoid yüzey alanları ilişkisi

	Ortalama değer	Standart sapma	Sayı
Grup 1	688,6300	6,3308	10
Grup 3	1024,2000	482,4930	10
Grup 5	1746,6000	826,4227	9

Grup 1 ve Grup 3'ün mineralize kemik yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .229 p=0.402 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 1 ve Grup 5'in mineralize kemik yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .133 p=0.734 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 3 ve Grup 5'in mineralize kemik yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .351 p=0.354 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 29).

Tablo 29: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Mineralize kemik yüzey alanları ilişkisi

	Ortalama değer	Standart sapma	Sayı
Grup 1	3072,1000	3,9434	10
Grup 3	6768,9000	3023,8691	10
Grup 5	20982,0000	9016,8393	9

Grup1 ve Grup3'ün osteoblast yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .347 p=0.354 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır

Grup1 ve Grup5'ün osteoblast yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .146 p=0.216 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır

Grup3 ve Grup5'ün osteoblast yüzey alanları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .394 p=0.315 bulunmuştur p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo 30).

Tablo 30: Grup 1 - Grup 3 - Grup 5 Osteoblast yüzey alanları ilişkisi

	Ortalama değer	Standart sapma	Sayı
Grup 1	304,9600	2,6160	10
Grup 3	615,1500	273,6054	10
Grup 5	573,9300	270,7206	9

Grup 1 ve Grup 3'ün histolojik skorlamaları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .736 p=0.015 bulunmuştur. p<0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunmuştur.

Grup 1 ve Grup 5'in histolojik skorlamaları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .141 p=0.717 bulunmuştur. p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Grup 3 ve Grup 5'in histolojik skorlamaları arasında yapılan korelasyon analizinde Pearson Corelasyon katsayısı= .177 p=0.649 bulunmuştur. p>0.05 olduğundan anlamlı ilişki bulunamamıştır.

5.TARTIŞMA

Kanama kontrolü cerrahinin temel prensiplerinin başında gelmektedir. Kanama kontrolü özellikle koagulopatisi olan hastalarda daha da önem kazanmaktadır. Kanamanın durdurulmasında zaman içerisinde mekanik, termal ve kimyasal yöntemler kullanılmıştır. Diş hekimliği cerrahisi içerisinde halen kullanılmakta olan farklı türde kanama durdurucu ajanlar bulunmaktadır. Kanama durdurucu ajanların geliştirilmesi ile kanama kontrolünün daha hızlı ve etkin yapılabilmesi sağlanmaktadır. Dişhekimliğinde pratiğinde en sık kullanılan kanama durdurucu ajanların başında selüloz kaynaklı ajanlar gelmektedir (Oto et al. 1999). Gürel (2006) çalışmasında warfarin kullanmakta olan ve INR değeri 1-4 aralığında olan hastalarda diş çekim boşluklarına rejenere okside sellülöz (Surgicel®) ve 3.0 ipek sutur uygulamıştır. Bu yöntemle warfarin, düşük molekül ağırlıklı heparin veya standart heparin uygulanan bireyde gerçekleştirilen toplam 36 diş çekiminden sonra 7 günlük takip süresince hastaların hiçbirinde ikinci müdahaleyi gerektiren kanama komplikasyonu ile karşılaşmadığını bildirmiştir. Morimoto et al.(2009) çalışmasında warfarin kesilmeden periodontal tedavi gerçekleştirdiği 139 hastada okside selülozun kanama kontrolünde etkin olduğunu bildirmiştir.

Günümüzde kanama kontrolü için yeni kanama durdurucu ajanlar üretilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız Ankaferd Blood Stopper de yakın zamanda literatüre girmiş bitkisel kaynaklı kanama durdurucu bir ajandır. Yeni bir madde olmasına karşın tıpta değişik alanlarda yapılan çalışmalar vardır. Göker ve ark. (2008) Ankaferd Blood Stopper etki mekanizması üzerine yaptıkları çalışmada koagulasyon faktörlerinin (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XIII) plazmaya ABS ilavesinden etkilenmediğini göstermişlerdir. Bu maddenin protein ağı oluşturarak eritrosit agregasyonuna neden olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle Ankaferd Blood Stopper hem normal hemostatik değerlere sahip bireylerde hem de koagulopatisi olan bireylerde etkilidir.

Ankaferd Blood Stopper dişhekimliği alanında kullanılmasıyla birlikte güvenilirliği ve kullanılabilirliği ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada ABS kanama diatezi nedeniyle diş çekimi sırasında problem yaşayan dört hastada kullanılmıştır. İki hastada von-Willebrand hastalığı mevcutken 1 hasta

mitral kapak replasmanı, 1 hasta ise kronik karaciğer hastalığı nedeniyle warfarin kullanmaktadır. Çalışma sonunda erken dönemde etkin sonuç vermiştir. Mitral kapak replasmanı nedeniyle warfarin kullanan 1 hasta için erken dönemde kanama kontrolü sağlanmış ancak; sekonder kanamalı olarak hasta yeniden başvurmuştur. Hastaya tekrar ABS uygulaması ile kanamanın durdurulduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda ABS kanama diatezli hastalarda diş çekimlerinde lokal kanamayı durdurmaya yönelik etkin bir ajan olarak değerlendirilmiştir (Baykul et al., 2009).

Erçetin et al. (2010) ABS'nin dental cerrahi ve kanama üzerine güvenilirliği ve yeterliliğini yaptıkları bir çalışmada değerlendirmişlerdir. Çalışma grubuna 25 hasta dâhil edilmiş, hastalara cerrahi işlem sonrası operasyon bölgesine ABS homojen olarak püskürtülmüş ve doku iyileşmesi 48. saatte değerlendirilmiştir. Hastalara ortalama 2ml ABS uygulanmış ve ortalama kanama zamanı olarak 1,8 sn (1-3 sn) olarak gösterilmiştir. 20 hastada ilk uygulama ile kanamanın durduğunu, 5 hasta için ikinci doz uygulanması gerektiğini bildirmiştir. Bu çalışma sonunda ABS uygulanan hastaların hiçbirinde yara enfeksiyonu gözlenmemiş ve yara iyileşme süreci normal olarak gözlenmiştir. Erçetin et al. (2010) ABS'nin periodontal cerrahi ve diş çekimlerinde lokal hemostaz, yara iyileşmesi ve enfeksiyon kontrolü için yararlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Sönmez et al. (2010) yayınladıkları vaka raporunda, tip II Glanzmann trombositopeni olan hastada, periodontal tedavi sonrası gingival kanamalar için lokal olarak ABS kullandıklarını bildirmişlerdir. Hastada erken dönemde kanamanın durduğu, ancak kanamanın daha sonra yeniden başlamasıyla ABS uygulaması tekrar edilmiş ve ilave iki ünite platelet tedavi uygulandıktan sonra kanama kontrolü sağlanıp hastanın taburcu edildiğini bildirmişlerdir. Sönmez et al. göre, Glanzmann trombositopeni olan hastalarda ABS kullanımı erken dönemde etkin sonuçlar vermektedir.

Diş hekimliği alanında üretilmiş olmasına rağmen diğer tıp branşlarında da etkin olarak kullanılabilmesini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan deneysel çalışmalarda Huri et al. (2009a) parsiyel nefrektomi modelinde, Karakaya et al. (2009) karaciğer laserasyonu modelinde, Huri et al. (2009b) retropubik radikal prostektomi modelinde, Sataloğlu (2009) spinal cerrahi uygulamalarında, Ulaş (2009) medulla spinalis üzerinde ABS'nin etkin olduğunu sonucuna varmışlardır. Yapılan deneysel çalışmaların yanında klinik olarak değişik alanlarda yapılan vak'a

raporları vardır. Kurt et al. (2009) gastrointestinal kanamada, Teker et al. (2009) tonsillektomide, Teker et al. (2010) epistaksiste ABS kullanımı rapor etmişlerdir.

Klinik kullanımlarının yanı sıra ABS ile ilgili yara iyileşmesi, antimikrobiyal aktivitesi ve organlarda ki toksisitesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yeşilada ve ark. yaptıkları çalışmada ABS'nin yara iyileşmesi üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda sekonder yara iyileşmesinin hızlandığı gözlenmiştir. Bu çalışmada ABS'nin kanama durdurucu etkisinin yanında antibakteriyel etkisi ve yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri gösterilmiştir.

Bilgili et al. (2009) ABS'nin yüksek doz sistemik uygulaması sonucunda hayvan modelinde mukozal toksisite, hematotoksisite hepatotoksisite, nefrotoksisite ve biyokimyasal toksisitesinin olmadığı bildirmişlerdir.

ABS'nin invitro antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği başka bir çalışmada, Agar Well difüzyon tekniği ile 102 hastadan elde edilen klinik izolat üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada 15 ayrı mikroorganizma değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, tüm gram negatif ve gram pozitif mikroorganizmalarda ABS'ye karşı oluşan zon çapları 10-18 mm arasında ortalama 15 mm olarak bulmuş ve ABS'nin antimikrobiyal olarak etkin olduğunu bildirmiştir (Fisgin et al., 2009).

ABS kanama durdurucu ajan olarak üretilmiş olmasının yanında kemik doku üzerinde iyileşmeyi hızlandırıcı etkilerinin de olduğu gösterilmektedir (İşler ve ark. 2008). İşler, 16 adet Wistar Albino erkek sıçan üzerinde yaptığı çalışmasında Ankaferd Blood Stopper'in 7. gün sonucunda histopatolojik olarak kemik yüzeylere etkisini incelemiştir. Rat tibialarında 3 mm çapındaki yuvarlak uçlu paslanmaz çelik frezle, 5 mm x 3 mm boyutlarında, kemik korteks ve medulla tabaklarını içine alan kemik defektleri oluşturulmuştur. Sağ tibiadakine defekte ABS uygulanmış, sol tibiadaki defekt ise ABS uygulaması olmaksızın yumuşak doku kapatılmıştır. Tüm denekler postoperatif 7. günde sakrifiye edilmiştir. İşler çalışmasında ABS grubunda yeni kemik oluşumu varlığı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ABS uygulaması erken dönem kemik dokusu iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini bildirmektedir.

Kanama durdurucu ajanların kendi etkinlikleri haricinde kemik oluşumun hızlandırıcı özellik göstermesi kemik defektlerinin tedavisinde alternatif bir yol olarak düşünülebilir. Ancak yapılan çalışmaların daha objektif bilgiler vermesi gerekmektedir. Kemik dokusunu inceleme yöntemlerinden biri olan

histomorfometrik yöntem kantitatif bilgi vermesi açısından önemli kabul edilmektedir (Carbonare et al. 2005). Histomorfometrik çalışmaların yanı sıra kemik dokuların incelenmesinde farklı yöntemler de kullanılmaktadır. Uusitalo et al. (2001) yapmış oldukları çalışmada fare femur kemiğinde deneysel defekt oluşturarak defektlerin incelemesi histomorfometri, bilgisayarlı tomografi, biyomekanik testler ve moleküler analiz yöntemleriyle incelemiştir. Yaptığımız litaretür taramasında Ankaferd Blood Stopper'in kemik yüzeylere etkisini histomorfometrik olarak inceleyen bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Litaretür değerlendirilmesi sonucuda ABS'nin kemik yüzeylere etkisini histomorfometrik olarak incelenmesi planlanmıştır.

Kemik defektlerinin tedavisi, fonksiyon ve estetiğin yeniden kazanılması için önemlidir. Kemik defektlerinin tedavisinde zaman içerisinde birçok değişik metod kullanılmıştır. Bu metodların başında greftler gelmektedir. Greft için altın standart olarak hastadan alınan otolog greftler kabul edilmektedir. Otolog greftlerin yanı sıra allogreft ve alloplastlar kullanılabilir greft tiplerinden bazılarıdır. Otolog kemik greftinin en büyük avantajı hasta kaynaklı olmasıdır. Dezavantaj olarak hastada ilave bir operasyon sahası oluşturması, istenilen boyutlarda alınamaması ve ameliyat süresinin uzaması söylenebilir. Alternatif olarak allogreft, heterogreft ve alloplast greftler geliştirilmiştir. Bu greftlerin ortak avantajları; ihtiyaç olduğu zaman hazır olmaları, miktar sınırının olmaması ve verici saha gerektirmemeleri iken ortak dezavantajları ise; canlı hücre içermemeleri dolayısı ile osteojenik potansiyele sahip olmamalarıdır. Greft materyalleriyle birlikte kullanılan trombositten zengin plazma (TZP) erken dönem kemik iyileşmesi üzerine hızlandırıcı etkileri olduğu bildirilmiştir (Kahraman 2010). Kemik iyileşmesini hızlandırıcı diğer bir yöntem ise ultrason uygulamaları olarak gösterilebilir. Ultrason insan kulağının duyamayacağı frekanstaki ses dalgalarıdır. Yapılan bir çalışmanın sonuçlarında düşük yoğunlukta kesikli ultrason uygulamasının sağlıklı deneklerde mandibula kemiğinde kırık iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir (Erdoğan 2007)

Bunların yanında kemik iyileşmesi ile ilgili olarak lokal ve sistemik ilaç uygulamaları (kalsiyum fosfat, kemik morfogenetik proteinler, vitamin D, büyüme faktörleri, hormonlar), elektromanyetik alan ile uyarı, hiperbarik oksijen tedavisi ve fiziksel stimülasyon sayılabilir (Bouxsein et al 2001, Higgins et al. 2002, Leisner et al 2002, Doetsch et al. 2004). Tüzüm (1979) kırık iyileşmesi üzerine fosfat tampon

ile birlikte kullanılan kalsitoninin osteogenezis üzeriene etkinliğinin incelendiği çalışmasında kalsitonin kullanan grubun kontrol grubuna göre kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkinliği olduğunu bildirmiştir. Göğüş ve ark. (2001) yapmış oldukları çalışmada kalsiyumslfat dihidrat ve mercan kaynaklı hidroksiapatit biyomateryallerinin kemik defektlerinde iyileşmeye olan etkinliklerini kıyaslamışlardır. alışmalarında 2 grupta toplam 48 rat kullanılmış ve ratlarda deney ve kontrol grubu aynı hayvanda olacak şekilde her 2 tibiasıda kullanılmıştır. Çalışma gruplarını 2, 4 ve 6 hafta olarak planlamışlardır. Çalışma sonucunda çalışma grupları kontrol grubuna göre defekt doluluğunda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha başarılı olduğu ve birbirleri arasında da anlamlı bir fark oluşturmadıkları gözlendiğini bildirmişlerdir.

Deneyssel olarak hazırlanan kemik defektlerinin kritik boyutlarda oluşturulması önemlidir. Kritik boyutta defekt, yaşam boyu kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük boyuttaki defektir (Schmitz et al.1986). Kritik boyuttaki defekt kavramı ayrıca; iki kırık ucu arasındaki kendiliğinden iyileşemeyecek olan mesafe olarak ta tanımlanmaktadır. Her deney hayvanı için bu boyut değişmektedir. Rat femur kemiğinde CHİBA et al. (2001) 1,8mm'lik defekt, Pereira et al. (2006) 2mm'lik defekt, Duarte et al (2009) 3mm'lik defekt, rat tibiasında Göğüş ve ark. (2001) 2mm'lik defekt, Matthias ve ark (2006) 5mm'lik defekt alanları oluşturmuşlardır. Defekt alanı oluştururken kemik çapı, hayvanın türü, uygulama alanı belirleyici kriterlerdir. Kemikte kırık oluşturmayacak boyutlarda çalışılması gerekmektedir. Yapmış olduğumuz n çalışma ve diğer çalışmalar göz önüne alarak rat femur kemikleri için çalışmamızda 3 mm çaplı standart monokortikal defektlerin oluşturulması planlanmıştır.

Çalışmamıza 30 rat dâhil edilmiş ve 10 rattan oluşan 3 çalışma grubuna ayrılmıştır. Her grupta ratları her 2 femur kemiği de kullanılarak aynı hayvanda deney ve kontrol grubu oluşturulmuştur. Deney ve kontrol grubunun aynı hayvan üzerinde oluşturularak, denek hayvanı farklılığından kaynaklanacak sonuçların önüne geçilmek istenmiştir. Nitekim Develioğlu et al. (2005) alışmalarında aynı hayvanda oluşturulan deney ve kontrol gruplarının hayvan farklılığından doğabilecek değişiklikleri elimine ettiğini bildirmişlerdir.

Kemik doku üzerine yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesi ile ilgili değerlendirme günleri arasında ortak bir görüş yoktur (Igarashi et al. 1999, Schmidmaier et al. 2002, Pereira et al. 2006, İşler ve ark 2008, Gielkens et al. 2008). Uusitslo et al. (2001) yapmış oldukları çalışmada histolojik olarak defektin yeni kemik dokuyla dolması ilk haftada olduğunu, aynı zamanda kortikal kemiğin kapanmasının 6 hafta sonunda gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 7, 28 ve 42 günlük süreler kullanılmasına karar verilmiştir.

Çalışmamızda histomorfometrik olarak defekt bölgesinde medullar kemik alanın çapı, trabeküler kemik yüzey alanı, osteoid yüzey alanı, mineralize kemik yüzey alanı, osteoblast yüzey alan ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca defekt bölgelerinde yeni oluşan kemiğin histolojik olarak skorlaması yapılmıştır. Bu skorlamada Huo et al. (1991) kırık iyileşmelerinde yapmış olduğu histolojik çalışmadan örnek alınarak modifikasyon yapılmıştır. Skorlamanın özellikle defekt bölgelerinde gözlenen değişiklikleri daha net yansıtabilmesi için histomorfometrik tetkikleri yapan uzman hekimin tavsiyesi ile modifikasyon yapılmıştır.

Çalışmamızda defekt bölgesindeki trabeküler kemik yüzey alanları ve medulla çapları histomorfometrik olarak değerlendirilmiştir. Trabeküler alanda yapılan ölçümler bize yeni kemik yapımı hakkında bilgi verebilmektedir (Uusitalo 2001). Çalışma sonucunda 7., 28., 42., gün olmak üzere her 3 grupta da trabeküler yüzey alanları ortalamaları arasında deney grubunun kontrol grubuna göre üstün bulunmuştur ancak farkın istatistikî olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Medullar kemik çapı ile ilgili yapılan değerlendirmede deney ve kontrol grupları arasında istatistikî olarak anlamlı farklılıklar görülmemiştir. Her 2 grupta da birbirine yakın değerler gözlenmiştir. Histomorfometrik olarak trabeküler alan ve medulla çapı değerlendirilen başka bir çalışmada Duarte et al. (2009) rat tibialarında 3 mm defekt oluşturmuş ve defekt bölgelerinde kafeinin erken dönem kemik iyileşmesine etkilerini incelemişlerdir. Erken kemik iyileşmesi döneminde yeni oluşan trabeküler kemikte immatür yapı gözlemlenmiştir. Chiba et al. (2001) çalışmasında 7 günlük dönemde hematoma fibröz dokuya ve 10. günde ise örgü kemiğe doğru değişmeye başladığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da 7., 28. ve 42. günler olmak üzere, literatüre uyumlu olarak, trabeküler kemiğin giderek artan değeri tespit edilmiştir.

Çalışmamızda 7. gün gruplarının karşılaştırmalarında osteoblast yüzey alanı değerlendirilmesi yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda osteoblast yüzey alanı ortalamalarında deney grubu yönünde fazla olduğu görülmüştür. Osteoblastlar yeni kemik yapımının başlaması için önemlidir. Pereire et al (2005) yaptıkları çalışmalarında defekt bölgesinde gözlenen yeni oluşan trabeküler alandaki osteoblastları incelenmiş, 7. gün sonunda defekt bölgesinde osteoblastların kubik yapıda olduğunu ve çalışma sonunda 7.günde immatür kemik yapımını bildirmişlerdir. Çalışmamızın 7. gün deney ve kontrol grupları karşılaştırıldığında ABS uygulanmış örneklerde osteoid yüzey alanı, mineralize kemik yüzey alanı karşılaştırıldığında deney grubu yönünde istatistiki olarak anlamlı sonuç çıkmamasına rağmen ortalama değerlerde fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçların istatistikî olarak anlamlı çıkmaması olarak ölçüm yapılan alanda çıkan sonuçların birbirine yakın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamız sonuçlarında da histolojik skorlamalar açısından deney ve kontrol grupları arasında 7 günlük dönemde ABS uygulanmış defekt bölgelerinde histolojik skorlamalar istatistiksel olarak yüksek çıkmıştır. 7. Gün sonunda ABS uygulanmış grupta defekt bölgesinde hematoma ve az yoğunlukta örgü kemik daha çok görülmüştür. Hematom ve az yoğunlukta örgü kemik bulunması kemik yapımının başladığını gösteren işaretlerdir. İşler ve arkadaşlarının (2008) sunmuş oldukları deneysel çalışmada ABS'nin erken dönem kemik dokusu iyileşmesi üzerine etkileri histopatolojik olarak incelenmiştir. Kemik iyileşmesi postoperatif 7. günde değerlendirilmişlerdir. ABS uygulanan çalışma grubunda yeni kemik yapımının arttığı bildirmişlerdir. İşler'a göre ABS erken dönem kemik iyileşmesini hızlandırmaktadır. Block and Kent (1986) hidroksiapatit'in deneysel defektlerin iyileşmesi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarında, hidroksiapatit'in spontan iyileşmeden daha etkili olduğunu, 2 hafta sonunda osteoid doku, yeni farklılaşmış osteoblastlar ve olgun kemik bölümlerinin görüldüğünü, 1.ay sonunda osteoid dokuda lamelli kemik dokusunun oluşmaya başladığı ve hücresel aktivitenin devam ettiğini bildirmişlerdir. Ernica et al 2003 çalışmasında mikrofibriler kollajen çekim soketinde kemik doku üzerinde 7. günde kemik iyileşmesini yavaşlattığı, 21 ve 28. günlerde kemik yapımının eşitlendiğini bildirmiştir.

Çalışmamızda 28. gün sonuçlarında trabeküler kemik alanı fazla olmasına rağmen ABS'nin kemik iyileşmesini hızlandırdığı yönünde net sonuçlar söylenememektedir. Çalışmamızın 28. günlük deney ve kontrol grubu karşılaştırıldığında osteoid yüzey alanlarında kontrol grubunun ortalama olarak fazla olduğu görülmektedir. 28. gün mineralize kemik yüzey alanları karşılaştırılmasında kontrol grubu ortalamaları deney grubu ortalamalarına oranla yüksek bulunmuştur. Osteoblast yüzey alanı ölçümlerinde ise deney grubu, kontrol grubuna oranla fazla bulunmuştur. Defekt alanındaki yeni kemik dokusunu histolojik skorlamasında 28. günde istatistiki olarak anlamlı bulunmamasına rağmen, kontrol grubu ortalamaları deney grubuna göre fazla bulunmuştur. 28. gün sonucunda yeni kemik yapım hızının kontrol grubuna göre üstünlüğü gösterilememiştir.

Çalışmamızın 42. gün sonuçları incelendiğinde osteoid yüzey alanı, mineralize kemik yüzey alanı ve osteoblast sayısı ortalamalarında kontrol grubu fazla olarak görülmektedir. 42 günlük histolojik skorlamaları ortalamaları deney ve kontrol grubunda eşit olarak gözlenmiştir. 42. Gün sonunda trabeküler kemik alanı ve medulla çapı deney grubunda yüksek olarak bulunmuştur. 42. gün sonunda kemikleşme üzerinde yeni oluşa n kemik miktarı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. Gruplar arası anlamlı farkın olmaması 2 grupta da histolojik olarak hematomla birlikte yoğun örgü kemik ve tamamen örgü kemik görülmesine bağlanabilir. 28. gün ve 42. gün sonuçlarındada yeni kemik yapımının ABS uygulanmış deney grubu yönünde yüksek olmadığını göstermektedir. 28 ve 42. günde süre ile ilişkili olarak kemikleşme fazla görülürken deney ve kontrol gruplarının birbirine üstünlüğü gösterilememiştir. Çalışmamızda 7., 28. ve 42. günler olmak üzere, literatüre uyumlu olarak, trabeküler kemiğin ve diğer histomorfometrik parametrelerin giderek artan değerleri tespit edilmiştir. Tüzüm (1979) çalışmasında deney grupları arasındaki sürelerin kemik iyileşmesinde önemli olduğunu vurgulamıştır.

Bu sonuçlar neticesinde defekt bölgesinin yeni kemik oluşumu için ABS uygulanmış grupta 7 günlük erken dönem de kemik iyileşmesini hızlandırdığı, diğer dönemler için ise anlamlı bir değişimin olmadığı söylenebilir.

Kanama için kullanılan maddelerin dokularda oluşturduğu reaksiyonlar kullanılan maddelerin güvenilirliği açısından önemlidir. Uygulama sonucunda dokularda nekroz alanları ve yabancı cisim reaksiyonları oluşturmaması maddenin

güvenilirliğini göstermektedir. Çekim bölgelerine uygulanan kanama durdurucu maddeler kemik yüzeyleriyle temas etmektedir. Çalışmamızda bu nedenlerden dolayı ABS'nin dokuda oluşturduğu reaksiyonlarda incelenmiştir. Bulgular değerlendirildiğinde ABS kullanımının yabancı cisim reaksiyonu yaratmadıkları ve nekrotik alanların oluşmadığı görülmüştür. Klinik olarak operasyon bölgelerinde şişlik, iltihabi reaksiyon ve alerjik reaksiyonlar gözlenmemiştir. Bilgili ve ark.(2009) tarafından yapılan çalışmada in vivo hayvan modelinde ABS'nin yüksek doz sistemik uygulamasının mukozal toksisite, hematotoksiste hepatotoksiste, nefrotoksiste ve biyokimyasal toksisitesinin olmadığı gözlenmiştir. Yabancı cisim reaksiyonu göstermemesi İşler ve ark (2008) bulgularını desteklemektedir. İşler ve ark. 1 olgusunda nekrotik alan göstermişlerdir. Çalışmamızda histomorfometrik inceleme sırasında kemik doku ve defekt alanlarında nekrotik dokulara rastlanmamıştır.

Ankaferd Blood Stopper'in yabancı cisim reaksiyonu ve nekrotik alanlar oluşturmaması, klinik gözlemlerde operasyon sırasında ve sonrasında komplikasyon oluşturmaması olumlu özellikler olmakla birlikte, kanama durdurucu ajan olmasının yanında kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkisi içinde kullanılabileceğinin kesin olarak söylenebilmesi için uzun dönemde yeni araştırmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

1. Kemik iyileşme süreçleri bir takım morfolojik özellikler içermektedir. Kemik iyileşme süreci ile ilgili yapılacak çalışmalarda kemik dokuların incelenmesinde ışık mikroskopik yöntem kullanılabilir. Ayrıca kantitatif bilgi vermesi nedeniyle histomorfometrik yöntemin de incelemelerde yararlı olabileceği düşünülmektedir.
2. Çalışmamızın 7. gün sonuçlarına göre yeni kemik yapımını gösterebilecek histomorfometrik parametreler yüksek bulunmuştur. Ayrıca defekt bölgesinin iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde Ankaferd Blood Stopper uygulanmış deney grubunda hematoma ve az yoğun örgü kemik oluşumu daha fazla görülmüştür.
3. Çalışmamızın 28. ve 42. gün deney grubunda kemik iyileşmesini artırdığı yönde deney ve kontrol grubu arasında histomorfometrik parametreler dikkate alındığında kesin ifadelere ulaşılamamıştır. Deney ve kontrol gruplarında iyileşme üzerinde belirgin farklılıklar gözlenmemiştir.
4. Klinik olarak operasyon sırasında ve sonrasında cilt ve diğer dokularda iltihabi, alerjik, reaksiyonlarla karşılaşılması ve histolojik olarak enfeksiyöz olay ve nekrotik alanlara rastlanmaması Ankaferd Blood Stopper'in rutin kullanımı için güvenilirliğini gösterebilmektedir.
5. Klinik olarak Ankaferd Blood Stopper kullanımı deney hayvanları üzerinde zararlı etki oluşturmamakla beraber, kemik iyileşmesi üzerine olan etkileri geniş serilerde çalışmalarla desteklenmelidir.

ÖZET

Beş Farklı Bitki Ekstresinden Elde Edilen Kanama Durdurucu Ajanın (Ankaferd) Kemik Yüzeylerine Etkisinin Deneysel Olarak İncelenmesi

Ankaferd Blood Stopper® (ABS) özellikle diş hekimliği alanında kullanılmak üzere üretilmiş etkin bir kanama durdurucu maddedir. Çalışmamızda beş bitki özütünden oluşan Ankaferd Blood Stopper®'in kemik yüzeylerine etkisinin ve klinik uygulamalar için güvenilirliğinin deneysel olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya toplam 30 rat dâhil edilmiştir. Ratların her 2 femuru kullanılarak deney ve kontrol grupları aynı hayvan üzerinde oluşturulmuştur. Kemik defektleri 3 mm'lik trefin frezlerle hazırlanarak sağ femur defekt bölgesi deney grubunu, sol femur defekt bölgesi ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Deney grubuna 0,5 ml ABS uygulanmış, kontrol grubuna herhangi bir madde uygulanmamıştır. Bir rat anestezi komplikasyonu nedeniyle çalışmadan çıkartılmıştır. Çalışma grupları 7., 28. ve 42. günlerde sakrifiye edilerek 6 çalışma grubu içerisinde 58 örnek elde edilmiştir. Örneklerin histomorfometrik analizlerinde trabeküler kemik yüzey alanı, medullar kemik çapı, osteoblast yüzey alanı, osteoid kemik yüzey alanı ve mineralize kemik yüzey alanları incelenmiştir. Yeni kemik oluşumunun histolojik değerlendirilmesi yapılarak, yeni kemik oluşum skorlaması yapılmıştır.

Çalışmamız sonucunda Ankaferd Blood Stopper kemik kavitelerinde uygulanmasının 7. gün deney grubunda kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkileri üzerine daha net bulgulara ulaşılmış ve 7. gün sonuçlarına göre yeni kemik yapımını deney grubunda fazla olarak bulunmuştur. Ankaferd Blood Stopper kemik kavitelerinde uygulanmasının 28. ve 42. gün deney ve kontrol gruplarında benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Klinik gözlemlerde intraoperatif ve postoperatif dönemde cilt ve diğer dokularda alerjik ve iltihabi reaksiyonlar gözlenmemiştir. Ayrıca histomorfometrik çalışmalarda nekrotik alanlara ve enfeksiyöz reaksiyonlara rastlanmamıştır. Bu sonuçlar neticesinde Ankaferd Blood Stopper'in erken dönem kemik iyileşmesini hızlandırdığı ve klinik kullanımlar için güvenli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Hemostaz, Ankaferd Blood Stopper, Kemik iyileşmesi

SUMMARY

The experimental study of the efficiency on bone surfaces of haemostatic agent (Ankaferd) derived from five different plant extracts.

Ankaferd Blood Stopper ® (ABS), manufactured to be used in dentistry is an effective hemostatic agent. In this study, it is aimed to experimentally investigate the efficiency of Ankaferd Blood Stopper which is derived from five different plant extracts and its reability on bone surfaces.

Total 30 rats were included to the study. Using two femurs of each rat in this study, experimental and control groups were formed on the same animal. Bone defects were formed by 3 mm trephine drills and while the right femoral defect forms experimental group, the left femoral defect forms the control groups. 0.5 ml Ankaferd Blood Stopper was applied to the experimental group but there was no application to the control group. During the study, one rat was excluded from the study owing to an anaesthesia complication. Working groups were sacrificed on the seventh, twenty eighth and forty second days. Within six working groups, 58 samples were obtained. Trabecular bone surface area, medullary bone diameter, osteoblastsurface area, osteoid bone surface area and mineralized bone surface area were examined in the Histomorphometric analysis of samples. Realizing the histological evaluation of new bone forming, new bone formation was scored.

As a result of the study, it was found that ABS applied in bone cavities had more accelerator effect on bone healing in the seventh day experimental group. According to the results of seventh day, new bone formation was found much more in the experimental group. ABS applied in bone cavities had nearly the same effect on bone healing in the 28th and 42nd day of the experimental and control groups. In clinical observations, no allergic and inflammatory reactions were observed on skin and other allergical tissues in the period of intraoperative and postoperative. Moreover in the study of histomorphometric, necrotic areas and infection reactions were not observed. As a result, it was determined that Ankaferd Blood Stopper is realible for routine use and has an accelerator effect on short term bone healing.

Key words: Hemostasis, Ankaferd Blood Stopper, Bone healing

KAYNAKLAR

Ahn AC, Grodzinsky AJ. Relevance of collagen piezoelectricity to “Wolff’s Law”: A critical review. *Medical Engineering & Physics*, 2009; 31(7): 733-741

Akal ÜK, Karasu HA, Sayan NB. Oral kavitenin yumuşak doku tümörleri ve mukozal lezyonlarında Co₂ lazer kullanımının klinik olarak değerlendirilmesi. *T Klin Diş Hek Bil* 2003; 9: 47-54

Alam HB, Chen Z, Jaskille A, Querol RILC, Koustova E, Inocencio R *et al.* Application of a zeolite hemostatic agent achieves 100% survival in a lethal model of complex groin injury in swine. *J Trauma* 2004; 56: 974–983.

Arslan S, Haznedaroğlu İC, Öz B, Göker H. Endobronchial application of Ankaferd blood stopper to control profuse lung bleeding leading to hypoxemia and hemodynamic instability. *Respiratory Medicine*, 2009; 2: 144-146.

Bain JB, Clark MD, Wilkins BS. *Bone marrow pathology*. 4th ed., Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2010

Ballin JC, *American Medical Association(AMA) Drug Evaluation*. 5th ed. Chicago, Illinois: 1983.

Batur AF, Tunç L. Endoürolojide kullanılan hemostatik materyaller. *Endoüroloji Bülteni* 2009; 6: 1-4

Baykul T, Alanoglu GE, Kocer Gulperi. Use of Ankaferd Blood Stopper as a hemostatic agent: a clinical experience. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 2010; 11(1): 1-7

Benli M, Yiğit N. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2005; 3(8) :1-8

Bilgili H, Captug O, Kosar A, Kurt M, Kekilli M, Shorgabi A *et al.* Oral Systemic Administration of Ankaferd Blood Stopper Has No Short-Term Toxicity in an in Vivo Rabbit Experimental Model. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010; 16(5): 533-536.

Bouxsein ML, Turek TJ Blake CA. Recombinant human bone morphogenic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar ulnar osteotomy model. *J Bone Joint Surg*, 2001;83: 1219-1230.

Cireli E. *Genel Histoloji hücre ve dokular*. 6. Baskı., İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1999

Claudia P. Passosa, Rui M. Silva a, Francisco A. Da Silva a, Manuel A. Coimbra, Carlos M. Silva. Supercritical fluid extraction of grape seed (*Vitis vinifera* L.) oil. Effect of the operating conditions upon oil composition and antioxidant capacity. *Chemical Engineering Journal* 160 (2010) 634–640

Doetsch AM, Faber J, Lynnerup N, Watjen I, Bliddal H, Danneskiold-Samsøe B. The effect of calcium and vitamin D3 supplementation on the healing of the proximal humerus fracture: a randomized placebo-controlled study. *Calcif Tissue Int*, 2004;75:183-8.

Erçetin S, Haznedaroğlu IC, Kurt M, Önal IK. , Aktaş A. , Kurt KO, et al. Safety and Efficacy of Ankaferd Blood Stopper in Dental Surgery. *International Journal of Hematology and Oncology* 2010; 20(1): 1-5

Erkoçak A. *Özel Histoloji*. 1. Baskı., Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Basımevi, 1982.

Eryılmaz M, Mentş Ö, Özer MT, Ersoy G, Durusu M, Rodoplu Ü. ve ark. Topikal hemostatik ajanların travmalı olgularda güncel kullanım alanları. *Turk J Emerg Med*, 2007; 7(3): 136-143

Ferhanoğlu B. Hemostaz Mekanizması. Kanama ve Tromboza Eğilim, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, 2003; 36: 9-16.

Fisgin NT, Caycı YT, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, et al. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper. *Fitoterapia*, 2009; 80: 48-50

Işler SC, Demircan S, Cakarer S, Cebi Z, Keskin C, Soluk M, et al. Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd BloodStopper on early bone healing. *J Appl Oral Sci*. 2010; 18(4): 409-414

Göker B, Özmen R. Sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorür uygulamasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisi. *F.Ü.Sağ Bil Tıp Derg.*2009; 23 (2): 77 - 80

Göker H, Haznedaroğlu IC, Erçetin S, Kirazlı S, Akman U, Öztürk Y et al. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract ankaferd blood Stopper. *The Journal of International Medical Research*, 2008; 36: 163-170

Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C. *PDR for Herbal Medicines*. 3rd ed; Thomson Healthcare Inc. U.S.A. 2004

Gupta A, Epstein JB, Cabay RJ. Bleeding disorders of importance in dental care and related patient management. *JCDA*, 2007; 73(1): 77-83a

Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*. 11. Baskı, İstanbul: Nobel Basımevi, 2007.

Gülçin I, Küfrevioğlu İÖ, Oktay M, Büyükokuroğlu ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 90: 205–215

Heck AM, DeWitt BA, Lukes AL. Potential interactions between alternative therapies and warfarin. *Am J Health Syst Pharm*. 2000; 57(13): 1221-1227

Higgins TF, Dodds SD, Wolfe SW. A biomechanical analysis of fixation of intra-articular distal radial fractures with calcium-phosphate bone cement. *J Bone Joint Surg Am*, 2002; 84: 1579-1586.

<http://www.ankaferd.com/abs-formul.php> Erişim tarihi: 10 Temmuz 2010

Huddleston PM, Steckelberg JM, Hanssen AD, Rouse MS, Bolander ME, Patel R. Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture healing. *J Bone Joint Surg Am*, 2000; 82: 161-173.

Huo, M. H.; Troiano, N. W.; Pelker, R. R.; Gundberg, C. M.; and Friedlaender, G. E.: The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J. Orthop. Res.*, 9: 383-390, 1991.

Huri E, Akgül T, Ayyıldız A, Germiyanoglu C. Hemostasis in retropubic radical prostatectomy with Ankaferd BloodStopper: a case report. *Kaohsiung J Med Sci*, 2009b; 25: 445-447.

Huri E, Akgül T, Ayyıldız A, Üstün H, Germiyanoglu C. Hemostatic role of a folkloric medicinal plant extract in a rat partial nephrectomy model: controlled experimental trial. *J Urol*, 2009a; 181: 2349-2354.

Jayaprakasha GK, Selvi T, Sakariah KK, Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 2003; 36: 117–122

Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji*. 8. Baskı, İstanbul: Barış Kitapevi, 1998.

Junqueira LC, Carneiro J. *Temel histoloji: text & atlas*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.

Kahraman H. Trombositten zengin plazma ile işlem görmüş otojen kemik greftlerinde iyileşmenin incelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD. Doktora Tezi, Isparta (Prof. Dr. M. Şenol TÜZÜM), 2010.

Karakaya K, Ucan HB, Tascılar O, Emre AU, Cakmak GK, Irkorucu O, et al. Evaluation of a new hemostatic agent Ankaferd Blood Stopper in experimental liver laceration. *J Invest Surg*, 2009; 22: 201-206.

Köroğlu M. Ankaferd Blood Stopper (ABS)'nin sağlıklı gönüllülerde topikal kullanımının faz-1 klinik etkisinin araştırılması. Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, (Prof. Dr. Osman Kaftan), 2010.

Kurt M, Akdoğan M, Onal IK, Kekilli M, Arhan M, Shorbagi A, et al. Endoscopic topical application of Ankaferd Blood Stopper for neoplastic gastrointestinal bleeding: A retrospective analysis. *Dig Liver Dis*. 2010; 42(3): 196-9

Larrson S, Kim W, Caja VL, Egger EL. Effect of early axial dynamization on tibial bone healing, *Clin Orthop Rel Res*, 2001;388:240-251.

Leisner S, Shahar R, Aizenberg I, Lichovsky D, Levin-Harrus T. The effect of short-duration, high-intensity electromagnetic pulses on fresh ulnar fractures in rats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2002; 49:33-37.

Lynch SE. *Tissue engineering: applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics*. Hanover Park, IL : Quintessence Pub., c2008

Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. *Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery*. 2nd. Ed., London: BC Decker, 2004

Morgan EF, Barnes GL, Einhorn TA. The bone organ system: form and function in osteoporosis. 3rd ed. Burlington, *Elsevier Academic Press*; 2008. p.3-25

Okamoto T, Rezende MCRA, Cláudio CC, Rodrigues TS, Okamoto R. Effects of tissucol™ and epsilon aminocaproic acid in the healing process following dental extraction in dehydrated rats. *Braz Oral Res*, 2006; 20(1): 33-9

Oz MC, Rondinone JF, Shargill NS. Floseal matrix: New generation topikal hemostatic sealant. *J Card Surg*, 2003; 18: 486-493

Öber A, İzzetoğlu GT. *Histoloji*. 1. Baskı., Ankara: Nobel Basımevi, 2006.

Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. 3rd Ed., St. Louis: Mosby, 1998.

Proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Proc Ann Assoc Cancer Res* 1998; 39: 227.

Sabel M, Stummer W. The use of local agents: Surgicel and surgifoam. *Eur Spine J*, 2004; 13(1): 97-101

Sataloğlu H. Ankaferd Blood Stopper'in medulla spinalis üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi ve kullanılabilirliğinin araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun, (Doç. Dr. Cengiz Çokluk), 2009.

Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for cranio-mandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986; 77: 1658-1664

Schonauer C, Tessitore E, Barbagallo G, Albanese V, Moraci A. The use of lokal agents: bone wax, collagen, oxidized cellulose. *Eur Spine J*, 2004; 13(1): 89-96

Seyednejad H, Imami M, Jameieson T, Seifalian AM. Topikal haemostatic agents. *British Journal of Surgery*, 2008; 95: 1197-1225

Sonmez M, Baltacıoğlu E, Sarac O, Erkut N. The use of Ankaferd Blood Stopper in a patient with Glanzmann's thrombasthenia with gingival bleeding. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2010; 21: 382-383

Szpalski M, Gunzburg R, Sztern B. An overview of blood-sparing techniques used in spine surgery during the perioperative period. *Eur Spine J* 2004; 13(1): 18-27.

Teker AM, Korkut AY, Gedikli O, Kahya V. Prospective, controlled clinical trial of Ankaferd Blood Stopper in children undergoing tonsillectomy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2009; 73: 1742-1745.

Teker AM, Korkut AY, Gedikli O, Kahya V. Prospective, randomized, controlled clinical trial of Ankaferd Blood Stopper in patients with acute anterior epistaxis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010; 267(9): 1377-1381

Torunoğlu M. *Hemostasis*. 1. Baskı., Erzurum: Atatürk Üniversitesi Basımevi, 1968

Tüzüm MŞ. Kalsitoninin kırıklarda kallus oluşumuna etkisinin deneysel incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Cerrahi Kürsüsü, Doçentlik Tezi, Erzurum 1979.

Ulaş AK. Kanama durdurucu ajan Ankaferd Blood Stopper'in serebral doku üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi ve santral sinir sisteminde kullanılabilirliği araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim dalı, Uzmanlık Tezi, Samsun, (Yrd. Doç. Dr. Yaşar Bayrı), 2009.

Vinckier F, Vermylen J. Wound healing following dental extractions in rabbits: effects of tranexamic acid, warfarin anti-coagulation, and socket packing. *J Dent Res* 1984; 63(5): 646-649.

Wagner WR, Pachence JM, Ristich J, Johnson PC. Comparative in vitro analysis of topical hemostatic agents, *J Surg Res* 1996; 66(2): 100-108.

Ye X, Krohn RL, Liu W. The cytotoxic effects of a novel IH636 Grape Seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem Jun* 1999; 196(1-2): 99-108

Yeşilada AK, Tatlıdede S, Sümer O, Şirvan S, Sakız D, Yeşiloğlu N, Baş L. Ankaferd Blood Stopper hemostatik ajanın sekonder yara iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda değerlendirilmesi: Deneysel çalışma. www.ankaferd.com/pdf/ABSAR_2008_1.pdf

EKLER

Ek 1: Deneysel Hayvan Etik Kurul Belgesi

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİV. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI		
TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
31.03.2009	09	01

SDÜ, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 31 Mart 2009 tarihinde Saat 16:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

01-SDÜ Dış Hekimliği Fak. ADÇHC A.D Öğretim Üyesi Prof.Dr.M.Şenol TÜZÜM'ün yürütücüsü olduğu, Doç.Dr.Timuçin BAYKUL, Araş.Gör.Dr.Hasan ONUR ŞİMŞEK'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı "Beş farklı bitki ekstresinden elde edilen kanama durdurucu ajanın (Ankaferd) kemik yüzeylerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi" konulu çalışması;

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun görülmüştür

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU BAŞKAN	Yrd.Doç.Dr.Efkan UZ BAŞKAN YARDIMCISI	Prof.Dr.Fatih GÜLTEKİN ÜYE
	KATILMADI	
Doç. Dr.Sema BİRCAN ÜYE	Yrd.Doç. Dr.Bilge ÇADIR ÜYE	Yrd.Doç.Dr.Vedat Ali YÜREKLİ ÜYE
		
Vet.Hekim İsmail UZ ÜYE	Eczacı Mustafa Serhan DERYAL ÜYE	Vet.Hekim İshak Sun ÖVEY ÜYE
KATILMADI		

ÖZGEÇMİŞ

15.04.1982 tarihinde Antalya’da doğdum. İlkokuldan (Çağlayan İlkokulu, Manavgat/ANTALYA) 1993 yılında, ortaokul ve liseden (Manavgat Anadolu Lisesi, Manavgat/ANTALYA) 2000 yılında mezun oldum. 2000 yılında Ankara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi’nde lisans eğitimime başladım ve 2005 yılında mezun oldum. 2006 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım.