

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DABİGATRAN ETEXİLATIN RATLARDA KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Atılgan ONAY

TRABZON - 2011

**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DABİGATRAN ETEXİLATIN RATLARDA KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Atılgan ONAY

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Servet KERİMOĞLU**

TRABZON - 2011

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kemik Dokusu	3
2.1.1. Kemik Dokusunun Tanımı, İçeriği	3
2.1.2. Kemik Histolojisi	3
2.1.3. Kemiğin Kanlanması	7
2.1.4. Kemik Yapısı	8
2.2. Kırık İyileşmesi.....	10
2.2.1. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	13
2.3. Kırık Sonrası Görülebilecek Lokal veya Sistemik Komplikasyonlar.....	16
2.3.1. Derin Ven Trombozu	16
2.3.2. DVT Profilaksisi	17
2.3.3. Dabigatran Etxilate	19
3. MATERYAL VE METOD	22
3.1. Cerrahi Teknik	22
3.2. Histolojik Takip, Boyama ve Değerlendirme	26
3.3. Radyolojik Değerlendirme.....	27
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR	29
4.1. Klinik Bulgular	29
4.2. Radyolojik Bulgular.....	29
4.3. Histolojik Bulgular	33
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR.....	46
7. ÖZET	47
8. SUMMARY	48
9. KAYNAKLAR	49

1. GİRİŞ

İskelet sistemi, insan vücudundaki organ ve sistemlerin düzgün bir şekilde çalışabilmesi için gerekli desteği sağlayan önemli bir yapıdır. Bu sistem gerek dünya nüfusunun artışı gerekse gelişen teknoloji ile birlikte gittikçe artan sıklıkta yaralanmaya maruz kalmaktadır. İskelet sistemi yaralanmaları travmanın şiddetine bağlı olarak basit bir yumuşak doku yaralanmasından kırık oluşumu gibi ciddi bir duruma kadar farklılıklar gösterir (1).

Kırık, esas olarak kemiğin fiziksel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanabilir. Kırıkta, kemik dokusundaki hasarın yanı sıra çevre doku ve organlarda da yaralanmalar görülür (1,2). Kırık iyileşmesi, hücresel ve biyokimyasal olayların iç içe olduğu karmaşık sistemlerin ve faktörlerin karıştığı özel bir iyileşme sürecidir. Birçok faktörden etkilenen bu hassas sürecin anlaşılmasına çalışılması tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından hayati öneme sahiptir.

Büyük iskelet sistemi yaralanmaları sonrasında birçok komplikasyonla karşılaşabiliriz. Bunlar arasında, derin ven trombozu ve buna bağlı pulmoner emboli hatırı sayılır olanlardandır. Oldukça ölümcül ve iş gücü kaybına neden olan bu durumun profilaksisinde kullanılan pek çok mekanik ve farmakolojik yöntem mevcuttur (3). Profilakside kullanılan mevcut farmakolojik ajanların; bazı yan etkilerinin olması, ya da kullanım güçlüğü bulunması özellikle oral olarak kullanılan direkt trombin inhibitörleri gibi yeni ilaçların geliştirilmesine yol açmıştır (4,5).

Dabigatranın öncü ilacı olan dabigatran etexilate (Pradaxa, Boehringer Ingelheim), yeni geliştirilen, trombini yüksek afinite ve spesifite ile geri dönüşümlü olarak inhibe eden oral bir antikoagülandır. Mevcut kullanımda olan bazı antikoagülan ajanların aksine yiyecek ve ilaç etkileşimine girmemesi, moniterizasyon gerektirmemesi avantajlarıdır (6). Gerek oral kullanımından kaynaklanan kullanım kolaylığı gerekse yan etki güvenilirliği nedeniyle giderek artan sıklıkta kullanılmaktadır.

Antikoagülanlar ile kırık iyileşmesi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar literatürde oldukça az sayıdadır (7). Bu deneysel çalışmada antikoagülanların pıhtı oluşumu üzerine olan etkilerinden yola çıkılarak, gelecekte emboli profilaksisinde oldukça sık kullanılacağını düşündüğümüz dabigatran etexilatın kırık iyileşmesine etkilerinin histolojik ve radyolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır. Literatürde benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu

2.1.1. Kemik Dokusunun Tanımı, İçeriği

Kemik, ekstrasellüler matriksi kalsifiye, oldukça iyi kanlanma ve innervasyona sahip olan bir bağ dokusudur. Tensil gücü demirinkine neredeyse eşittir ancak demirden üç kat daha hafif ve on kat daha esnektir (8). Üzerine gelen stres yükleri ile devamlı olarak şekil değiştirir. İskelet sisteminin ana yapısını oluşturur. Hayati organları korumasının yanı sıra üzerine yapışan kasların kasılması ile vücudun hareket etmesini sağlar. Kan hücrelerini yapan kemik iliğini barındırır. Ayrıca kalsiyum, fosfat gibi iyonlara depo görevi görerek vücudun mineral dengesini sağlar (9,10).

2.1.2. Kemik Histolojisi

Kemik, hücreler arasında kalsifiye olan kemik matriksi içinde dizilim gösteren hücrelerden oluşur. Kemikle ilişkili çok sayıda hücre mevcut olmasına rağmen; bunların içinde kemik üretimi, yıkımı ve yapımını düzenlemede özelleşmiş olan hücre tipleri ön plana çıkmaktadır. Bunlar; osteositler, osteoblastlar, osteoklastlar ve osteoprogenitör hücrelerdir (10).

Kemiğin dış yüzeyi; dıştan sıkı bağ dokusu ile çevrelenmiş olan, içi osteoprogenitör hücreleri barındıran periosteum ile kaplıdır. Kemiğin santral kavitesi ise özel, ince bir bağ dokusu olan endosteum ile örtülüdür. Endosteum, tek tabakalıdır. Osteoprogenitör hücreler ve osteoblastlardan oluşur (9).

A. Kemik Hücreleri

Osteoprogenitör Hücreler

Embriyonik mezenkimal hücrelerden kök alırlar. Çoğalma potansiyeli ve farklılaşma kapasitesine sahip hücrelerdir. Gerekli durumlarda hücrel düzenleyici bir mekanizma ile osteoblastlara farklılaşabilir. Ayrıca düşük oksijen basıncı varlığında kondrojenik hücrelere dönüşümleri de görülür (9,11).

Osteoprogenitör hücreler, periosteumun sellüler iç tabakasında ve Havers kanallarını çevreleyen endosteumda bulunurlar (9). Bu hücreler, yaşam boyunca canlılıklarını devam ettirirler. Erişkinde kemik kırıklarının onarımı esnasında ve diğer hasarlarda yeniden aktive olurlar (11).

Osteoblastlar

Osteoblastlar, kemik matriksinin organik kısımlarını sentezleyen ve sekresyonunu yapan hücrelerdir. Osteoprogenitör hücrelerden köken alırlar (8-10).

Osteoblastlar, kemik organik matriksinde Tip I kollajen ve kollajen olmayan proteinleri sentezlerler. Ekstrasellüler matriksteki fibrillerin düzenini sağlamanın yanı sıra alkalen fosfataz (ALP) enzimi sayesinde osteoid materyalin mineralizasyonuna katkıda bulunur. Bunun yanı sıra salgıladığı sitokinler aracılığıyla osteoklast rezorpsiyonuna da aracılık eder.

Osteoblastlar, özellikle kemik yüzeylerinde yan yana tek katlı epitel hücreleri gibi dizilim gösterir. Aktif haldeyken, yani matriks sentezi yaparken, kübikten prizmatığe kadar değişik şekillerde olup, bazofilik sitoplazmaya sahiptirler. Sentez faaliyetleri azalınca bu özelliklerinde de gerileme olur. Sentez işlevi azalan aktif osteoblast ya bone-lining hücrelerine dönüşüp kemiğin yüzeyinde kalmaya devam eder veya mevcut kemik matriksi ile temasta olan yüzeylerinden salgılanan **osteoid** adı verilen demineralize matriks tabakası ile çevrelenip osteosit haline dönüşür ya da ortadan kaybolur (8,10).

Osteoblast membranında paratroid hormon reseptörleri bulunur. Paratroid hormonunun bu reseptörlere bağlanması osteoblastın RANKL ekspresyonunu artırırken, osteoprotejerin sentezini bloke eder. Parathormon etkisiyle bu hücreler kemik yüzeyini osteoklastların yapışması için uygun bir ortam haline getirirler (9,11).

Osteositler

Olgun insan iskeletinde hücrelerin %90'ından fazlasını osteositler oluşturur (8). Osteoblastlardan köken alırlar. Matriks içi kanalcıkların arasındaki lakuna isimli boşluklarda bulunurlar. Her bir lakunada bir adet osteosit ve uzantıları bulunur. Beraberinde az miktarda kireçlenmiş olan matriks vardır (10). Osteositler **kanalikül** adı verilen ince silindirik kanalcıklar ile birbirleriyle bağlantılıdır. Kanaliküller içinde bulunan komşu hücre uzantıları oluklu bağlantılar (gap junction) ile bağlanır. Oluşturulan bu kemik içi hücre ağı aracılığı ile moleküller hücreden hücreye geçer (10,11).

Osteositler kemiğin canlılığı için gerekli maddeleri salgırlar (9). Bu hücreler aktif olarak kemik matriksinin bakımından sorumlu olup, ölümlerini takiben matriks erimesi görülür (10).

Osteoklastlar

Osteoklastlar dallanmış yapıda, çok büyük (150 mikron) ve hareketli hücrelerdir (10). Diğer kemik hücrelerinin aksine osteoprogenitör kökenli olmayıp kemik iliğindeki monosit-makrofaj hücre soyundan kaynaklanan çok çekirdekli hücreler olup asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgılayarak kemiğin rezorpsiyonundan sorumludurlar (8,9,11).

Osteoklastlar, kemik rezorpsiyon başlangıç sahalarında enzimatik olarak oyulan **Howship lakünası** adı verilen çukurlara yerleşirler (10).

Aktif osteoklastlarda matrikse bakan yüzde hücre membranı fırçamsı derin katlantılar (büzgülü kenar) yapar. Bu bölge kemik rezorpsiyonu için mikro çevreyi oluşturur. Hücre inaktif haldeyken gözlenmez (10,11). Osteoklastlar kemik matriksine, büzgülü kenar etrafında bulunan saydam kuşak adı verilen bir sitoplazma kuşağı ile yapışır. Saydam kuşak organel içermez, aktin filamanlarından zengindir ve kemik erimesinin meydana geldiği mikro çevreyi oluşturur (9,12).

Osteoklastların aktivasyonu çeşitli sitokinler, kalsitonin ve D vitamini tarafından kontrol edilir. Osteoklastların tiroidten salgılanan kalsitonin hormonu için reseptörleri vardır. Kalsitonin reseptöre bağlandığı zaman osteoklast büzgülü kenarını kaybeder ve inaktif hale gelir (11).

B. Kemik Matriksi

Kemik matriksi hacimsel olarak kemik dokusunun %90'ından fazlasını oluşturur. Organik ve inorganik komponentler içeren kompozit bir yapıdır. Esas olarak kollajenden oluşan organik komponent kemiğe şeklini verir ve gerilmeye karşı direnç sağlar. İnorganik komponent ise kompresyon güçlerine karşı dirençten sorumludur (8).

İnorganik Madde

İnorganik matriks temel olarak kemiğin sertliğini ve gücünü sağlamanın yanı sıra iyon deposu olarak iş gören bir yapıdır (8).

Kemik matriksinin kuru ağırlığının % 65'ini oluşturur (9). Bol kalsiyum (Ca^{2+}) ve fosfor içerir. Kalsiyum ve fosfor hidroksiapatit kristalleri ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) şeklindedir. Tip I kollajen lifleri boyunca uzanır. Ek olarak kemik matriksi bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum da bulundurulur.

Kollajen ile hidroksiapatit kristallerinin arasındaki ilişki kemiğin gücünü ve sertliğini belirler. Dekalsifiye kemik normal şeklini korur, fakat çok bükülebilir olur. Aksine organik bölüm kemikten uzaklaştırılırsa kemik yine asıl şeklini korur ancak kırılabilir (9).

Organik Madde

Kemiğin kuru ağırlığının % 35'ini oluşturur, %90 Tip I kollajen liflerinden oluşur. Tip I kollajenin yanı sıra değişik oranlarda kondroitin sülfat, keratan sülfat, hyaluronik asitten zengin proteoglikanları ve kollajen olmayan proteinleri içerir (8,11). Tip I kollajen diğer kollajenlerden özgün aminoasit yapısı ve nispeten daha büyük fibril yapısı ile ayırt edilebilir (8).

Osteoblastlar tarafından sentezlenen osteokalsin, osteopontin ve osteonektin gibi kemik glikoproteinleri matriks kalsifikasyonunun başlatılmasından sorumlu olabilir (11). Normalde bu glikoproteinleri içermeyen ancak Tip I kollajen içeren diğer dokular normal olarak kireçlenmezler (10).

C. Periosteum ve Endosteum

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri; kemik yapan hücreler ve bağ dokusundan oluşan, periosteum ve endosteum olarak adlandırılan tabakalar ile örtülüdür.

Periosteum kemiğin dış yüzünü sinovyal eklemler, tendon, ligament ve interosseöz membranların yapışma yerleri haricinde çevreler. Çoğu bölgede kemikten kolayca sıyrılır ancak eklem yüzeyleri yakınında ve kas, tendon, interosseöz membran yapışma bölgelerinde periosteum bu bölgelere o kadar sıkı bağlanır ki sıyırmak için keskin diseksiyon gerekir (8).

Periosteum; dış ve iç olmak üzere iki tabakadan oluşur. Dış tabaka kalındır; kollajen liflerden, fibroblastlardan oluşur ve kan damarlarından zengindir. Periost kemiğe dış tabakadaki kollajen lif demetlerinden oluşan **Sharpey liflerinin** matriks içine girmesiyle bağlanır. Periosteumun içte bulunan tabakası (Kambiyum tabakası) hücreden zengindir. Bu hücreler çoğunlukla bölünüp farklılaşarak osteoblastları meydana getirme potansiyeline sahip osteoprogenitör hücrelerdir (10,11).

Endosteum, Havers kanalları dahil kemiğin bütün boşluklarını ve kemik iliğini barındıran süngerimsi duvarları örter (11). Tek tabaka halinde yassılaştırmış osteoprogenitör hücreler ile çok az miktardaki bağ dokusundan oluşur (10).

Periosteum ve endosteumun ana fonksiyonları; kemiksi dokunun beslenmesi ve devamlı olarak yeni osteoblast üreterek kemik büyüme ve onarımının sağlanmasıdır (10).

2.1.3. Kemiğin Kanlanması

Ossesöz hemostazisin devamlılığı için kemiğin vasküler yatağından olan dolaşım önemlidir. Kemiğin normal büyümesi, şekillenmesi ve tamiri için gerekli maddeler ve oksijen kan akımıyla kemiğe ulaşır. Normal fizyolojik durumlarda kardiyak outputun %5-10'u kemiğe ulaşır (13).

Uzun kemikler; nutrisyonel arter sistemi, metafiz-epifiz sistemi ve periost sistemi olmak üzere üç kaynaktan beslenir:

1. Nutrisyonel Arter Sistemi

Nutrisyonel arterler, ana sistemik arterlerden dallandıktan sonra diyafizel kortekse nutrient foramenlerden girerler. Buradan medüller kanala geçerek inen ve çıkan dallarına ayrılırlar. Bu damarlar endosteal kortekste arteriollere dallanıp Haversiyan sitemindeki damarlar aracılığıyla diyafizel korteksin iç yüzünün en az üçte ikisini beslerler. Bu arter sistemi yüksek basınçlıdır.

2. Metafizyel-Epifizyel Sistem

Periartiküler vasküler pleksustan kaynaklanırlar. Nutrisyonel ve periostal sistemle birlikte medüller vasküler yapıyı oluştururlar.

3. Periosteal Sistem

Esas olarak diyafizyel korteksin dıştaki üçte birini besleyen kapillerlerden oluşan düşük basınçlı bir sistemdir.

Uzun kemiklerdeki arteriyel akım, basıncı yüksek olan nutrisyonel arter sisteminden düşük olan periosteal sisteme olacak şekilde sentripedaldır (içten dışa). Kırık gibi nutrisyonel sistemin kesintiye uğradığı durumlarda bu akımın yönü tersine dönerek sentrifugal hale gelir (dıştan içe) (14,15).

Periostal arterler çevre yumuşak doku ve kas dokusu için de dolaşım desteği sağlar. Kas dokusunun besleyici arteri hasar görse de kas-periost bileşkesi sağlam ise kasa giden kan akımında azalma gözlenmez (16).

2.1.4. Kemik Yapısı

Kemikler, anatomik şekillerine göre üçe ayrılır (8):

- A. Kısa kemikler (omurlar, karpal ve tarsal kemikler vs.)
- B. Uzun (tübüler) kemikler (femur, tibia, humerus vs.)
- C. Yassı kemikler (kafatası kemikleri, pelvis kemikleri, skapula vs.)

Kemikler makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre de ayrılabilirler.

A. Makroskopik Kemik Tipleri

Makroskopik olarak kemik incelendiğinde kompakt (kortikal) ve süngerimsi (kansellöz) olmak üzere iki farklı yapıda kemik tipi görülür (8,9).

Kompakt ve süngerimsi kemiğin matriks kompozisyonu ve yapısı aynıdır, ancak birim hacme düşen kemik matriks miktarı kompakt kemikte daha fazladır. Bundan dolayı kompakt kemik daha az boşluk içeren yoğun alanlardan oluşurken süngerimsi kemik çok sayıda birbirine açılan boşluklardan oluşur. Ayrıca kompresif dayanıklılık ve elastisite açısından kompakt kemik süngerimsi kemiğe göre on kat daha üstündür (8).

Süngerimsi kemik, kemik iliği tarafından doldurulan boşluğu sınırlayan spiküllerden veya trabeküllerden oluşan bir ağ örgüsünden medyana gelir (10). Birim hacme düşen yüzey alanı kompakt kemiğe göre yirmi kat daha fazladır. Kortikal kemikte hücreler kemik matriksi ile kuşatılmış durumda iken, süngerimsi kemikteki hücreler lamellalar arasında veya trabeküllerin yüzeyinde yerleşmiş durumdadır (8).

Uzun kemikler gövdeyi oluşturan **diyafiz** ve birbirlerinden büyüme döneminde kırıldak epifizyal plak ile ayrılmış olan küremsi yapıdaki uç kısım olan **epifiz**’ den oluşur (9,10). Epifizyal plak ile diyafiz arasındaki süngerimsi kemik kolonları **metafiz** olarak adlandırılır (9). Uzun kemiklerin epifizleri ince bir tabaka kompakt kemik ile örtülü süngerimsi kemikten oluşurken, diafizlerinin ise hemen hemen tamamı kompakt kemikten oluşur.

Kısa kemikler, genellikle etrafı kompakt kemik ile çevrelenmiş süngerimsi kemik merkezine sahiptirler. Kafatasının üst kısımlarını oluşturan yassı kemikler, **plaka adı** verilen iki tabaka kompakt kemik ve aralarında **diploe** adı verilen süngerimsi kemik tabakasından oluşur (10).

B. Mikroskopik Kemik Tipleri

Mikroskopik olarak kompakt veya süngerimsi kemik iki tür kemik içerir: Birincil, olgunlaşmamış veya örgü kemik ile ikincil, yetişkin veya lamelli kemik (8,9).

Birincil (olgunlaşmamış, örgü) kemik dokusu; Birincil kemik, embriyonik hayatta ve hayatın ilk 3-4 yılındaki iskeleti oluşturur. 4-5 yaş üzerinde tamamına yakını ikincil kemik dokusu almıştır (8). Ayrıca kırık iyileşmesinde beliren ilk kemik dokusudur (9). Bunun haricinde erişkinde tendon ve ligament yapışma yerlerinde, kafatası düz kemik eklemlerinin civarında ve diş alveollerinde bulunur. İkincil kemiğe göre daha az mineral içeriği vardır. Buna ek olarak hücrel olarak daha fazla osteosit içerip kollajen liflerinde düzensizlik mevcuttur. Bu özelliklerinden dolayı ikincil kemiğe göre daha esnek, daha kolay deforme olabilen güçsüz bir yapısı vardır (8,10).

İkincil (yetişkin, lamelli) kemik dokusu; olgun kemiklerde bulunur. Doğumdan sonra görülmeye başlar ve gelişme ile beraber birincil kemiğin yerini alır. Birbirine paralel diziliimli yoğun kollajen fibrillerinin sıkı bağlantılar yapıp oluşturduğu 3-7 mikrometre kalınlığındaki paralel veya konsantrik lamellerden oluşur. Lamellerin arasında içerisinde osteosit bulunan lakünalar bulunur. Bu konsantrik lamellerden 4-20 tanesi biraraya gelerek

diyafizin uzun eksenine paralel, silindirik özellikteki **Havers sistemi veya Osteon** adı verilen yapıyı oluşturur. Bu yapının ortasında endosteum ile örtülü olan ve içerisinde kan damarlarını, sinirleri ve gevşek bağ dokusunu içeren **Havers Kanalı** bulunur. Her Havers sistemi **sement çizgisi** adı verilen ve içinde az miktarda kollajen lif içeren kalsifiye matriks ile çevrelenir (9-11). Bu kanalların çapları farklıdır. Yeni oluşan Havers sistemlerinin kanalları daha geniştir; bu yapılara yeni lameller yapı kanal çevresinde olacak şekilde eklendikçe kanal çapı da daralır.

Lamellar kemik yapısal ve fonksiyonel olarak dört lamellar yapı içerir:

1. Havers sistemi
2. Dış dairesel lameller
3. İç dairesel lameller
4. Ara (interstisyel) lameller

Periostun hemen altında yer alan dış dairesel lamellerin sayısı kemik iliği boşluğunun etrafında yer alan iç dairesel lamellereden fazladır. Bu iki dairesel lamel arasında pek çok Havers sistemi ve genelde üçgenimsi bazen de düzensiz olarak şekillenmiş ara lameller bulunur. Ara lameller, Havers sistemlerinin kemik büyümesi ve yeniden modellenmesi sürecinde yıkılması sonucu ortaya çıkan artıklarıdır. **Volkman kanalları** ise Havers kanalları, kemik iliği boşluğu, periost arasında ilişki kuran enine veya oblik kanallardır. Bu kanallar dairesel lamel içermez bunun yerine lamelleri delerler (9-11).

2.2. Kırık İyileşmesi

Dıştan veya içten gelen kuvvetler sonucunda kemiğin anatomik bütünlüğünün bozulmasına kırık denir (17). Kırık olduktan sonra çeşitli fizyolojik mekanizmalar ile kemik bütünlüğü yeniden sağlanmaya çalışılır. Çoğu dokudan farklı olarak kemik dokusu skar dokusu oluşturmaksızın rejenerasyonla aslına en yakın şekilde iyileşir (10,17). Kırık iyileşmesi, kırığın olduğu andan itibaren başlar ve kırık uçları düzenli kemik dokusu ile birleşip kemik eski halini alana kadar devam eder (17,18). Kırık iyileşmesinin primer ve sekonder olmak üzere iki tipi vardır (17,19).

A. Primer (direkt) Kırık İyileşmesi

Kırık uçlarının tam redüksiyonu sonrası görülen iyileşme türüdür (1,2,17,20). Kallus oluşumu görülmez. Bu nedenle rejenerasyon, fibröz ve kondral iyileşme evreleri olmadan direkt kemik oluşumu görülür. Kırık hattında periost reaksiyonu görülmeden canlı osteojenik hücrelerden osteoklast ve osteoblast farklılaşması olur. Osteoklastlar Havers kanallarını genişletirler. Osteoblastlar da genişleyen bu kanallara yerleşerek konsantrik lamellar kemik oluştururlar (1,2).

B. Sekonder (indirekt) Kırık İyileşmesi

Kırık iyileşmesinin en sık görülen formudur. Hem enkondral hem de intramembranöz kemik iyileşmesini içerir. Bu iyileşme tipinde kırığın anatomik redüksiyonu veya rijit bir tespiti gerekli değildir, tersine mikro hareket ve yük verdirme iyileşmeyi artırır. Ancak aşırı yüklenme ve hareket de gecikmiş kaynamaya veya kaynamamaya neden olabilir (21).

Sekonder kırık iyileşmesi evrelere bölünebilir. Bunlar kırık kemiği orijinal durumuna getiren yangı (enflamasyon), onarım (reperasyon) ve yeniden şekillenme (remodelizasyon) evreleridir (1,2,17,22). Histolojik olarak iyileşme süresindeki evreler birbirlerinden zaman olarak kesin sınırlar ile ayrılamaz ve her evre daima kendinden bir önceki veya bir sonraki evre içinde bulunur (17).

Yangı (enflamasyon) evresi (1-4 gün)

Kemiğin kırılmasıyla birlikte kan damarları, kas ve periosteum gibi yumuşak dokular da zarar görür ve kırık bölgesinde lokalize kanama olup hematoma meydana gelir (1,2,17).

Kırık hematoma onarım hücrelerinin göçünü kolaylaştıracak fibrin bir iskelet görevi görür. Hematom içindeki trombositlerden ve zarar görmüş hücrelerden inflamatuvar mediatörler salınır. Bunlar da kırık bölgesine inflamatuvar hücre göçü, periostal hücre çoğalması ve onarım dokusu matriksinin sentezinde aracılırlar.

Kırık olduktan sonra görülen geçici arteriyoller daralmayı; arteriyol, kılcal damar ve venüllerin genişlemesi izler. Vazodilatasyona bağlı olarak kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur (17). Ödeme bağlı olarak kırık hattının her iki tarafında belirli bir mesafede kan dolaşımı durur. Buradaki osteositler ölür ve geride boş lakunalar kalır (9,17). Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur.

Trombositlerden, ölmüş ve zarar görmüş hücrelerden serbest bırakılan enflamatuvar mediatörler de kan damarlarının genişlemesine ve plazma sızdırıp taze kırık bölgesinde akut ödem oluşmasına katkıda bulunur. Enflamatuvar hücreler, polimorf çekirdekli lökositler ve ardından makrofajlar ve lenfositler kırık bölgesine göç ederler. Bu hücreler ayrıca sitokinleri serbest bırakarak anjiyogenezi uyarır (2). Kırık alanını dolduran hematom, küçük kapillerler ve çevre yumuşak dokudan gelen fibroblastlarca bir granülasyon dokusunu oluşturmak üzere istila edilir (9).

Onarım (Reperasyon) evresi (2-40 gün)

Kırık bölgesindeki hematomun organize olması ile başlar. Kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7-12 gün sürer (17).

Bu evrede; mezenşimal pluripotent hücreler, periosteumun iç tabakasındaki osteoprogenitör hücreler ve endosteumdaki osteoblastlar önemli rol oynarlar (1,2,9,17). Mezenşimal hücreler çoğalıp farklılaşarak fibröz doku, kıkırdak ve birincil kemikten oluşan kemik (sert) veya fibrokartilaj (yumuşak) kallusu oluşturur.

Başlangıçta, kırık periferinde intramembranöz olarak şekillenen kallus sert kallustur. Yumuşak kallus ise oksijen basıncının düşük olduğu santral bölgelerde şekillenen fibröz ve kıkırdak dokudan meydana gelir. Yumuşak kallus zamanla endokondral ossifikasyon yoluyla kemikleşir ve kırık uçlarının stabilitesi artar (1,2,17).

Kırık iyileşmesinde en önemli faktör kanlanmadır. Vasküler invazyona bağlı olarak kapiller damar gelişiminin yeterli olması, hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü ve kemik doku oluşumunu arttırırken; yetersiz olması hücrelerin kondroblastlara dönüşümünü ve dolayısıyla kıkırdak doku oluşumunu arttırır (1,2,9,17).

Kallus birtakım hücresel aktiviteler sonucunda mineralize olur. Hücreler önce yüksek konsantrasyonda Tip I kollajen fibrilleri içeren matriksi sentezler ve sonrasında hidroksiapatit kristallerinin depolanması için uygun ortam hazırlarlar. Mineralizasyonla beraber, oluşan internal ve eksternal kallusun etkisiyle kırık fragmanlarının stabilitesi giderek artar ve kaynama gerçekleşir ancak kaynama henüz bitmiş değildir. Onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz kısımlarının rezorpsiyonu ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodelizasyon) başlar (1,17).

Yeniden şekillenme (Remodelizasyon) evresi (25-100 gün)

En uzun evre olup, aylar hatta yıllar sürebilir. Onarım aşamasının ortasında başlar ve kırık klinik olarak iyileştikten uzun süre sonra bile devam eder. Olgunlaşmamış zayıf kemiğin yerini olgun normal güçteki lamellar kemik alır ve kallusun fazlalık kısmı rezorbe edilir (1,2,17).

Kemiğin remodelizasyonunda kabul gören üç temel teori vardır. Birincisi; kemiğe binen yüklere göre yeniden şekillenmesi esasına dayanan **Wolff Kanunu**'dur. Bu kanuna göre mekanik yüklenmenin arttırılması kemik kütlesinde artışa neden olurken; yükün ortadan kaldırılması belirgin kemik yıkımına neden olur. İkincisi; kemiğin elektrik yüklere göre yeniden şekillenmesi esasına dayanan **Piezoelektrik Yükler Teorisi**'dir. Bu teoriye göre, kemiğin kompresyon yüzü elektronegatif olup osteoblastları yani kemik yapımını uyarırken; gerilme yüzü elektropozitif olup osteoklastları yani kemik yıkımını uyarır. Üçüncü teori ise; yeniden şekillenmeyi sistemik hormonlar ve lokal sitokinler tarafından düzenlenen temel çok hücreli birimlere dayandıran **Hueter-Volkmann Kanunu**'dur (22).

2.2.1. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

A. Yaralanmaya bağlı etkenler

Yaralanmanın şiddeti, yumuşak doku hasarıyla birlikte açık kırık olması, kırık bölgesinde kemik defektinin olması, eklem içi kırık olması, segmental kırık olması, kırıkla beraber vasküler yaralanmanın görülmesi, kırık uçları arasında yumuşak doku interpozisyonu olması gibi travmayla ilişkili durumlar kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (1,2,17).

B. Hastaya bağlı etkenler

İskelet gelişimi tamamlandıktan sonra yaş ile kırık kaynaması arasında bir bağlantı kalmaz. İnfantlardaki kaynama hızı adölesanlara göre, adölesanlardaki kaynama hızı ise erişkinlere göre fazladır (1,2,17,22).

Malnütrisyon durumunda; hücre çoğalması, göçü ve matriks sentez işlemleri için gerekli enerji sağlanamadığından kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir (1,22). C vitamini kırık

iyileşmesini olumlu etkiler (17,23). B6 vitamini eksikliği ise kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etki eder (17). Bunun yanı sıra diyabet, D hipervitaminözü ve rikets de kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etki gösterir. Ancak D vitamini kullanımı kırık iyileşmesini uyararak olumlu etkide bulunur (17,24).

Parathormon (PTH), kalsiyum ve fosfat metabolizmasında önemli bir rolü olan, kemik rezorpsiyonunu düzenleyen bir hormondur. PTH uyarısının sürekli olması osteoklast sayısını artırır; aralıklı maruz kalma ise osteoblastları uyararak kemik oluşumunu uyarır. Sonuçta PTH, kemik mineral dansitesini artırır, kırık riskini azaltır ve kırık iyileşmesini artırır (1,25). Kalsitonin ve insülin de kırık iyileşmesini artırır (1).

Büyüme hormonu ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) iskelet gelişiminde ve yeniden şekillenmesinde rol oynar. Büyüme hormonu etkisini IGF-1 Sistemi üzerinden göstererek endokondral ossifikasyonu, periostal kemik oluşumunu ve lineer büyümeyi artırır (1,22). Tiroid hormonu da kemik remodelizasyonuna olumlu etki eden bir hormondur (22).

Kortikosteroidler osteoporoz gelişimine neden olurlar; sekonder osteoporozun en sık nedenidirler. Mezenkimal hücrelerin osteoblastlara dönüşümünü ve organik matriks sentezini azaltmanın yanı sıra osteoblast ve osteosit apoptozisini indükleyerek kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (26). İndometazin ve diğer non-steroidal anti enflamatuar ilaçlarla yapılan hayvan çalışmalarında NSAİİ'lerin prostoglandin sentezi üzerindeki etkilerine sekonder olarak değişik derecelerde kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri bulunmuştur (1,7,26).

Yapılan çalışmalarda sigara kullanımı ile gecikmiş kaynama, kaynamama ve osteomyelit gelişimi arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Nikotin kırık iyileşme bölgesindeki vaskülarizasyonu azaltarak kaynamayı geciktirir (27).

Kanser tedavisinde kullanılan ajanlar da kırık iyileşmesini olumsuz etkiler (1,22). Bu ajanların antiproliferatif ve sitotoksik etkileri neovaskülarizasyonu, düzgün kallus oluşumunu olumsuz etkileyerek yüksek kaynamama oranlarına neden olur (26).

Yapılan başka bir rat çalışmasında L-Dopa'nın ratlarda kemik kaynama oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (28).

Antibiyotiklerin kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bazı yazarlar kinolonların çocuklarda büyümekte olan kırık dokusunda kondrosit ölümünü takiben kartilaj hasarı meydana getirdiğinden bu ilaçların

çocuklarda kullanılmasını önermemektedirler. Ratlarda yapılan çalışmalarda ise ciprofloksasinin DNA sentezini etkileyerek kırık iyileşmesinin erken safhasında hücre proliferasyonunu inhibe ettiği; böylece kondrosit sayısını azalttığı ve kartilaj morfolojisinde anormalliklere neden oluğu gösterilmiştir. Yüksek doz gentamisinin osteoblastik progenitör hücrelerin çoğalmasını baskıladığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Diğer antibiyotiklerden doksisisiklin, cephalotin ve tobramisinin ise kırık iyileşmesi üzerine etkisi bulunamamıştır (26).

Kırığı takiben pıhtılaşma kaskadı sonuçta pıhtı oluşturmak amacıyla bir proteaz olan trombini aktive eder. Anfraksiyone heparin, düşük molekül ağırlıklı heparinler ve direkt trombin inhibitörleri trombini inhibe ederek pıhtı oluşumunu azaltırlar. Doğal olarak bunun da kırık iyileşmesine olumsuz bir etkisi olduğu akla gelir. Literatürde bununla ilgili yapılan az sayıdaki çalışmalarda antikoagülan tedavinin kırık iyileşmesini geciktirdiği, kemik oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (7,26).

C. Yaralanan kemik dokusuna bağlı etkenler

Kansellöz kemik kortikal kemiğe oranla daha iyi oranda iyileşir. Ayrıca kemik nekrozu ve vasküler problemlerin kırığa eşlik etmesi de iyileşmeyi olumsuz etkiler. Osteoporoz, osteomalazi, kemik tümörleri, paget hastalığı ve hiperparatroidi gibi kemiğe etki eden hastalıklarda da kırık iyileşmesinde gecikme ya da nonunion görülebilir (1).

Enfeksiyon varlığında; enerji tüketimi artar, dokularda ödem, nekroz ve damarlarda tromboz görülebileceğinden dolayı kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir (1,17,22).

D. Tedavi yöntemlerine bağlı etkenler

Kırık uçları arasında tespit sonrasında kalan uyumsuzluk iyileşmeyi olumsuz etkilerken; her tür kırık tespiti, kırık uçlarının hareket etmesi nedeniyle oluşabilecek tekrarlayan yumuşak doku yaralanmalarını engelleyerek kırık iyileşmesini uyarır (1). Kırık hattına yük verilememesi iyileşmeyi yavaşlatırken, kırık hattında mikro hareket olması ise iyileşmeyi olumlu etkiler.

Hiperbarik oksijen; uygulanma dozuna bağlı olarak kırık iyileşmesi üzerine olumlu veya olumsuz etkiler gösterir (17).

Düşük yoğunluklu pulse ultrason (Lipus) kemik rejenerasyonu üzerine olumlu etkilere sahiptir (29). Ayrıca kırık iyileşmesini uyarır ve kırık kallusunun mekanik gücünü artırır (1,30).

Elektrik uygulamaları; kaynamama ve gecikmiş kaynama durumlarında kırık iyileşmesini arttırmaktadır (1,31). Fakat yeni oluşan kırıkların iyileşmesinde bu etkiye ait bulgu yoktur (1).

2.3. Kırık Sonrası Görülebilecek Lokal veya Sistemik Komplikasyonlar

Ortopedik travma hastalarındaki komplikasyonlar, yaralanmaya özgü komplikasyonlar ve diğer organ sistemlerinin işlev bozukluğuna yol açan sistemik komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır (1).

Yaralanmaya özgü komplikasyonlar:

- Enfeksiyon
- Kaynamama
- Nörolojik yaralanmalar
- Damarsal yaralanmalar
- Kas-iskelet sistemi yaralanmaları

Sistemik komplikasyonlar:

- Şok
- Derin ven trombozu
- Yağ embolisi
- Solunum bozukluğu
- İdrar yolu enfeksiyonları
- Beslenme yetersizliği

2.3.1. Derin Ven Trombozu

Derin ven trombozu (DVT), derin venlerin trombüs nedeniyle kısmen veya tamamen tıkandığı multifaktöryel bir hastalıktır (1). DVT ve pulmoner embolizm venöz

tromboembolik hastalığın komponentleridir (32). Travma ile başvuran hastaların %60'ında asemptomatik DVT bulguları vardır (33).

Patofizyolojisi ilk olarak Virchow tarafından damar duvarı hasarı, venöz staz ve hiperkoagülabilité olarak tanımlanmıştır. Venöz staz immobilizasyona bağlı olarak oluşur. Travmaya bağlı olarak damar hasarı gelişebilir; travmayı takip eden günlerde ise sıklıkla hiperkoagülabilité görülür (34,35). Derin ven trombozu gelişim yönünden risk faktörleri Tablo 1'de verilmiştir (34).

DVT genellikle etkilenen uzuvda ağrı, eritem, hassasiyet ve şişlik ile kendini gösterir. Etkilenen uzvun çapı genellikle karşı uzuvdan fazladır. Ayrıcı tanısında rüptüre Baker kisti ve infektif sellülit bulunur. Bu hastalıklarla sıkça karışabileceğinden dolayı fizik muayene bulgularının tanı açısından güvenilirliği düşüktür (35).

Tanısal yöntemler açısından kontrastlı venogram altın standarttır. Fakat invaziv olduğundan dolayı ideal değildir. Noninvaziv metotlardan impedans platismografi, Doppler ultrasonografi ile birlikte veya tek başına kompresyon ultrasonografisi pratikte güvenle kullanılabilir (36).

Tablo 1. Venöz Tromboembolizm İçin Risk Faktörleri

Klinik Riskler	Hemostatik Anormallikler (Hiperkoagülabilité Durumları)
İleri Yaş	Antitrombin-III eksikliği
Pelvis, kalça, femur veya tibia kırıkları	Protein C-S eksikliği
Paralizi veya uzamış immobilité	Disfibrinojenemi
Geçirilmiş venöz tromboemboli öyküsü	Lupus antikoagülanı
Abdomen, pelvis veya alt ekstremité cerrahisi	Miyeloproliferatif bozukluklar
Obezite	Heparine bağlı trombositopeni
Konjessif kalp yetmezliği	Plazminojen aktivasyon bozuklukları
Miyokart infarktüsü	
İnme	

2.3.2. DVT Profilaksisi

İdeal tromboemboli profilaksisi klinik olarak yan etkisi olmamalı, kullanım kolaylığı olmalı, moniterizasyon gerektirmemesinin yanı sıra ucuz olmalıdır (37). Güncel tromboemboli profilaksisinde kullanılan yöntemler:

1. Vitamin K antagonistleri (warfarin)
2. Anfraksiyone heparin (AFH)
3. Düşük molekül ağırlıklı heparinler (DMAH)
4. Aspirin (ASA)
5. Mekanik yöntemler
6. Sentetik pentasakkaritler (Fondaparinux)

Dabigatran etexilate ve rivaroxaban gibi ajanlar da yakın zamanda bazı ülkelerde onaylanmış ve kullanıma girmiştir (38).

Vitamin K antagonistlerinden warfarin, major ortopedik cerrahi sonrası VTE profilaksisinde en sık olarak kullanılan ilaçtır. Oral kullanımı bir avantajdır; ancak ilaç-ilâç ve yiyecek-ilâç etkileşiminin yanı sıra dar tıropatik pencereye sahip olması ve moniterizasyon gerektirmesi dezavantajlarıdır (37-39). Koagülasyon faktörlerinden faktör II (protrombin), faktör VII, IX ve X'un hepatik sentezi üzerine etki göstererek antikoagülan etkisini gösterir (40).

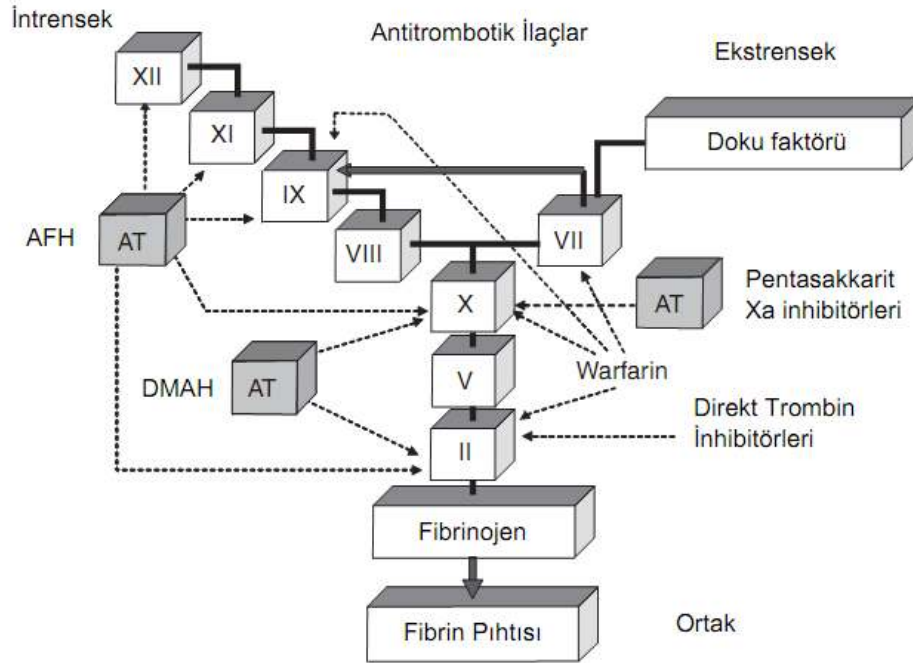
Anfraksiyone heparinlerin yerini yaygın olarak düşük molekül ağırlıklı heparinler almıştır. DMAH'ler moniterizasyon gerektirmezler. Anfraksiyone heparine göre plazma proteinlerine daha düşük oranda bağlanma, yüksek biyoyararlanım, tahmin edilebilir doz cevabı ve daha yüksek yarı ömre sahip olması gibi avantajları mevcuttur (38). Subkutan uygulanırlar. Anfraksiyone heparin gibi major antikoagülan etkilerini antitrombin üzerinden gösterirler (41).

Bir pentasakkarit olan fondaparinux, ilk sentetik faktör X inhibitörüdür. AFH ve DMAH'ler gibi etkisini antitrombin üzerinden gösterir (Şekil 1). Ancak fondaparinux aktive faktör X için spesifiktir (40,42). Yapılan çalışmalarda venöz tromboemboliyi önlemede daha etkin olduğu gösterilmesinin yanı sıra majör kanama riskini de anlamlı olarak arttırdığı gösterilmiştir (42).

Aspirin, antiplatelet bir ajandır. Basit, ucuz ve moniterizasyon gerektirmez. Güvenlidir ve heterotropik ossifikasyonu önlemeye yardımcıdır (37). Venöz tromboemboliyi önlemede etkisinin kısıtlı olduğunu savunan çalışmaların yanı sıra diğer farmakolojik ajanlar kadar etkili olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur (43,44).

Mekanik profilakside venöz boşaltımın hızlandırılarak stazın azaltılması amaçlanır. Ayak pompaları, baldır pompaları ve baldır-uyluk pompaları mekanik profilaksi cihazlarının üç ana tipidir (37). Komplikasyon oranları diğer yöntemlere göre daha az olsa

da DVT profilaksisinde etkinliğinin ilaç profilaksisi kadar olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (45).



Şekil 1. Pıhtılaşma Sistemi ve Antikoagülanların Bu Sisteme Etki Ettikleri Basamaklar (AT: Antitrombin, AFH: Anfraksiyone heparin, DMAH: Düşük molekül ağırlıklı heparin).

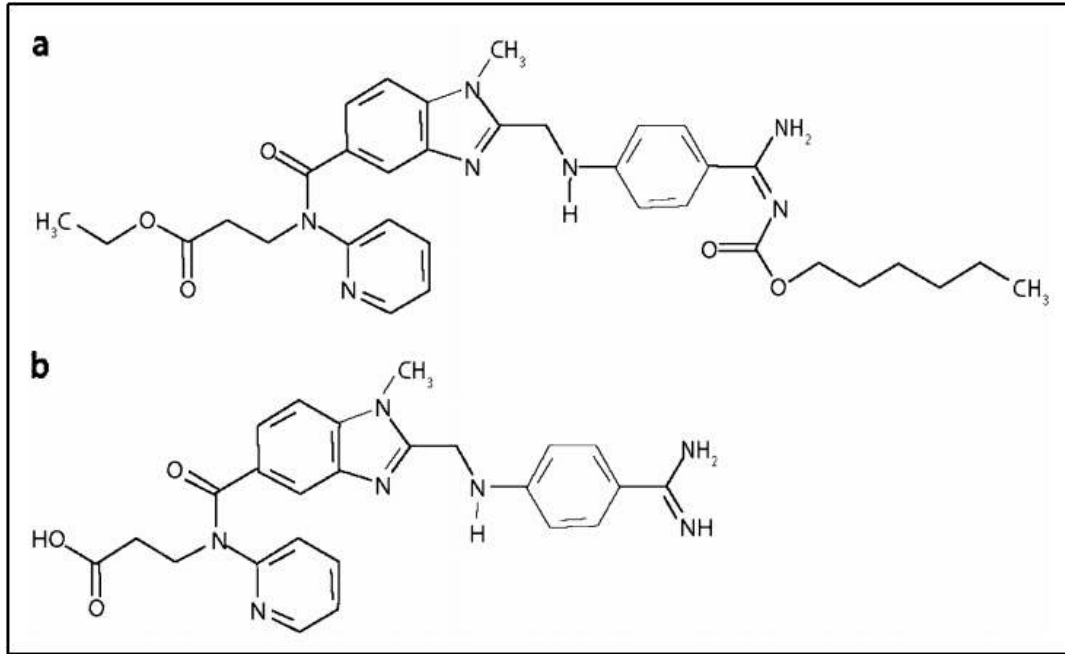
2.3.3. Dabigatran Etxilate

Dabigatran, trombini yüksek derecede selektif, geri dönüşümlü ve güçlü olarak direkt inhibe eden yeni geliştirilmiş antikoagülan bir ilaçtır. Oral formu olan dabigatran etexilat ise Pradaxa (Boehringer Ingelheim) markası altında dünya çapında 50 den fazla ülkede tromboemboli profilaksisinde, özellikle major ortopedik cerrahi sonrasında kullanılmak maksadıyla onay görmüştür (46).

Dabigatran etexilate; güçlü, nonpeptidik küçük bir molekül olmakla birlikte trombin molekülünün aktif kısmına bağlanarak trombini direkt olarak spesifik ve geri dönüşümlü olarak inhibe eder (46).

Dabigatranın amidin grubu aspartat rezidüsü Asp 189 ‘un karboksilatı ile tuz köprüsü kurar. Piperidin halkası ile trombinin aktif kısmının proksimal ve distal ceplerinin bir

parçası hidrofobik ilişki kurarlar. Yüksek polaritesinden dolayı dabigatran oral olarak alınamaz. Gastrointestinal emilim problemi nedeniyle dabigatranın karboksilik asit kısmına bir etil grubu, amidin grubuna da hekziloksikarbonil yan zinciri eklenerek öncül ilacı olan ve oral olarak alınabilen dabigatran etexilate geliştirilmiştir (Şekil 2) (46,47).



Şekil 2. a) Dabigatran Etexilate (BIBR 1048) ve b) Dabigatran (BIBR953)

Oral emilim sonrası dabigatran etexilate hızlı bir şekilde nonspesifik esterazlarla aktif formu olan dabigatrana ve iki ara metabolite hidrolize olur. Bu dönüşüm etkin bir biçimde meydana geldiğinden plazmada öncü ilaç ve ara metabolitler güçlükle tespit edilebilir. Tepe plazma konsantrasyonlarına (C_{max}) ve antikoagülan etkilerine oral uygulamadan 3 saat sonra ulaşılır (46).

Dabigatran etexilat gastrointestinal sistemde asidik ortamda daha iyi emilir. Bundan dolayı tartarik asit içeren bir formülasyon geliştirilmiştir. Dabigatran etexilatın dış kaplamasına tartarik asit eklenerek yaklaşık 1 mm çaplı mikropelletler oluşturulmuştur. Klinik kapsülü bu pelletlerden yüzlercesini içerir. Bu sayede ilacın emilimi hastanın gastrointestinal sistem pH'sından bağımsız hale getirilmiştir (46,48).

İn vitro çalışmalarda dabigatran etexilat veya dabigatranın, sitokrom P450 (CYP) ilaç metabolize edici sistemleri ile etkileşmediği görülmüştür. Benzer şekilde sağlıklı

gönüllülerle yapılan in vivo ilaç etkileşim çalışmalarında dabigatran etexilat ile CYP2C9 inhibitörü (diklofenak), CYP2C19 inhibitörü (pantoprazol) ve CYP3A4 inhibitörü (atorvastatin) arasında etkileşim görülmemiştir (46,49).

Dabigatran eteksilat, bir akış taşıyıcısı olan P-glikoprotein (P-gp) substratıdır. Bu orta derecedeki afinite aktif dabigatrana karşı değildir. Bundan dolayı ilacın olası etkileri sadece absorpsiyon ile kısıtlıdır; aktif ilacın dağılımında ve atılımında olası sorunlar beklenmez. P-gp'nin diğer bir substratı olan digoksin ile bir etkileşimi görülmemiştir. Güçlü bir P-gp inhibitörü olan kinidin ile kullanımı kontrendikedir (46,49).

Dabigatran plazma proteinlerine düşük oranda bağlanır (%35). Yiyeceklerle birlikte alımı plazma tepe konsantrasyonuna ulaşmasını sadece 2 saat geciktirir. Tahmin edilebilir farmakokinetik özellikleri sayesinde dabigatran etexilat, sabit doz rejimi ile koagülasyon moniterizasyonu gerektirmeden kullanılabilir. Her ne kadar moniterizasyon gerektirmese de dabigatran etexilatın klinikte antikoagülan etkisini moniterize etmede en değerli testler trombin zamanı (TT) ve ekotarin zamanıdır (ECT). aPTT ve PT testleri de diğerleri kadar sensitif olmasa da kullanılabilir (50).

Atılımı temelde renal yolla olur. İdrarla %80'lik kısmı değişmeden atılırken kalan kısım glukronik asitle konjuge olarak açilglukronid şeklinde safrayla atılır. Konjugatlardan küçük bir kısmı idrarda görülebilir (46,48).

Önerilen dozu günde 110 mg'lık kapsülden iki adet oral olarak alınacak şekilde 220 mg'dır. Renal bozukluğu olan, kreatin klirensi <30 mL/dk olan hastalarda kontrendikedir. Total diz replasmanı sonrası tromboproflaksi amaçlı olarak 1 ile 4. saatler arası başlanması ve tedavinin 10 gün sürmesi önerilmektedir. Benzer şekilde total kalça replasmanı sonrası 1 ile 4. saatler arası başlanması ve tedavinin 28-35 gün kadar sürdürülmesi önerilmektedir (51).

Bilinen bir antidotu yoktur. Kanama riski olan hastalarda doz aşımı halinde sonraki doz geciktirilebilir veya ilaç kesilebilir, hidrasyonla diürece devam edilebilir, mekanik kompresyon, cerrahi hemostazis ve kan transfüzyon ürünleri kullanılabilir. Ek olarak plazma proteinlerine bağlanma özelliğinden dolayı diyaliz edilebilir. Spesifik bir antidotu olmamasına karşın hayatı tehdit eden durumlarda rekombinant aktif faktör VII (NovoSeven) veya aktive protrombin kompleks konsantresi (FEIBA) kullanılabilir (46,48).

3. MATERYAL VE METOD

Deneysel çalışmamız, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Şubat ve Haziran 2011 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

Çalışmada, denek olarak 36 adet, ortalama ağırlıkları 250 (234-258) gram olan, 4-5 aylık Sprague Dawley cinsi, dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusu uygulanarak 20-24°C’de tek tek olacak şekilde kafeslere yerleştirildi. Sıçanlar, istedikleri kadar standart sıçan yemi ve su ile beslendi. Çalışma süresince sıçan kafesleri 3 günde bir düzenli olarak temizlendi.

Sıçanlar, 1 haftalık adaptasyon döneminden sonra rastgele seçilmiş 6’şarlı gruplara ayrıldı. 1. ve 2. gruba dabigatran etexilate %0,5’lik hidroksietilselüloz içinde çözelti haline getirildikten sonra 10 mg/kg olacak şekilde oral gavaj ile sırasıyla 1.gruba 2 hafta ve 2. gruba 4 hafta boyunca günde tek doz olacak şekilde verildi.

3. ve 4. gruba ise benzer şekilde hazırlanan dabigatran etexilate 50 mg/kg olacak şekilde 3. gruba 2 hafta, 4. gruba 4 hafta verildi.

5. ve 6. gruplar ise sham grubu olarak belirlendi. 5. gruba 2 hafta, 6. gruba ise 4 hafta boyunca sadece %0,5’lik hidroksietilselüloz çözeltisi verildi.

3.1. Cerrahi Teknik

Cerrahi öncesinde sıçanlar 4 saat aç bırakıldı. Anestezik ajan olarak; intraperitoneal olarak 5 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Ek anestezi ihtiyacı olduğunda intraop ek doz olarak 15 mg/kg ketamin hidroklorid yapıldı. Sıçanlar süpin pozisyonunda yerleştirildi. Sağ tibia cildi hem ameliyat öncesinde hem de

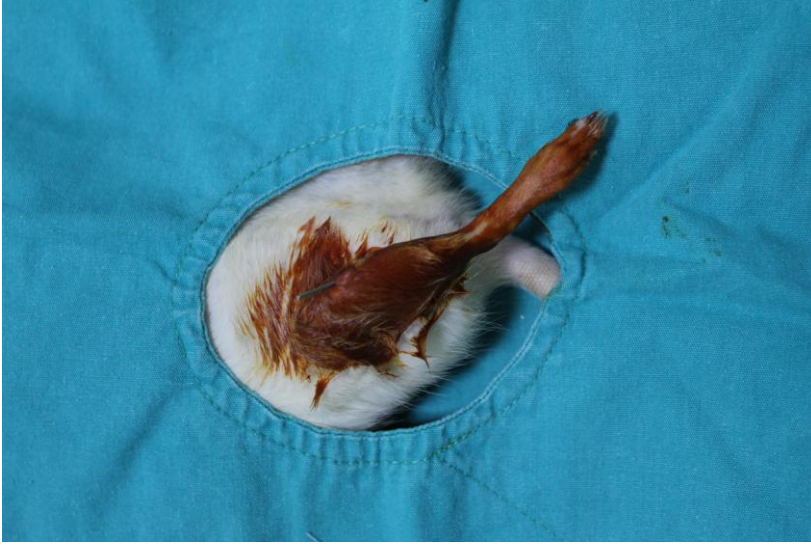
sonrasında %10'luk povidone iodine (Batticon; Adeka, Samsun, Türkiye) ile temizlendi (Şekil 3).



Şekil 3. Cerrahi Uygulanacak Bölgenin Hazırlanması

Cerrahi alan temizliği sonrası 1 mm çapındaki Kirschner çivisi cilt ve patellar ligament geçilerek sağ tibianın meduller kavitesine yerleştirildi ve tibia distaline doğru ilerletildi. Sonra 1 cm'lik longitudinal cilt insizyonu yapılarak direkt olarak tibia cisminde ulaşıldı, hafif eğri bir ekartörle çevre kas dokular ekarte edildi. Ardından ince bir drille tibia shaftının orta bölümüne 3 adet delik açıldı. Kirschner çivisi tibianın içerisinde dururken el ile nazik bir manüplasyon yapılarak tibia kırıldı (52) (Şekil 4a,b). Daha sonra cilt 4.0 ipek ile kapatıldı.

Operasyon sonrası sıçanlar normal beslenme ve yaşama şartlarına (her kafeste bir tane olacak şekilde) bırakıldı. Anestezinin etkisi ortadan kalktıktan sonra; sıçanların kırık ayağına yük vermesinde herhangi bir kısıtlamaya gidilmedi. Sıçanlara, cerrahi işlem öncesi veya sonra herhangi bir antibiyotik tedavisi uygulanmadı.



Şekil 4a. Tibiannın Meduller Kavitesi İçine Yerleştirilmiş Kirschner Çivisi



Şekil 4b. Oluşturulan Tibia Kırığının Makroskopik Görünümü

Çözelti olarak %0,5 'lik hidroksietilselüloz (Natrosol) çözeltisi hazırlandı (53). Her bir uygulama dozunda verilecek çözelti miktarı 1 cc olacak şekilde ilaç konsantrasyonları ayarlandı.

İlk dört grup çalışma grubu olarak belirlendi. Bu gruplara dabigatran etexilatın Natrosol içindeki çözeltisi iki farklı dozda 14 ve 28 gün olacak şekilde oral gavaj ile günde bir kez uygulandı (Şekil 5). Sham grubu olan 5. ve 6. gruba ise sadece çözücü, günde bir kez, 1 cc olacak şekilde 14 ve 28 gün boyunca uygulandı (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışma Gruplarının Uygulama Süreleri ve Dozları

Grup	Doz	Gün
1.Grup	10 mg/kg	14
2.Grup	10 mg/kg	28
3.Grup	50 mg/kg	14
4.Grup	50 mg/kg	28
5.Grup	Sham	14
6.Grup	Sham	28



Şekil 5. Oral Gavaj Uygulaması

1., 3. ve 5. gruptaki hayvanlar 14. günde; 2., 4. ve 6. gruptaki hayvanlar 28. günde anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Sıçanların sağ bacakları diz eklemi proksimalinden ampute edildi. Röntgen grafileri çekildikten sonra yumuşak dokuları diseke edilip alınan örnekler histolojik değerlendirmeye hazırlık amacıyla % 10'luk formaldehitin içine koyuldu.

3.2. Histolojik Takip, Boyama ve Değerlendirme

Alınan örnekler kalan yumuşak dokularından temizlendi ve kemikler kırık hattı görünecek şekilde her iki uçtan kısaltılarak, ayrı ayrı %10'luk nötral formaldehid solüsyonu içeren numaralandırılmış kaplara konuldu. 30 dakika sonra kanlanan solüsyon değiştirildi ve dokular 48 saat süreyle fikse edildi (54).

Fiksasyonu tamamlanan dokuların dekalsifikasyonu için %10'luk formik asit solüsyonu kullanıldı. Dekalsifikasyon işlemi süresince solüsyon iki günde bir yeniden hazırlanarak değiştirildi (55). Yirmi gün oda sıcaklığında bu şekilde dekalsifiye edilen dokular dört saat boyunca yıkandı. Ardından dehidratasyon sağlamak için dokular alkol serilerinden geçirildi. Ksilen ile şeffaflaştırıldıktan sonra da parafine gömüldü (56).

Hazırlanan parafin bloklar mikrotom (Leica RM2255, Japan) ile 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesilerek numaralanmış lamalar üzerine alındı.

Lam üzerine alınan kesitler zembil içine yerleştirildi ve etüvde 50°C'de 30 dakika bekletildikten sonra ksilen ve alkol serileri ile parafini giderilerek hidrate edildi. Bu şekilde hazırlanan kesitler hematoxilen ve eozin (H&E) boyama protokolü ile boyandıktan sonra; alkol serileri ve ksilen uygulanarak dehidrate edilen preparatlar entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar dijital kamera (Olympus DP71-Japan) takılı ışık mikroskobu (Olympus BX51-Japan) ile değerlendirilerek dijital ortama aktarıldı (DP controller 3.3. 1292 Version Olympus Corporation-Japan).

Preparatların histolojik değerlendirilmesinde Huo ve arkadaşlarının histolojik puanlama sistemi kullanıldı (Tablo 3) (57).

Tablo 3. Huo Histolojik Puanlama Sistemi (57).

Kırık bölgesi bulguları	Puan
Fibröz doku	1
Ağırlıklı fibröz doku ve az miktarda kıkırdak	2
Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak	3
Ağırlıklı kıkırdak ve az miktarda fibröz doku	4
Kıkırdak doku	5
Ağırlıklı kıkırdak doku ve az miktarda olgunlaşmamış kemik doku	6
Eşit miktarda kıkırdak ve olgunlaşmamış kemik doku	7
Ağırlıklı olgunlaşmamış kemik ve az miktarda kıkırdak doku	8
Kırıgın olgunlaşmamış kemikle kaynaması	9
Kırık uçlarının olgun kemikle kaynaması	10

3.3. Radyolojik Değerlendirme

Çekilen radyografiler, Lane-Sandhu puanlama sistemi kullanılarak değerlendirildi (58). Bu sisteme göre kemik oluşumu kriterleri esas olarak alındı (Tablo 4).

Tablo 4. Lane-Sandhu Puanlama Sistemi (58).

Kemik Oluşumu	Puan
Kemik oluşumunun olmaması	0
Kemik oluşumunun defektin %25'ni doldurması	1
Kemik oluşumunun defektin %50'sini doldurması	2
Kemik oluşumunun defektin %75'ni doldurması	3
Kemik oluşumunun defektin tamamını doldurması	4
Bariz kırık görülmesi	0
Kısmi kırık hattı görülmesi	2
Kırık hattının görülmemesi	4
Yeniden şekillenmenin görülmemesi	0
Medüller kanalın yeniden şekillenmesi	2
Korteksin tamamen yeniden şekillenmesi	4

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 13.0 programı kullanıldı. Grupların ölçümsel verilerinin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi (post hoc olarak Mann Whitney U

testi) kullanıldı. Ölçümle elde edilen veriler median (min-max) olarak gösterildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı; çoklu karşılaştırmalarda (post hoc) ise anlamlılık düzeyi $p < 0.05 / \text{karşılaştırma sayısı}$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Bütün deney protokolü boyunca yapılan klinik gözlemler sonucunda; anestezi ve oral yolla ilaç verilmesine ait herhangi bir komplikasyon gözlenmedi. Postoperatif 4-5 gün kadar hayvanlarda topallama gözlemlendi. Bu dönem sonrasında sıçanlar sağ alt ekstremitelerini normal bir şekilde kullanmaya başladılar. Cerrahi bölgede enfeksiyon bulgusuna rastlanmadı. Çalışma boyunca hiçbir sıçan ölmedi.

4.2. Radyolojik Bulgular

Çekilen radyografiler deneyimli bir ortopedist tarafından Lane-Sandhu radyolojik değerlendirme sistemindeki kemik oluşumu kriterlerine dayanılarak puanlandı (Tablo 5). Elde edilen verilerin medianları Tablo 6’da görülmektedir.

Tablo 5. Lane-Sandhu Puanlama Sistemine Göre Kemik Oluşumu

Sıçan	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	5. Grup	6. Grup
1	2	2	2	3	2	3
2	2	3	2	2	2	3
3	2	3	1	2	2	3
4	1	2	2	3	1	2
5	2	2	2	3	2	2
6	1	3	1	3	2	2

Tablo 6. Lane-Sandhu Puanlama Sistemine Göre Elde Edilen Veriler

	14 gün Median (min-max)	28 gün Median (min-max)
Sham Grubu	2,0 (1-2)	2,5 (2-3)
10 mg/kg grubu	2,0 (1-2)	2,5 (2-3)
50 mg/kg grubu	2,0 (1-2)	3,0 (2-3)

Radyografilere elde edilen veriler Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde 14 ve 28. günlerde gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p=0,770$, $p=0,809$).

Grupların zaman içerisindeki gelişmelerini değerlendirebilmek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. 10 mg/kg grubunun 14 ve 28. günleri arasında istatistiksel fark vardı ($p=0,030$). Benzer şekilde 50 mg/kg grubunun ve Sham grubunda 14 ve 28. Günleri arasında istatistiksel fark vardı ($p=0,014$, $p=0,043$).

Deney ve Sham gruplarına ait ratlardan grupların ortalama değerlerine uyan örnek radyografler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir:

**Şekil 6. 1. Gruba (10mg/kg, 14 gün) Ait Radyograflerden Örnek**



Şekil 7. 2. Gruba (10 mg/kg, 28 gün) Ait Radyografilerden Örnek



Şekil 8. 3. Gruba (50 mg/kg, 14 gün) Ait Radyografilerden Örnek



Şekil 9. 4. Gruba (50 mg/kg, 28 gün) Ait Radyografilerden Örnek



Şekil 10. 5. Gruba (Sham, 14 gün) Ait Radyografilerden Örnek



Şekil 11. 6. Gruba (Sham, 28 gün) Ait Radyografilerden Örnek

4.3. Histolojik Bulgular

Preperatlar deneyimli bir histolog tarafından değerlendirildi. Preperatların değerlendirilmesinde Huo ve arkadaşlarının histolojik puanlama sistemi kullanıldı. Elde edilen histolojik değerlendirme sonuçları ve medianları Tablo 7 ve 8’de görülmektedir.

Tablo 7. Sıçanların Sağ Tibialarının Huo ve Arkadaşlarının Histolojik Sınıflama Sistemine Göre Puanlaması

Sıçan	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	5. Grup	6. Grup
1	3	8	2	7	3	8
2	2	7	2	6	4	7
3	3	8	4	7	5	8
4	3	7	4	8	3	8
5	4	7	3	7	3	7
6	4	8	3	6	4	8

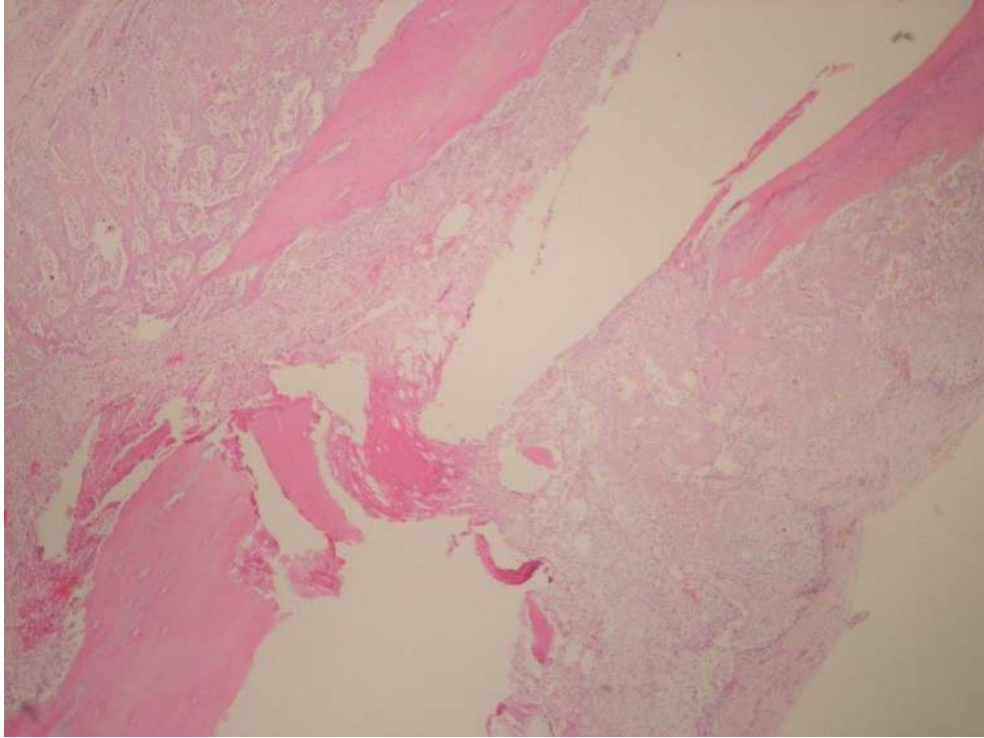
Tablo 8. Huo Sınıflamasına Göre Histolojik Değerlendirme Verileri

	14 gün Median (min-max)	28 gün Median (min-max)
Sham Grubu	3,5 (3-5)	8,0 (7-8)
10 mg/kg grubu	3,0 (2-4)	7,5 (7-8)
50 mg/kg grubu	3,0 (2-4)	7,0 (6-8)

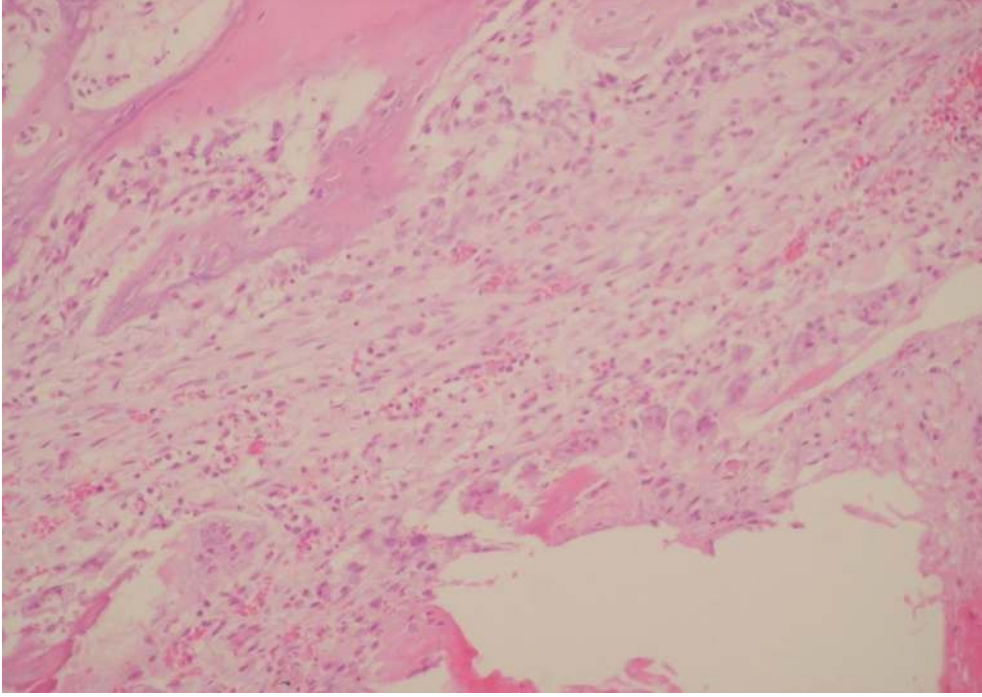
Histolojik veriler Kruskal Wallis testi ile incelendiğinde gruplar arasında 14. ve 28. günlerde istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ($p=0,434$, $p=0,116$).

Mann-Whitney U testi ile 10 mg/kg grubu ve 50 mg/kg grupları kendi içlerinde 14. ve 28. günde değerlendirildiğinde istatistiksel olarak farklılık vardı ($p=0,003$, $p=0,003$). Sham grubu da kendi içinde değerlendirildiğinde 14. ve 28. günde istatistiksel olarak farklılık mevcuttu ($p=0,003$).

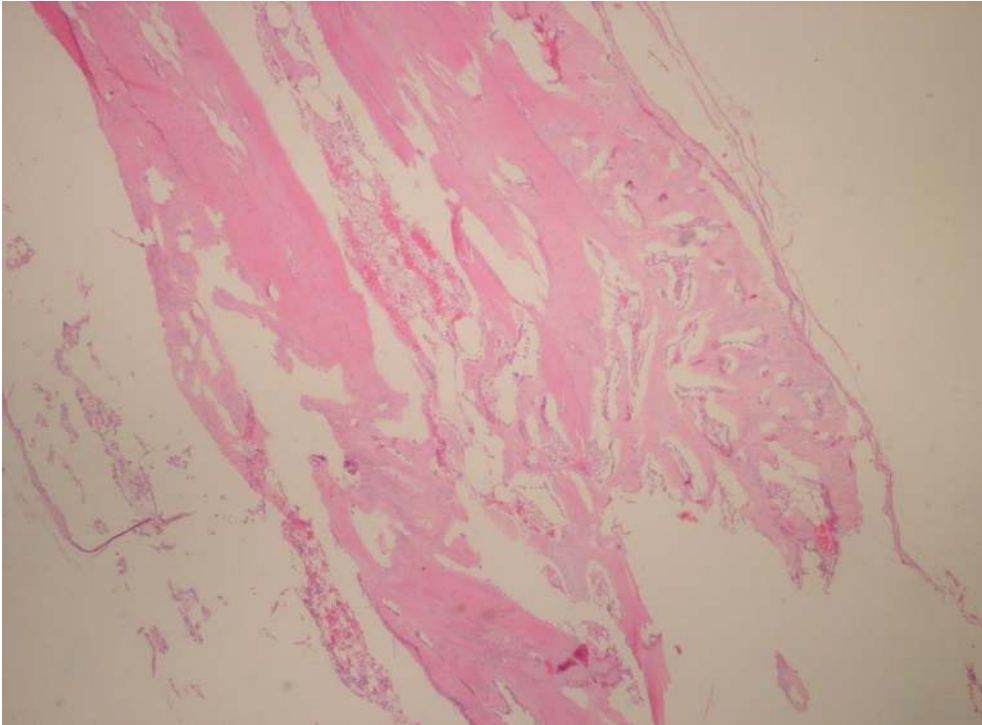
Histolojik olarak değerlendirilen preperatlardan bazıları aşağıda gösterilmiştir:



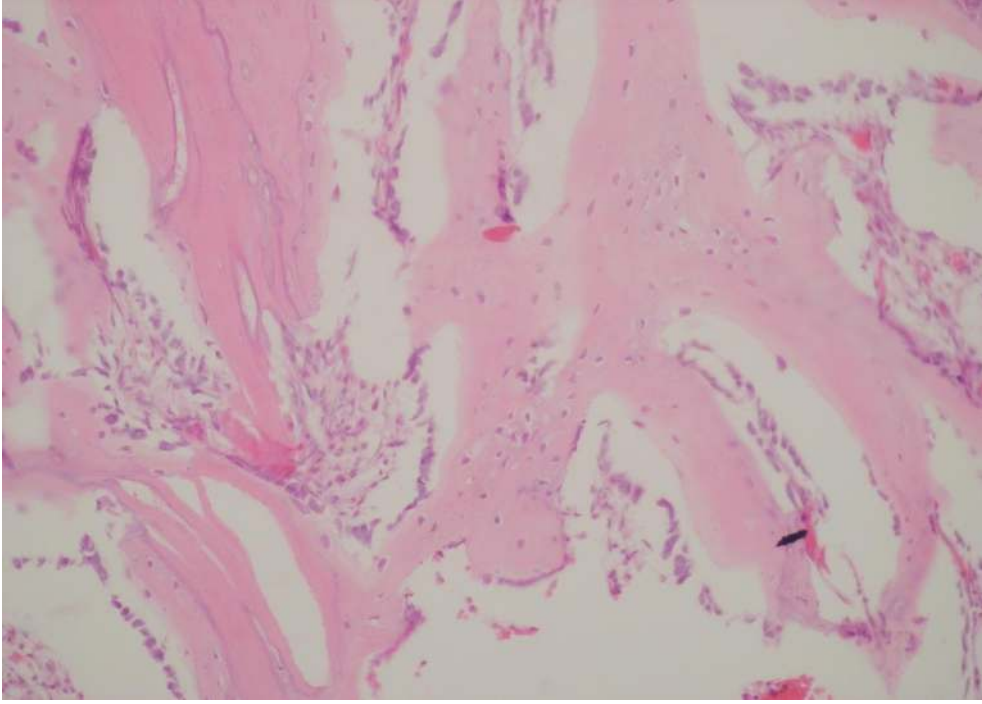
Şekil 12. 1. Grup. Mikrofotografi x50. H&E: Kırık Bölgesinde Eşit Miktarda Fibröz Doku ve Kırıkdak Görülmektedir



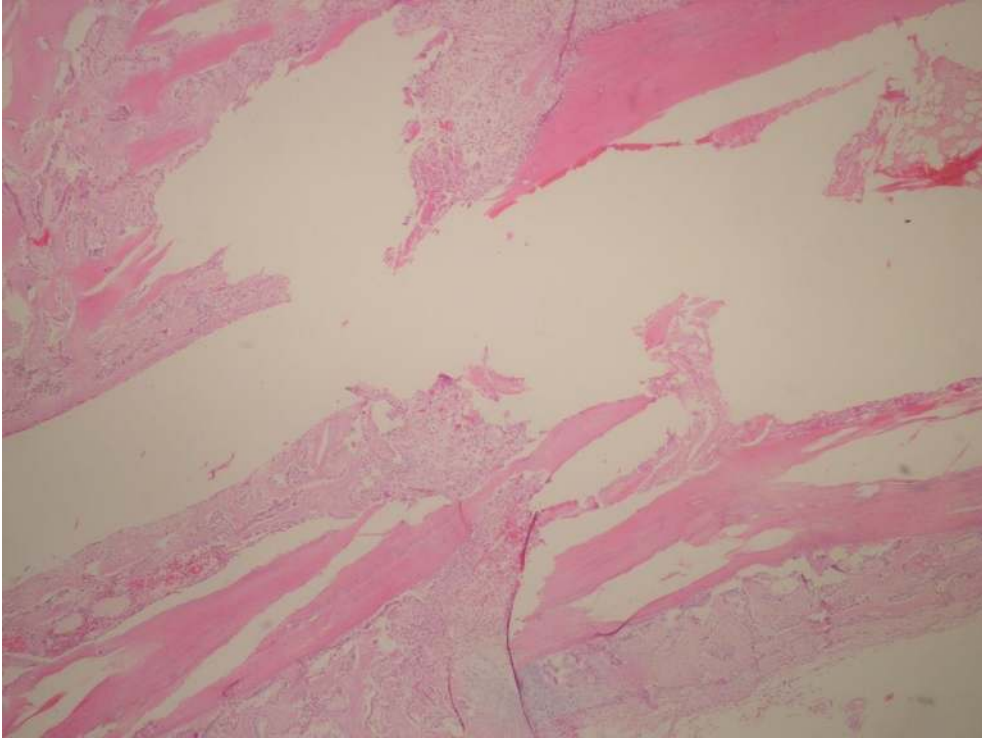
Şekil 13. 1. Grup. Mikrofotografi x200. H&E: Kırık Bölgesinde Kıkırdak Doku ve Aralarda Uzanan Fibröz Doku Alanları Gözlenmektedir



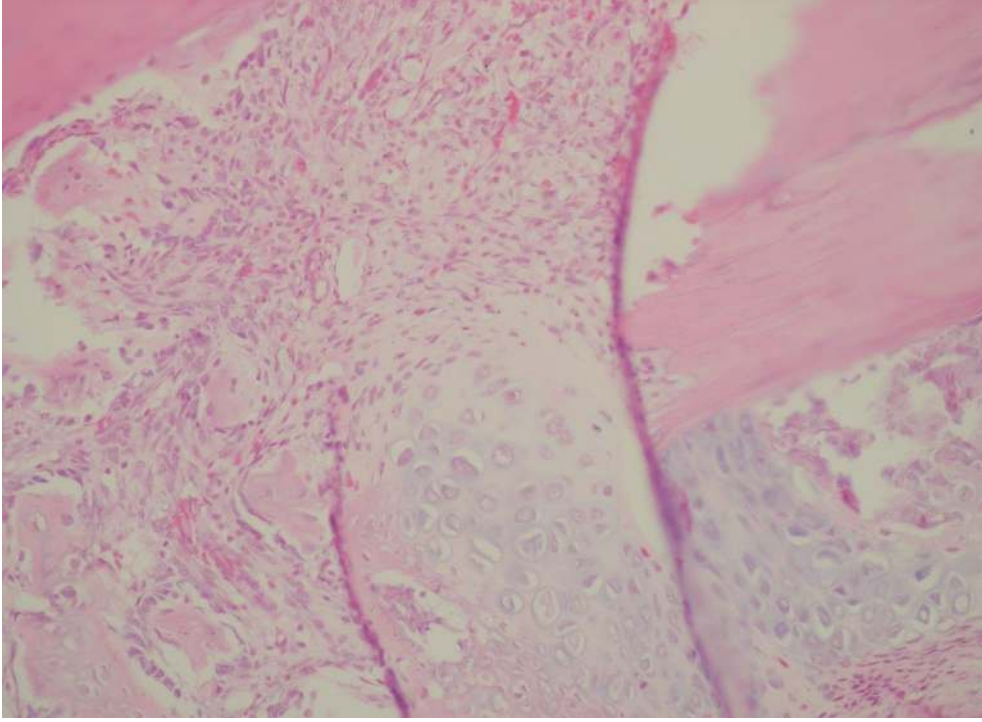
Şekil 14. 2. Grup. Mikrofotografi x50. H&E: Kırık Bölgesinde Eşit Miktarda Kıkırdak ve Olgunlaşmamış Kemik Dokusu Görünmektedir



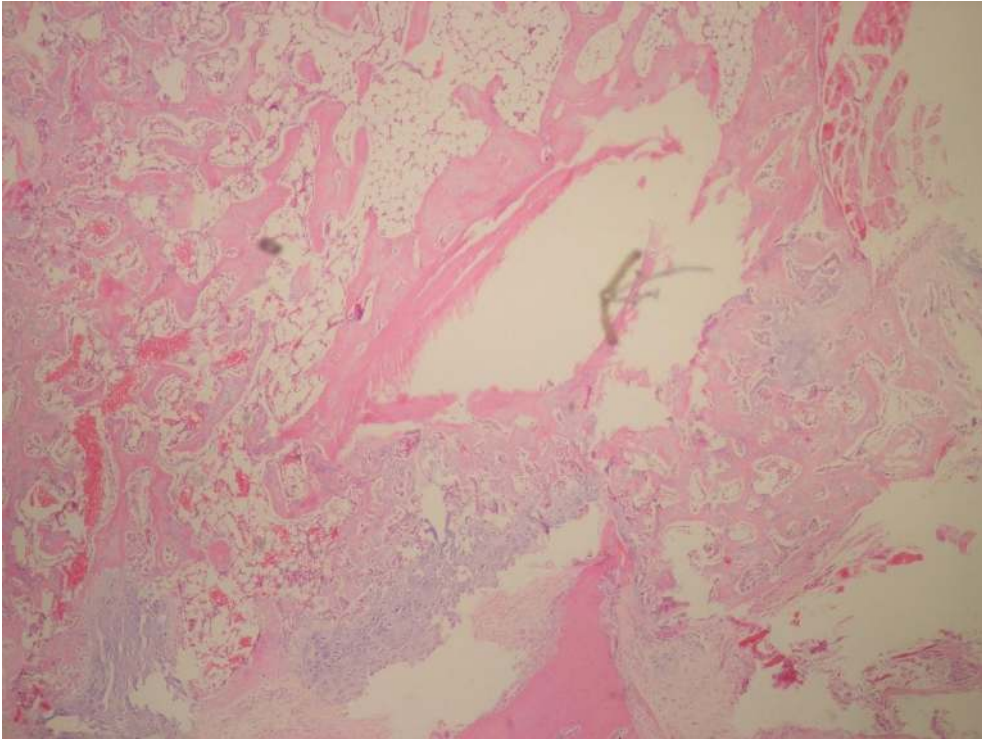
Şekil 15. 2. Grup. Mikrofotografi x200. H&E: Kırık Bölgesinde Olgunlaşmamış Kemik Dokusu Seçilmektedir; Kıkırdak Doku da Mevcut Olup Miktar Olarak Eşit Görünmektedir.



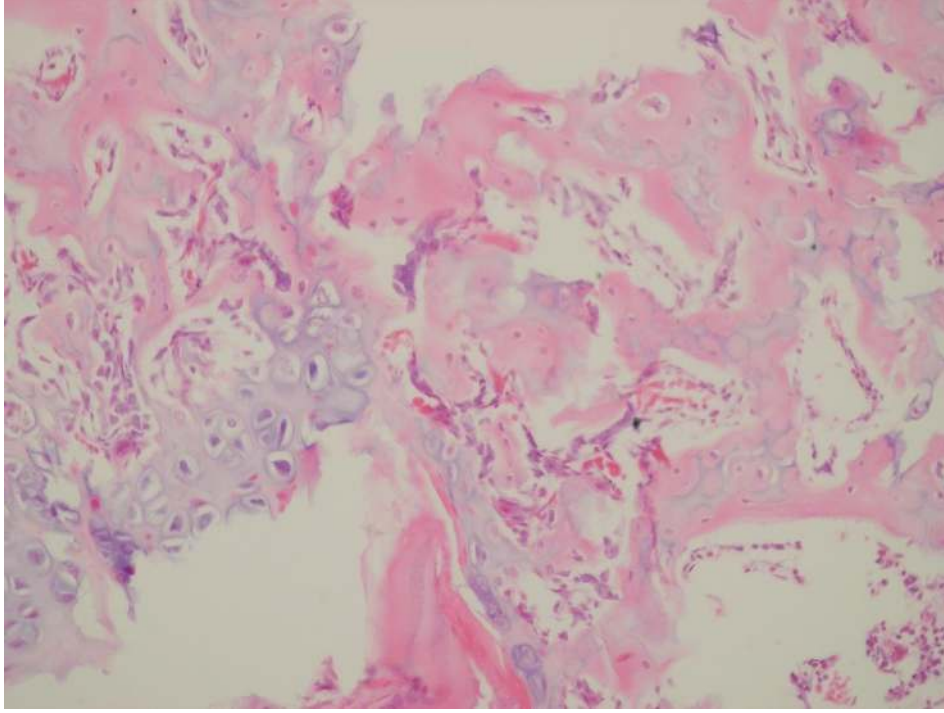
Şekil 16. 3. Grup. Mikrofotografi x50. H&E: Kırık Fragmanları Arasında Eşit Miktarda Kıkırdak ve Fibröz Doku Olduğu Görülmektedir



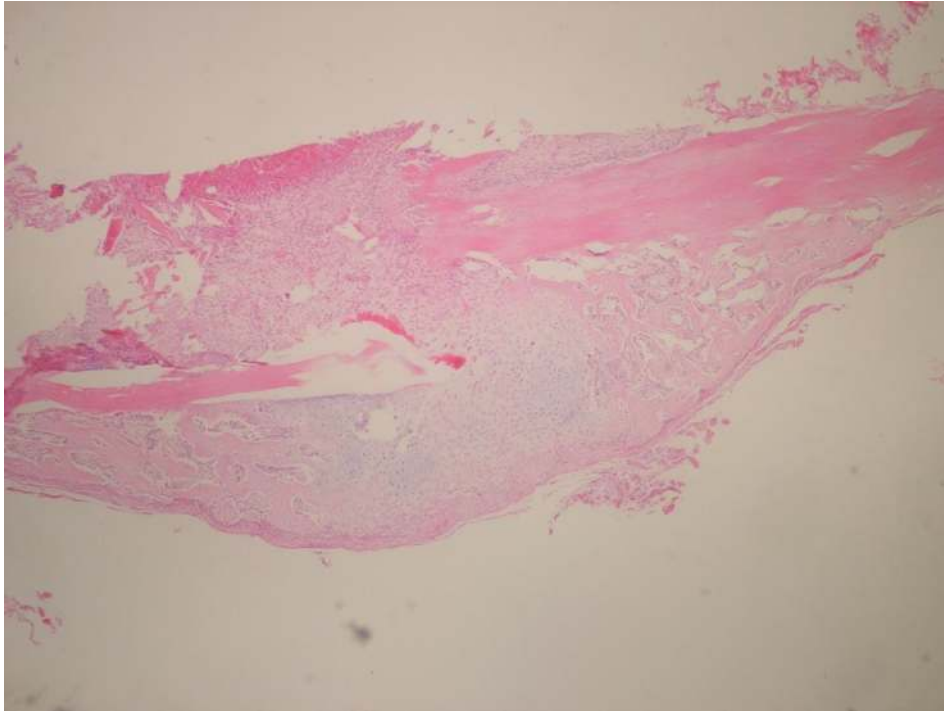
Şekil 17. 3. Grup. Mikrofotografi x200. H&E: Kırık Bölgesinde Eşit Dağılımlı Olarak Fibröz Doku Alanlarının Yanında Yer Alan Kıkırdak Doku Görülmektedir



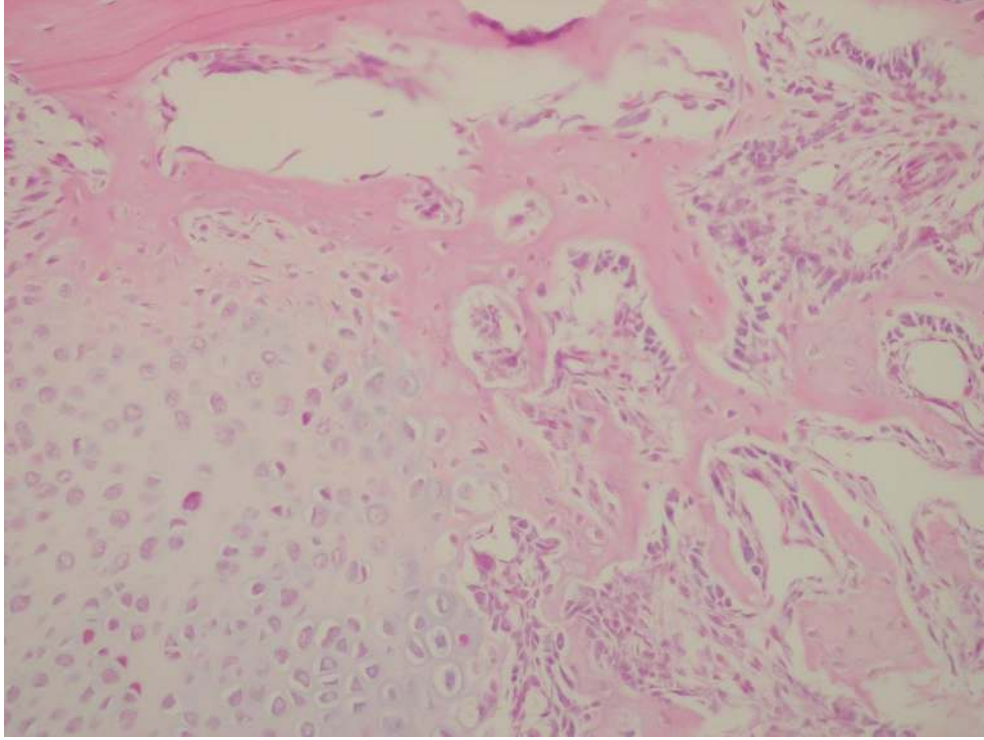
Şekil 18. 4. Grup. Mikrofotografi x50. H&E: Genel Olarak Kırık Hattında Eşit Miktarda Kıkırdak ve Olgunlaşmamış Kemik Dokusu Görülmektedir



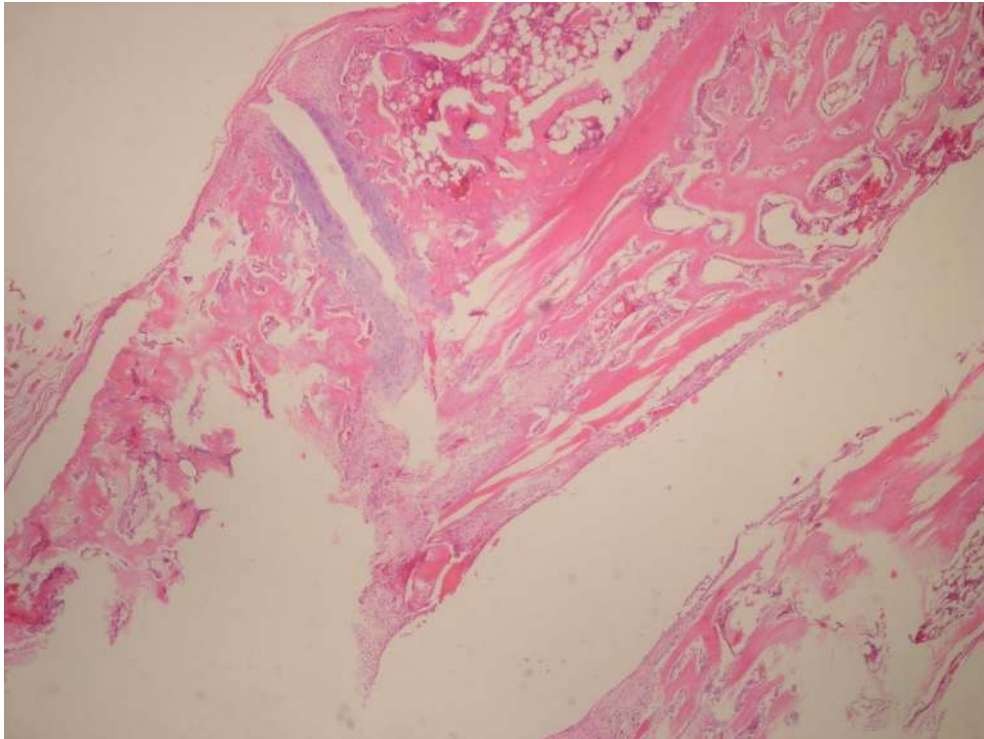
Şekil 19. 4. Grup. Mikrofotografi x200. H&E: Açık Kırmızı Renkte Boyanan Olgunlaşmamış Kemik Dokusu Kırık Hattında Gözlenmektedir; Yer Yer Kıkırdak Doku Görülmeye Devam Etmekte Olup Miktar Olarak Kemik Dokusuyla Eşittir



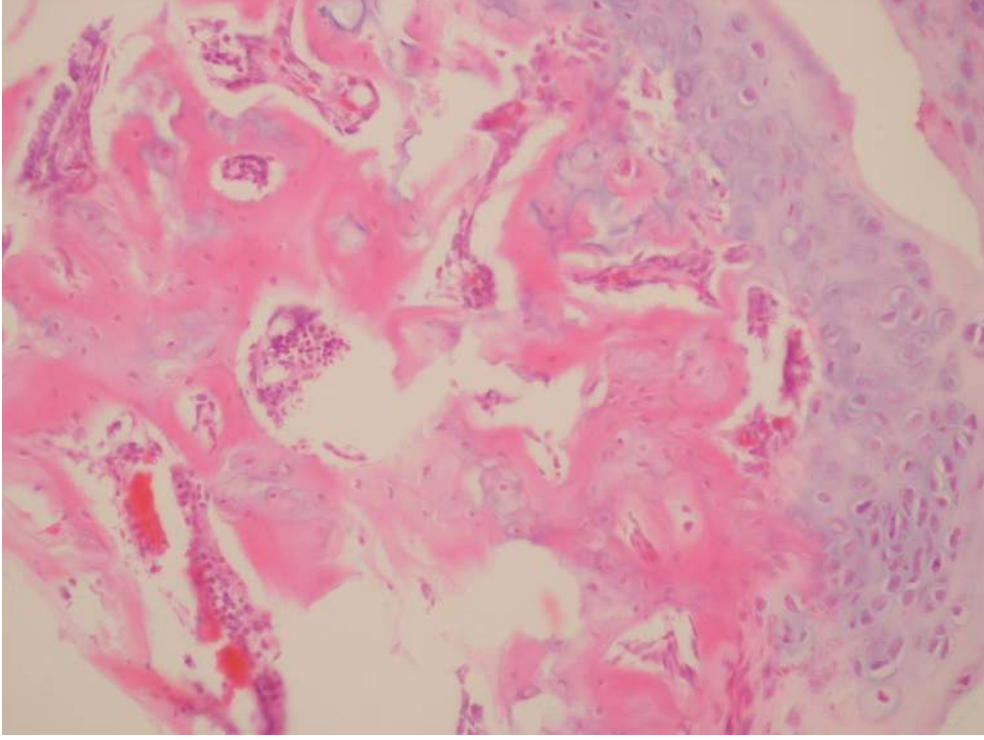
Şekil 20. 5. Grup. Mikrofotografi x50. H&E: Kırık Bölgesinde Eşit Miktarda Fibröz Doku ve Kıkırdak Görülmektedir



Şekil 21. 5. Grup. Mikrofotografi x200. H&E: Kırık Bölgesinde Fibröz Doku Alanının Yanında Yer Alan Kıkırdak Doku Gözlenmektedir



Şekil 22. 6. Grup. Mikrofotografi x50. H&E: Olgunlaşmamış Kemik Dokusu ve Kıkırdak Doku Kırık Bölgesinde Eşit Olarak Görülmektedir



Şekil 23. 6. Grup. Mikrofotografî x200. H&E: Bu Büyütmede Kıkırdak Dokusunun Yanında Eşit Miktarda Bulunan ve Açık Kırmızı Renkte Boyanan Olgunlaşmamış Kemik Dokusu Gözlenmektedir

5. TARTIŞMA

Güncel tromboemboli profilaksisinde kullanılan farmakolojik ajanların bazı yan etkilerinin bulunması ve kullanımlarındaki güçlük özellikle oral olarak kullanılabilen direkt trombin inhibitörleri gibi yeni ilaçların geliştirilmesine yol açmıştır. Bu yeni geliştirilen direkt trombin inhibitörlerinden olan dabigatran etexilat, oral olarak kullanılması, moniterizasyon gerektirmemesi, ilaç-yiyecek etkileşimine girmemesi ve düşük yan etki göstermesi gibi avantajlarıyla ön plana çıkmaktadır. Günümüzde bir çok ülkede major ortopedik cerrahi sonrası tromboemboli profilaksisinde kullanılmak üzere onay görmüştür (5,6,59). Çalışmamızda, gelecekte rutin tromboemboli profilaksisinde ülkemizde de sıkça kullanılacağını düşündüğümüz dabigatran etexilatın kırık iyileşmesi üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

Antikoagülan ilaçlar ile kırık iyileşmesi arasındaki ilişkinin hangi mekanizmalar üzerinden yürüdüğü tam olarak anlaşılamamıştır. Sıkça kullanılan heparinin çeşitli dokularda kanama ve nadiren de olsa trombositopeni gibi yan etkileri mevcuttur (60). Bu yan etkilerinin yanı sıra heparinin uzun dönem kullanımının osteoporoza yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur (60,61). Heparin bu etkisini hem kemik formasyonunu azaltarak hem de kemik rezorpsiyonunu arttırarak gösterir. Heparine alternatif olarak geliştirilen, yan etkileri daha az olan ve günümüzde rutin tromboproflakside sıkça kullanılan düşük molekül ağırlıklı heparinlerin (DMAH) sadece kemik formasyonunu etkileyerek daha az kemik kaybına yol açtığı ve böylece osteoporotik etkisinin anfraksiyone heparine göre daha az olduğu görülmektedir (60,62).

Heparinin kemik metabolizması üzerine etkisini araştıran Thompson'un yaptığı bir çalışmada; 8 hafta boyunca heparin uygulanan ratların humeruslarının mekanik gücünde %8 kayıp, kortekslerinde %12,5 incelme ve kemik kollajen sentezinde kontrol grubuna göre %20'lik bir azalma saptanmıştır (63).

Başka bir hayvan çalışmasında ise Muir ve arkadaşları ratlara 32 gün boyunca klinik dozda heparin uygulamıştır. Kemiğin histomorfometrik incelemesinde kansellöz kemik hacminde doza ve zamana bağımlı bir azalma tespit edilmiş, hacimde azalmanın hem kemik formasyonunda azalmaya hem de rezorpsiyonunda artmaya bağlı geliştiği görülmüştür. Yine bu çalışmada, 1u/g/gün dozundaki heparin osteoblastlarda %37 azalmaya, osteoklastlarda ise %43 artışa neden olmuştur. Çalışmacılar ayrıca serum alkalin fosfataz düzeylerindeki azalmaya ek olarak kemik yıkımının bir göstergesi olan üriner pridinolin artışını göstermişlerdir (64).

Antikoagülan ajanların kırık iyileşmesi üzerine etkisini araştıran Stinchfield ve arkadaşları, tavşan ve köpeklerde heparin ve warfarinin etkilerini incelemişler ve her iki maddenin de kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkilediğini göstermişlerdir (65).

Heparinin bu etkilerinin geri dönüşümlü olup olmadığını araştıran bir çalışmada Shaughnessy ve arkadaşları ratlara 1u/g/gün dozunda heparini 28 gün boyunca uygulamış ve 28. günün sonunda hayvanların yarısını kurban etmişlerdir. Geri kalanları ek bir 28 gün hiçbir tedavi vermeden beklettikten sonra kurban edip heparinin osteoporotik etkisinin geri dönüşümlü olup olmadığını incelemişlerdir. İlk gruptaki hayvanların histomorfolojik incelemesinde kansellöz kemikteki %30 kaybın yanı sıra osteoblast düzeyinde %60 azalma ve osteoklast düzeyinde %137 artış saptamışlardır. Ek tedavi verilmeden bekletilen diğer grupta ise heparinin kemikte toplanmış olduğu, uzunca bir süre kemik dokuda kaldığı ve etkilerinin birinci ayın sonunda dahi geri dönmediği gösterilmiştir (66).

DMAH'ların kırık iyileşmesi üzerine etkisini araştıran çalışma sayısı ise literatürde kısıtlıdır ve mevcut çalışmalarda da çelişkili sonuçlar görülmektedir. Örneğin Street ve arkadaşlarının yaptığı hayvan çalışmasında tavşanlara kapalı kaburga kırığı modeli oluşturulup enoksaparin uygulanmıştır. Bu çalışmada kırık iyileşmesi histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak 3., 7. ve 14. günlerde incelenmiş, ilave olarak 21. günde mekanik test de uygulanmıştır. Enoksaparin uygulanan grupların tamamında histolojik olarak kırık iyileşmesinde gecikme ve mekanik olarak kontrol grubuna göre zayıflama olduğu gösterilmiştir (67). Bu çalışmanın aksine Hak ve arkadaşlarının çalışmasında ise stabilize edilmiş rat femur kırığı modelinde hayvanlara subkutan diltaparin uygulanmış; 2., 3. ve 6. haftanın sonundaki radyolojik, histolojik ve mekanik incelemelerde kırık iyileşmesi yönünden kontrol grubuyla anlamlı bir fark

bulunamamıştır (68). Bu çalışmayla benzer şekilde çalışmamızda da kırık iyileşmesinde herhangi bir olumsuz etki görülmemiştir. Street ve arkadaşlarının çalışmasında enoksaparin normal klinik dozunun (0,50 mg/kg) üzerinde 1mg/kg olacak şekilde uygulanmıştır. Bizim çalışmamızda da dabigatran etexilat günlük 220 mg'lık normal dozunun (70 kg'lık bir kişide yaklaşık 3,14 mg/kg) çok üzerinde dozlarda ratlara uygulanmasına rağmen herhangi bir olumsuz sonuçla karşılaşmadık.

Kock ve arkadaşları da anfraksiyone heparinle bir DMAH olan certoparinin kırık iyileşmesi üzerine etkilerini tavşan femur kondilinde defekt oluşturup incelemişler; anfraksiyone heparin uygulanan grupta defektin kontrol grubuna göre bariz olarak fazla olduğunu ancak bu farkın certoparin alan grupta olmadığını göstermişlerdir (69). Erli ve arkadaşları da benzer bir kırık modelinde deltaparin ve certoparinin etkilerini incelemişler ve bu iki ajanın da kırık iyileşmesi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını ve travma hastalarındaki rutin emboli profilaksisinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (70). Her ne kadar çalışmamızda dabigatran etexilat anfraksiyone heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparinlerle kıyaslanmasa da bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızı destekler görünmektedir.

Yapılan bazı in vitro çalışmalarda ise olumsuz sonuçlar rapor edilmektedir. Çeşitli DMAH'lerle yapılan bir in vitro çalışmada (certoparin, nadroparin, enoxaparin ve deltaparin) insan osteoblast kültürlerinde büyümenin farklı düzeylerde inhibe olduğu gösterilmiştir (71). Diğer bir çalışmada ise fetal rat kalvaria modelinde heparinin ve farklı tipteki DMAH'lerin kalsiyum salınımına olan etkisi araştırılmış; DMAH'lerin artmış kalsiyum salınımına yol açtığı ancak bunun anfraksiyone heparindeki kadar yüksek olmadığı gösterilmiştir (72).

Sentetik bir pentasakkarit olan fondaparinuxun kemik üzerine etkileri de yakın zamanda sıkça araştırılmıştır. Bu çalışmalardan birinde fondaparinuxla diğer DMAH'lerin ve anfraksiyone heparinin insan osteoblastları üzerindeki etkisi kıyaslanmış; fondaparinuxa maruz kalan osteoblast kültürlerindeki mitokondriyal aktivitenin ve protein sentezinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu; diğer gruplarda matriks kollajen II miktarında ve kalsifikasyonunda bariz olarak azalma olduğu gösterilmiştir (73). Benzer bir çalışmada da deltaparin ile fondaparinuxun in vitro olarak insan osteoblastlarındaki etkisi kıyaslanmış; deltaparin uygulanan grupta bariz olarak, doza bağımlı şekilde proliferasyonda inhibisyon,

protein sentezinde azalma saptanırken fondaparinux uygulanan grupta ise bu etkiler görülmemiştir (74).

Genel olarak kırık hematoma'nın kırık iyileşmesinde önemli rolü olduğu kabul edilmektedir. Bu konuyla ilişkili olarak Muzino ve arkadaşları ratlarda yaptıkları deneysel çalışmalarının sonucunda kırık hematoma'nın doğal osteojenik potansiyelinin olduğunu rapor etmişlerdir (75). Yapılan birkaç çalışma da kırık hematoma'nın özellikle kırık oluşumundan birkaç gün sonra uzaklaştırılmasının kırık iyileşmesini olumsuz etkilediğini göstermektedir (76,77).

Street ve arkadaşları ise kırık hematoma'da yüksek düzeyde vasküler endotelial büyüme faktörü olduğunu; ancak bu hematoma in vitro olarak hücre ekimi yaptıklarında hematoma'daki potasyum konsantrasyonunun endotelial hücreler ve osteoblastlar üzerine sitotoksik etkisinin olduğunu, revaskülarizasyonun hematoma organizasyonu ve rezorpsiyonunu takiben gerçekleştiğini belirtmişlerdir (78). Brighton ve Hunt da erken dönemde kırık hematoma'na yakın bölgedeki hücreden zengin alanda damarsal yapılanmanın olmadığını ve çoğu hemopoetik hücrenin piknotik durumda olduğunu bildirmişlerdir (79). Kırık hematoma'nın uzaklaştırılmasının kırık kaynamasındaki olumsuz etkilerinin yanı sıra yapılan bu çalışmalar oluşan bu hematoma'nın fazla olmasının kırık üzerine olumsuz bir etki yapıp yapmayacağı sorusunu akla getirmektedir. Kullanılan antikoagülan ajanların kırık bölgesine kanama miktarını arttırıcı etkisi olabilir (80). Ortopedik cerrahide oldukça sık olarak kullanılan antikoagülanlar ile kırık hematoma arasındaki ilişkiyi içeren çalışmalar sayıca az olmakla beraber, bu etkilerin belirlenmesi için hematoma'nın hacimsel olarak ölçümünün kaynama ile kıyaslandığı kontrollü çalışmalar yapmak gerekliliği kanaatindeyiz. Çalışmamızın zayıf yönlerinden birisi kırık hematoma ile olan ilişkiyi kapsamamasıdır.

Ortopedik cerrahide tromboemboli profilaksisi ilaçlarının çok yaygın şekilde kullanılmasına rağmen bu ilaçlar ile yapılan etkileşim çalışmalarının az sayıda olduğu dikkat çekmektedir. Çalışmamızda yakın zaman içerisinde tromboemboli profilaksisinde çok yaygın olarak kullanılacağını düşündüğümüz oral trombin inhibitörlerinden dabigatran etexilat açık tibia kırığı modelinde kullanılmıştır. Böylece kırık iyileşmesi ile olabilecek etkileşiminin araştırılması amaçlanmıştır.

Radyolojik ve histolojik olarak elde edilen veriler değerlendirildiğinde, gruplar arasında 14. ve 28. günlerde istatistiksel olarak farklılık saptanmadı. Dolayısıyla

düzenlediğimiz çalışmaya göre dabigatran etexilatın kırık iyileşmesi sürecinde olumlu ya da olumsuz bir etkisi yoktur.

Kırık iyileşmesinin her bir grupta zaman içerisinde olumlu yönde değişmesinin, kullanılan deneysel modelin iyi organize edilmiş olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bu çalışmanın eksik yönleri; farklı doz-süre uygulamalarını kapsamaması ve biyomekanik değerlendirmeyi içermemesidir.

Çalışmanın sonucunda dabigatran etexilatın kırık iyileşmesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını, bu yönüyle ortopedik cerrahi sonrasında rutin tromboproflakside kullanılabileceği kanaatine vardık.

6. SONUÇLAR

Dabigatran etexilatın ratlarda kırık iyileşmesi üzerine etkisini incelediğimiz deneysel çalışmanın sonucunda;

1. Radyolojik olarak değerlendirildiğinde 14. ve 28. günde çalışma grupları ile sham grupları arasında fark olmadığı; kırık iyileşmesinin normal seyrinde devam ettiği,
2. Histolojik olarak değerlendirildiğinde 14. ve 28. günde tüm gruplar arasında fark olmadığı ve radyolojik bulguları destekleyecek şekilde kırık iyileşmesinin normal seyrinde devam ettiği,
3. Bütün grupların zamanla olan değişimi göz önüne alındığında çalışmanın metodunun uygun olarak düzenlendiği,
4. Dabigatran etexilatın ortopedik cerrahi sonrasında sıkça görülen tromboembolik olayların önlenmesinde kırık iyileşmesini etkilemeden kullanılabileceği kanaatlerine varıldı.

7. ÖZET

DABİGATRAN ETEXİLATIN RATLARDA KIRIK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dabigatranın öncü ilacı olan dabigatran etexilate (Pradaxa, Boehringer Ingelheim), yeni geliştirilen, trombini yüksek afinitede ve spesifitede geri dönüşümlü olarak inhibe eden oral bir antikoagülandır. Mevcut kullanımda olan bazı antikoagülan ajanların aksine, sabit dozda uygulanması, yiyecek ve ilaç etkileşimine girmemesi, moniterizasyon gerektirmemesi avantajlarıdır. Gerek oral kullanımından kaynaklanan kullanım kolaylığı gerekse yan etki güvenilirliği nedeniyle giderek artan sıklıkta kullanılmaktadır.

Bu çalışmada dabigatran etexilatın kırık iyileşmesi üzerine etkisi, rat tibialarında kırık modeli oluşturularak radyolojik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışma için 36 adet, ortalama ağırlıkları 250 gr olan, 4-5 aylık Sprague Dawley cinsi, dişi sıçan kullanıldı. Rastgele seçilerek 6'şarlı 6 gruba ayrılan hayvanların sağ tibialarına kırık oluşturuldu ve internal tespit uygulandı. 1. ve 2. gruba dabigatran etexilate %0,5'lik hidroksietilselüloz içinde çözelti haline getirildikten sonra 10 mg/kg olacak şekilde oral gavaj ile sırasıyla 1.gruba 2 hafta ve 2. gruba 4 hafta boyunca günde tek doz olacak şekilde verildi. 3. ve 4. gruba ise benzer şekilde hazırlanan dabigatran etexilate 50 mg/kg olacak şekilde 3. gruba 2 hafta, 4. gruba 4 hafta verildi. 5. ve 6. gruplar ise sham grubu olarak belirlendi. 5. gruba 2 hafta, 6. gruba ise 4 hafta boyunca sadece %0,5'lik hidroksietilselüloz çözeltisi verildi. 1., 3. ve 5. gruplar 14. günde; 2., 4. ve 6. gruplar 28. günde sakrifiye edilerek tibiaları radyolojik ve histolojik olarak değerlendirildi.

Radyolojik ve histolojik değerlendirmede 14 ve 28. günlerde ilgili gruplarda farklılık olmadığı; kırık iyileşmesinin normal seyrinde devam ettiği gözlemlendi.

Sonuç olarak radyolojik ve histolojik değerlendirmelerin eşliğinde dabigatran etexilatın ratlarda kırık iyileşmesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı kanaatine varıldı.

8. SUMMARY

EFFECTS OF DABIGATRAN ETEXILATE ON FRACTURE HEALING IN RATS

Dabigatran etexilate, prodrug of dabigatran, is a new developed anticoagulant which inhibits reversibly thrombin with high affinity and specificity. Despite currently used anticoagulant agents, no monitoring requirement and administration in a fixed dose without drug-drug or food-drug interactions are its main advantages. With these advantages and low side effects its usage has been widened worldwide.

In this experimental study we perform a rat tibia fracture model and evaluate the effect of dabigatran etexilate on fracture healing by both radiological and histological. 36 female Sprague Dawley, mean 250 gr weighted female rats was used. Animals divided to 6 groups, each consisting 6 rats then performed right tibial fracture and internal fixation. Oral dabigatran etexilate for rats was a suspension in %0,5 hydroxyethylcellulose and administered to rats via oral gavage. 1st and 2nd groups had 10 mg/kg daily dose respectively for 2 and 4 weeks. As the same way prepared solution 3rd and 4th groups had 50 mg/kg daily dose for 2 and 4 weeks. 5th and 6th groups assigned as sham groups; only hydroxyethylcellulose solution was administered for 2 and 4 weeks. 1st, 3th and 5th groups sacrificed at 2 weeks; 2nd, 4th and 6th groups sacrificed at 4 weeks. Then their right tibias evaluated radiologically and histologically and the results compared.

After radiologic and histological evaluation there was no significant difference between drug groups and sham groups at 14 and 28 days and there was no impairment in fracture healing.

As a result, we established dabigatran etexilate has no effect on fracture healing in rats according to radiological and histological evaluations.

9. KAYNAKLAR

1. Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C: Rockwood and Green's Fractures in Adults. Sixth ed., Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2006, pp.297-330.
2. Weinstein SL and Buckwalter JA: Turek Ortopedi İlkeler ve Uygulamaları (Çev. Alpaslan AM). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009, s.57-71.
3. Matharu GS and Porter KM: Deep vein thrombosis in major trauma. Trauma. 12: 161-169, 2010.
4. Haas S: Oral direct thrombin inhibition: An effective and novel approach for venous thromboembolism. Drugs. 64(Suppl.1): 7-16, 2004.
5. Eikelboom JW and Weitz JI: New anticoagulants. Circulation. 121(13): 1523-1532, 2010.
6. Eriksson BI, Dahl OE, Rosencher N, Kurth AA, van Dijk CN, Frostick SP, Kålebo P, Christiansen AV, Hantel S, Hettiarachchi R, Schnee J and Büller HR: Oral dabigatran etexilate vs. subcutaneous enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: the RE-MODEL randomized trial. J Thromb Haemost. 5(11): 2178-2185, 2007.
7. Aspenberg P: Drugs and fracture repair. Acta Orthop Scand. 76(6): 741-748, 2005.
8. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR and Recker R: Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. J Bone Joint Surg Am. 77: 1256-1275, 1995.
9. Gartner LP and Hiatt JL: Color Textbook of Histology. Second ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2001, pp.134-154.
10. Junqueira LC and Carneiro J: Temel Histoloji (Çev. Aytekin Y ve Solakoğlu S). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006, s.141-159.
11. Kierszenbaum AL: Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Çev. Demir R). Palme yayıncılık, Ankara, 2006, s.118-145.

12. Väänänen HK, Zhao H, Mulari M and Halleen JM: The cell biology of osteoclast function. *J Cell Sci.* 113(3): 377-381, 2000.
13. Brinker MR, Lipton HL, Cook SD and Hyman AL: Pharmacological regulation of the circulation of bone. *J Bone Joint Surg Am.* 72(7): 964-975, 1990.
14. Kelly PJ: Anatomy, physiology, and pathology of the blood supply of bones. *J Bone Joint Surg Am.* 50(4): 766-783, 1968.
15. Trias A and Fery A: Cortical circulation of long bones. *J Bone Joint Surg Am.* 61(7): 1052-1059, 1979.
16. Whiteside LA and Lesker PA: The effects of extraperiosteal and subperiosteal dissection. I. On blood flow in muscle. *J Bone Joint Surg Am.* 60(1): 23-26, 1978.
17. Kılıçoğlu SS: Mikroskobi düzeyinde kırık iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.* 55(2): 143-150, 2002.
18. Alturfan A K ve Akalın Y: Ortopedik Travmatoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2002, s.10-14.
19. Phillips AM: Overview of the fracture healing cascade. *Injury.* 36(Suppl.3): 5-7, 2005.
20. Einhorn TA: The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Rel Res.* 355(Suppl.): 7-21, 1998.
21. Marsell R and Einhorn TA: The biology of fracture healing. *Injury.* 42(6): 551-555, 2011.
22. Miller MD: Miller'ın Ortopedi Kitabı (Çev. Yetkin H ve Yazıcı M). Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006, s.1-23.
23. Sarısözen B, Durak K, Dinçer G and Bilgen OF: The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. *J Int Med Res.* 30: 309-313, 2002.
24. Fu L, Tang T, Miao Y, Hao Y and Dai K: Effect of 1,25-dihydroxy vitamin D3 on fracture healing and bone remodeling in ovariectomized rat femora. *Bone.* 44: 893-898, 2009.
25. Ellegaard M, Jorgensen NR and Schwarz P: Parathyroid hormone and bone healing. *Calcif Tissue Int.* 87(1): 1-13, 2010.
26. Pountos I, Georgouli T, Blokhuis TJ, Pape HC and Giannoudis PV: Pharmacological agents and impairment of fracture healing: What is the evidence?. *Injury.* 39(4): 384-394, 2008.

27. Castillo RC, Bosse MJ, MacKenzie EJ, Patterson BM and LEAP Study Group: Impact of smoking on fracture healing and risk of complications in limb-threatening open tibia fractures. *J Orthop Trauma*. 19(3): 151-157, 2005.
28. Costa ER, Weinhold P, Tayrose GA, Hooker JA and Dahners LE: The effect of levodopa- carbidopa (sinemet) on fracture healing. *J Orthop Trauma*. 20(7): 470-475, 2006.
29. Claes L and Willie B: The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Prog Biophys Mol Biol*. 93: 384-398, 2007.
30. Walker NA, Denegar CR and Preische J: Low-intensity pulsed ultrasound and pulsed electromagnetic field in the treatment of tibial fractures: A systematic review. *J Athl Train*. 42(4): 530-535, 2007.
31. Aaron RK, Ciombor DM and Jolly G: Stimulation of experimental endochondral ossification by low-energy pulsing electromagnetic fields. *J Bone Miner Res*. 4(2): 227-233, 1989.
32. Stannard JP, Lopez-Ben RR, Volgas DA, Anderson ER, Busbee M, Karr DK, McGwin GR Jr and Alonso JE: Prophylaxis against deep-vein thrombosis following trauma: A prospective, randomized comparison of mechanical and pharmacologic prophylaxis. *J Bone Joint Surg Am*. 88(2): 261-266, 2006.
33. Geerts WH, Code KI, Jay RM, Chen E and Szalai JP: A prospective study of venous thromboembolism after major trauma. *N Engl J Med*. 331(24): 1601-1606, 1994.
34. Lieberman JR and Hsu WK: Prevention of venous thromboembolic disease after total hip and knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 87(9): 2097-2112, 2005.
35. Turpie AG, Chin BS and Lip GY: Venous thromboembolism: pathophysiology, clinical features, and prevention. *BMJ*. 325(7369): 887-890, 2002.
36. Kearon C, Julian JA, Newman TE and Ginsberg JS: Noninvasive diagnosis of deep venous thrombosis. *Ann Intern Med*. 128(8): 663-677, 1998.
37. Haas SB, Barrack RL and Westrich G: Venous thromboembolic disease after total hip and knee arthroplasty. *Instr Course Lect*. 58: 781-793, 2009.
38. Turpie AG: Thromboprophylaxis after major orthopaedic surgery: State of the art. *European Instructional Course Lectures 9*, G. Bentley (Ed.), Springer, 2009, pp. 29-38.
39. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, Jacobson A, Crowther M and Palareti G; American College of Chest Physicians: Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*. 133(Suppl.6): 160-198, 2008.

40. Haines ST: Update on the prevention of venous thromboembolism. *Am J Health Syst Pharm.* 61(Suppl.7): 5-11, 2004.
41. Hirsh J and Raschke R: Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest.* 126(Suppl.3): 188-203, 2004.
42. Reynolds NA, Perry CM and Scott LJ: Fondaparinux sodium; a review of its use in the prevention of venous thromboembolism following major orthopaedic surgery. *Drugs.* 64(14): 1575-1596, 2004.
43. Glynn RJ, Ridker PM, Goldhaber SZ and Buring JE: Effect of low-dose aspirin on the occurrence of venous thromboembolism: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 147(8): 525-533, 2007.
44. Hovens MM, Snoep JD, Tamsma JT and Huisman MV: Aspirin in the prevention and treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost.* 4(7): 1470-1475, 2006.
45. Blanchard J, Meuwly JY, Leyvraz PF, Miron MJ, Bounameaux H, Hoffmeyer P, Didier D and Schneider PA: Prevention of deep-vein thrombosis after total knee replacement. Randomised comparison between a low-molecular-weight heparin (nadroparin) and mechanical prophylaxis with a foot-pump system. *J Bone Joint Surg Br.* 81(4): 654-659, 1999.
46. Stangier J and Clemens A: Pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of dabigatran etexilate, an oral direct thrombin inhibitor. *Clin Appl Thromb Hemost.* 15(Suppl.1): 9-16, 2009.
47. Stangier J: Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate. *Clin Pharmacokinet.* 47(5): 285-295, 2008.
48. Eisert WG, Huel N, Stangier J, Wienen W, Clemens A and van Ryn J: Dabigatran: An oral novel potent reversible nonpeptide inhibitor of thrombin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 30(10): 1885-1889, 2010.
49. Eriksson BI, Quinlan DJ and Weitz JI: Comparative pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral direct thrombin and factor Xa inhibitors in development. *Clin Pharmacokinet.* 48(1): 1-22, 2009.
50. van Ryn J, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld KH, Wienen W, Feuring M and Clemens A: Dabigatran etexilate - a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: Interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost.* 103(6): 1116-1127, 2010.
51. Eikelboom JW and Weitz JI: New oral anticoagulants for thromboprophylaxis in patients having hip or knee arthroplasty. *BMJ.* 342: 224-227, 2011.

52. Luger EJ, Rochkind S, Wollman Y, Kogan G and Dekel S: Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med.* 22:97-102, 1998.
53. Wienen W, Stassen JM, Priepke H, Ries UJ and Haeucl N: In-vitro profile and ex-vivo anticoagulant activity of the direct thrombin inhibitor dabigatran and its orally active prodrug, dabigatran etexilate. *Thromb Haemost.* 98(1): 155-162, 2007.
54. Bancroft JD and Cook HC: *Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application.* Churchill Livingstone Medical Division of Langman Group UK Limited, London, England, 1994, pp. 373-413.
55. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR: *Theory and Practice of Histological Techniques.* Churchill Livingstone Medical Division of Pearson Profesional Limited, New York, USA, 1996, pp. 309-339.
56. Demir R: *Histolojik Boyama Teknikleri.* Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 2001, s. 1-49.
57. Huo MH, Troiano NW, Pelker RR, Gundberg CM and Friedlaender GE: The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res.* 9: 383-390, 1991.
58. Lane JM and Sandhu HS: Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am.* 18: 213-225, 1987.
59. Hankey GJ and Eikelboom JW: Dabigatran etexilate: a new oral thrombin inhibitor. *Circulation.* 123(13): 1436-1450, 2011.
60. Rajgopal R, Bear M, Butcher MK and Shaughnessy SG: The effects of heparin and low molecular weight heparins on bone. *Thromb Res.* 122(3): 293-298, 2008.
61. Griffith GC, Nichols G Jr, Asher JD and Flanagan B: Heparin osteoporosis. *JAMA.* 193: 91-94, 1965.
62. Muir JM, Hirsh J, Weitz JI, Andrew M, Young E and Shaughnessy SG: A histomorphometric comparison of the effects of heparin and low-molecular-weight heparin on cancellous bone in rats. *Blood.* 89(9): 3236-3242, 1997.
63. Thompson RC Jr: Heparin osteoporosis. An experimental model using rats. *J Bone Joint Surg Am.* 55(3): 606-612, 1973.
64. Muir JM, Andrew M, Hirsh J, Weitz JI, Young E, Deschamps P and Shaughnessy SG: Histomorphometric analysis of the effects of standard heparin on trabecular bone in vivo. *Blood.* 88(4): 1314-1320, 1996.

65. Stinchfield FE, Sankaran B and Samilson R: The effect of anticoagulant therapy on bone repair. *J Bone Joint Surg Am.* 38(2): 270-282, 1956.
66. Shaughnessy SG, Hirsh J, Bhandari M, Muir JM, Young E and Weitz JJ: A histomorphometric evaluation of heparin-induced bone loss after discontinuation of heparin treatment in rats. *Blood.* 93(4): 1231-1236, 1999.
67. Street JT, McGrath M, O'Regan K, Wakai A, McGuinness A and Redmond HP: Thromboprophylaxis using a low molecular weight heparin delays fracture repair. *Clin Orthop Relat Res.* 381: 278-289, 2000.
68. Hak DJ, Stewart RL and Hazelwood SJ: Effect of low molecular weight heparin on fracture healing in a stabilized rat femur fracture model. *J Orthop Res.* 24(4): 645-652, 2006.
69. Kock HJ, Werther S, Uhlenkott H and Taeger G: Influence of unfractionated and low-molecular-weight heparin on bone healing: an animal model. *Unfallchirurg.* 105(9): 791-796, 2002.
70. Erli H, Melchert M and Rüger M: The effect of low-dosed unfractionated and low-molecular-weight heparins on bone healing in vivo. *The Internet Journal of Orthopedic Surgery.* 3(2): 1-22, 2006.
71. Kock HJ and Handschin AE: Osteoblast growth inhibition by unfractionated heparin and by low molecular weight heparins: an in-vitro investigation. *Clin Appl Thromb Hemost.* 8(3): 251-255, 2002.
72. Shaughnessy SG, Young E, Deschamps P and Hirsh J: The effects of low molecular weight and standard heparin on calcium loss from fetal rat calvaria. *Blood.* 86(4): 1368-1373, 1995.
73. Matziolis G, Perka C, Disch A and Zippel H: Effects of fondaparinux compared with dalteparin, enoxaparin and unfractionated heparin on human osteoblasts. *Calcif Tissue Int.* 73(4): 370-379, 2003.
74. Handschin AE, Trentz OA, Hoerstrup SP, Kock HJ, Wanner GA and Trentz O: Effect of low molecular weight heparin (dalteparin) and fondaparinux (Arixtra) on human osteoblasts in vitro. *Br J Surg.* 92(2): 177-183, 2005.
75. Mizuno K, Mineo K, Tachibana T, Sumi M, Matsubara T and Hirohata K: The osteogenetic potential of fracture haematoma. Subperiosteal and intramuscular transplantation of the haematoma. *J Bone Joint Surg Br.* 72(5): 822-829, 1990.
76. Grundnes O and Reikerås O: The importance of the hematoma for fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand.* 64(3): 340-342, 1993.

77. Park SH, Silva M, Bahk WJ, McKellop H and Lieberman JR: Effect of repeated irrigation and debridement on fracture healing in an animal model. *J Orthop Res.* 20(6): 1197-1204, 2002.
78. Street J, Winter D, Wang JH, Wakai A, McGuinness A and Redmond HP: Is human fracture hematoma inherently angiogenic?. *Clin Orthop Relat Res.* 378: 224-237, 2000.
79. Brighton CT and Hunt RM: Early histological and ultrastructural changes in medullary fracture callus. *J Bone Joint Surg Am.* 73(6): 832-847, 1991.
80. Francis CW, Pellegrini VD Jr, Totterman S, Boyd AD Jr, Marder VJ, Liebert KM, Stulberg BN, Ayers DC, Rosenberg A, Kessler C and Johanson NA: Prevention of deep-vein thrombosis after total hip arthroplasty. Comparison of warfarin and dalteparin. *J Bone Joint Surg Am.* 79(9): 1365-1372, 1997.