

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN FEMUR KIRIĞI MODELİNDE TRANEKSAMİK ASİT
KULLANIMININ KIRIK İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

Dr.Akın SEZGİN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet BAYAR

ZONGULDAK
2019

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN FEMUR KIRIĞI MODELİNDE TRANEKSAMİK ASİT
KULLANIMININ KIRIK İYİLEŞMESİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

Dr.Akın SEZGİN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet BAYAR

Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. (BAP No: 2017-84644672-02)

ZONGULDAK

2019

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Sıçan Femur Kırığı Modelinde Traneksamik Asit Kullanımının Kırık İyileşmesine Etkisinin Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma"

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Akın SEZGİN

Tez Savunma Tarihi : 01/02/2019

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Ahmet BAYAR

Prof.Dr. Ahmet BAYAR
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Egemen TURHAN
Jüri Üyesi

Doç.Dr. Murat SONGUR
Jüri Üyesi

UYGUNDUR



ÖNSÖZ

Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalında 2013 yılında başladığım uzmanlık eğitimim süresince, her türlü bilgi birikimlerini ve klinik deneyimlerini bitmek tükenmek bilmeyen bir sabırla ve şefkatle bizlerle paylaşıp, ne zaman ümitsizliğe kapılsak bizi tutup kaldıran, bize duydukları güvenle özgüvenimizi arttıran, insanlığa faydalı bir hekim olarak yetişebilmemiz için hertürlü fedakarlıkta bulunan, talebeleri olmaktan ömrüm boyunca onur ve mutluluk duyacağım; Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet BAYAR’a, Sayın Prof. Dr. Selçuk KESER’e, Sayın Doç. Dr. Murat SONGÜR’e ve Sayın Doç. Dr. Ercan ŞAHİN’e sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin belirlenmesinden itibaren tüm aşamalarda, bilgi ve deneyimini esirgemeyen ve her türlü sorunda anında ve etkili müdahaleleriyle çalışmanın doğru ve eksiksiz biçimde ilerlemesini sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet BAYAR’a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın histolojik değerlendirmelerini yapan hocam Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH ve Arş. Gör. Dr. Büşra ÇETİNKAYA’ya, istatistiksel değerlendirmeleri yapan hocam Dr. Öğr. Üyesi Füzulan KÖKTÜRK’e ve tezimin deney aşamasındaki katkılarından dolayı Vet. Hekim Osman CENGİL’e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimi birlikte sürdürdüğüm asistan ağabeylerim Dr. Onur KAYMAKÇI, Dr. Ali TURAN, Dr. Mehmet Birol ILGIN ve Dr. Fatih KORBAY’a; asistanlık hayatımın tamamına yakınına beraber geçirdiğim, gece gündüz demeden, her türlü fedakarlığı göstererek bu süreci paylaştığım yoldaş ve kardeşlerim Dr. Yavuz ÖNEL ve Dr. İdrak MEMMEDOV’a; ve yine bu süreçte birlikte çalıştığım asistan kardeşlerim Dr. Mehmet Ali ÖZER, Dr. Aqil HANEFAYEV, Dr. Osman ÇAY, Dr. Hakan BAŞAR, Dr. Gökhan BİLGİN, Dr. Hasan İŞSİZ ve Dr. Mehmet Oktay GENÇAY’a; anne şefkatiyle her zaman sevgisini ve ilgisini bize hissettiren Şule ÇEP ÖMÜR’e; birlikte çalıştığım ortopedi servis, poliklinik ve ameliyathanesinin tüm hemşirelerine ve yardımcı personeline teşekkür ederim.

İyi bir hekim olmaktan önce iyi bir insan olmanın önemini bana aşıl原因an, bizim iyiliğimiz için kendi iyiliklerinden vazgeçen, her türlü kararında hep yanımda duran ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Meliha SEZGİN, babam

Salih SEZGİN'e, varlıklarıyla beni gururlandıran kardeşlerim Anıl SEZGİN ve Elif SEZGİN'e ve uzmanlık eğitim sürecimin bana armağanı olan Feride ÖÇBA'ya sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Dr. Akın SEZGİN

ZONGULDAK, 2019



ÖZET

Akın Sezgin, Sıçan Femur Kırık Modelinde Traneksamik Asit Kullanımının Kırık İyileşmesine Etkisinin Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2019

Traneksamik asit, etkinliğini plazminojen üzerindeki lizin bağlayan bölgeleri geridönüşümlü bloke ederek ve fibrin degradasyonunu önleyerek gösteren sentetik lizin türevidir. Günümüzde, gerek çoklu travmalı ve aktif kan kaybı olan hastalara yapılan acil müdahalelerde, gerekse majör ortopedik cerrahilerde intraoperatif veya postoperatif kanamayı sınırlamak ve hemodinamiyi olduğunca stabil tutmak amacıyla çeşitli ajanlar kullanılmaktadır. Bu ajanlar arasında özellikle traneksamik asit en çok kullanılanlardan biridir. Literatürdeki çalışmalar daha çok traneksamik asitin hemodinamiyi sağlama ve transfüzyonu en aza indirme etkinliğini araştırmaya yöneliktir. Ayrıca bazı çalışmalarda traneksamik asitin, antifibrinolitik etkisinden bağımsız olarak başlıbaşına antiinflamatuvar etkisinin olabileceği gösterilmiştir. Kırık iyileşmesinde gerek kanlanmanın, gerekse inflamasyonun önemli rol oynadığı düşünüldüğünde, traneksamik asitin kırık iyileşmesine etkisinin araştırılması önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı; traneksamik asitin farklı şekillerde ve farklı dozlarda uygulanmasının, kırık iyileşmesine ve kırık bölgesindeki inflamatuvar süreçte etkisinin değerlendirilmesidir.

Wistar Albino cinsi aynı cinsiyetten(erkek) 64 erişkin rat çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın, 8'er rattan oluşmak üzere 8 grupta gerçekleştirilmesi planlandı. Grupların hepsine femur shaft osteotomisi+fiksasyon uygulandı. A ve B gruplarına traneksamik asit uygulaması yapılmadı (kontrol grupları). C ve D gruplarına 30mg/kg IP traneksamik asit uygulandı. E ve F gruplarına 100mg/kg IP traneksamik asit uygulandı. G ve H gruplarına 50mg/kg lokal traneksamik asit uygulandı. Cerrahi sonrası 2. haftada A-C-E-G gruplarına, 4. haftada ise B-D-F-H gruplarına anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Ratların sağ femurlarına kalçadan ve dizden dezartikülasyon uygulanarak radyolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Çalışmamızın sonucunda TA uygulamasının genel olarak kırık iyileşmesine ve inflamasyona olumsuz etkisinin olduğu görülmüştür. Lokal TA uygulamanın

erken dönemde kırık iyileşmesini bozarken, geç dönemde inflamasyondaki artışın da etkisiyle iyileşmeyi sağlayabildiği görülmüştür. Düşük doz (30 mg/kg) ip uygulamanın geç dönemde de kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği saptanmıştır. Özellikle IL-6 değerleriyle kırık iyileşme derecesinin paralellik gösterdiği belirlenmiştir.



ABSTRACT

Akın Sezgin, Evaluation of The Effects of Tranexamic Acid Use on Fracture Healing in Rat Femur Fracture Model: An Experimental Study. Zonguldak Bulent Ecevit University, Faculty of Medicine, Department of Orthopaedics and Traumatology. Orthopedics and Traumatology Thesis, Zonguldak, 2019.

Tranexamic acid is a synthetic lysin derivative which becomes effective by reversibly blocking the lysin that attaches regions on plasminogen and preventing the fibrin degradation. Recently various agents are used, both during the emergency interventions for the patients with multiple traumas and active blood loss, and for the purpose of limiting the intraoperative and postoperative bleeding during the major orthopedic operations as well as stabilizing the hemodinamy as mush as possible. Among these agents, especially the tranexamic acid is the most preferred one. The studies mostly are focused on the effects of the tranexamic acid that are providing hemodynamics and minimizing the transfusion. Besides, some studies state that tranexamic acid has antiinflamatuary effects regardless of its antifibrinolytic effects. Considering that blood supply and inflammation play an important role in fracture healing, it is important to investigate the effects of tranexamic acid on fracture healing process. The aim of this study is; evaluation of the effects of administration of tranexamic acid in different ways and at different doses on fracture healing and the inflammatory process in the fracture site.

64 adult Wistar Albino type rats of the same sex(male) were included in the study. The study was planned to be carried out in 8 groups, each containing 8 rats. All groups had femoral shaft osteotomy+fixation. Groups A and B were not treated with tranexamic acid (control groups). C and D groups were injected 30 mg / kg IP tranexamic acid. E and F groups were injected 100 mg / kg IP tranexamic acid. G and H groups were applied 50 mg / kg of local tranexamic acid. The second week following the surgical operation, A-C-E-G groups and at postoperative fourth week B-D-F-H groups were anesthetized and then sacrificed by cervical dislocation. Radiological, histopathological and immunohistochemical evaluation of the right femurs of the rats were performed by disarticulation of the hips and knees.

As a result of our study, it has been observed that TA application has a negative effect on fracture healing and inflammation in general. It has been observed that local TA application can improve healing with the effect of increase in inflammation in the later phase while disturbing fracture healing in early phase. It was found that low dose (30 mg / kg) ip TA application had a negative effect on fracture healing in the later phase. It was determined that the degree of fracture healing was correlated with IL-6 values.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLO DİZİNİ.....	xii
GRAFİK DİZİNİ	xiii
RESİM DİZİNİ	xiv
ŞEKİL DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusu ve Histolojisi	3
2.1.1. Kemiğin hücresel bileşenleri	4
2.1.2. Kemik matriksi	6
2.1.3. Periosteum ve endosteum	6
2.1.4. Kemiğin beslenmesi	7
2.1.5. Kemik oluşum tipleri	8
2.2. Kırık İyileşmesi	9
2.2.1. Yangı (inflamasyon) evresi	11
2.2.2. Onarım (reperasyon) evresi	12
2.2.3. Yeniden şekillenme (remodelling) evresi	14
2.3. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	15
2.3.1. Lokal faktörler	15
2.3.2. Sistemik faktörler	18
2.3.3. Kırık iyileşmesinin kontrolü	20
2.4. Kanama Fizyolojisi	21
2.4.1. Hemostaz, koagülasyon ve fibrinolitik sistem	21
2.4.2. Antifibrinolitikler ve traneksamik asit (TA)	24
2.5. İnterlökin-6	27
2.6. İndüklenebilir NOS (iNOS)	27

3. MATERYAL VE METOD.....	29
3.1. Deney ve Denekler.....	29
3.2. Cerrahi Teknik.....	30
3.3. Radyolojik İnceleme.....	34
3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme	36
3.6. İstatistiksel İnceleme	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Radyolojik Bulgular	38
4.2. Histopatolojik Bulgular	40
4.3. IL-6 İmmünohistokimya Bulguları	47
4.4. INOS İmmünohistokimya Bulguları	49
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ	61
7.KAYNAKLAR	63
8. EKLER.....	73
Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABC	: Avidin-Biotin-Kompleks
ALP	: Alkalen fosfataz
AVN	: Avasküler nekroz
BMP	: Kemik kaynaklı morfojenik protein
Ca	: Kalsiyum
CDG	: Kondroblast kökenli büyüme faktörü
DAB	: Diaminobenzidine
DVT	: Derin ven trombozu
EACA	: Epsilon aminokaproik asit
ECDGF	: Endotelial hücre kökenli büyüme faktörü
ECGF	: Epidermal kökenli büyüme faktörü
EGF	: Epidermal kökenli büyüme faktörü
eNOS	: Endotelial NOS
FGF	: Fibroblast kökenli büyüme faktörü
H-E	: Hematoksilen Eozin
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
İa	: İntraartiküler
iNOS	: İndüklenebilir NOS
İp	: İntraperitoneal
LPS	: Lipopolisakkarit
MDGF	: Makrofaj kökenli büyüme faktörü
MI	: Myokard infarktüsü
nNOS	: Nöronal NOS
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
PBS	: Phosphate buffered saline

PDGF	: Platelet kökenli büyüme faktörü
PE	: Pulmoner emboli
PG	: Prostoglandinler
PO4	: Fosfat
PPMH	: Pluripotent mezenkimal hücreler
PRP	: Trombositten zengin plazma
PTH	: Parathormon
RANK	: Reseptör aktivatör nükleer kappa B
RANKL	: RANK Ligandı
TA	: Traneksamik asit
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
TNF	: Tümör nekrozis faktör
t-Pa	: Doku plazminojen aktivatörü
WNT	: Wingless/Integrated
μ	: Mikron

TABLO DİZİNİ

TabloSayfa

Şekil 1. Kemiğin morfolojik görünümü	4
Şekil 2. Kemiğin beslenmesi (Miller's Orthopaedics 12th edition, 2014)	7
Şekil 3. Uzun kemiklerin enkondral kemikleşmesi	9
Şekil 4. Kırık iyileşme evreleri.....	11
Şekil 5. Kırık iyileşme süreci	15
Şekil 6. Koagülasyon sistemi	23
Şekil 7. Fibrinolitik sistem	24
Şekil 8. TA kimyasal yapısı.....	25
Şekil 9. TA etki mekanizması	26

GRAFİK DİZİNİ

GrafikSayfa

Grafik 1. Radyolojik skorlamanın gruplara göre dağılımı	40
Grafik 2. Histolojik skorlamanın gruplara göre dağılımı	46
Grafik 3. Histolojik ve radyolojik skorlamaların gruplara göre dağılımı	46
Grafik 4. IL-6 skorlarının gruplara göre dağılımı.....	48
Grafik 5. İNOS skorlarının gruplara göre dağılımı	50



RESİM DİZİNİ

Resim Sayfa

Resim 1. Ratın uyluğunun ameliyat için hazırlanması.....	30
Resim 2. Femurun yumuşak dokulardan ayrılarak ortaya konması	31
Resim 3. Femurun testere yardımı ile osteotomize edilmesi	31
Resim 4. Kirschner telinin yerleştirilmesi.....	32
Resim 5. Fikse edilmiş femur.....	32
Resim 6. Uyluğun son görüntüsü	33
Resim 7. Lokal TA uygulanması.....	34
Resim 8. 2. Haftada incelenen grupların röntgen görüntüleri	39
Resim 9. 4. Haftada incelenen grupların röntgen görüntüleri	40
Resim 10. 2 haftalık deney gruplarının H-E uygulanmış preparat görüntüleri	43
Resim 11. 4 haftalık deney gruplarının H-E uygulanmış preparat görüntüleri	45
Resim 12. Tüm grupların IL-6 immünohistokimya boyaması. Bar:50 µm.....	49
Resim 13. Tüm grupların iNOS immünohistokimya boyaması. Bar:50 µm.....	51

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil Sayfa

Şekil 1. Kemiğin morfolojik görünümü	4
Şekil 2. Kemiğin beslenmesi (Miller's Orthopaedics 12th edition, 2014)	7
Şekil 3. Uzun kemiklerin enkondral kemikleşmesi	9
Şekil 4. Kırık iyileşme evreleri.....	11
Şekil 5. Kırık iyileşme süreci	15
Şekil 6. Koagulasyon sistemi	23
Şekil 7. Fibrinolitik sistem	24
Şekil 8. TA kimyasal yapısı.....	25
Şekil 9. TA etki mekanizması	26

1.GİRİŞ

Kemik yapının anatomik bütünlüğünün tamamen veya kısmi olarak bozulması ve çevre yumuşak dokuların da beraberinde etkilenmesi durumu kırık olarak ifade edilir. İnsanlık tarihi boyunca kazalar, kavgalar ve savaşlar varolmuştur ve varolmaya devam etmektedir. Günümüzde teknolojinin de gelişmesi mevcut travmaların katlanarak artmasına neden olmuştur. Yaşam süresinin artması da bunlara eklenince kırık insidansı bariz artış göstermiştir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulunca hayatımız boyunca kırık riski ile karşı karşıyayız. Dolayısıyla kırık tedavisi gün geçtikçe daha çabuk ve daha güçlü olmalıdır. Kırığın kaynaması için beklenen süre ne kadar azalırsa ve kırık ne kadar etkin iyileşirse maliyetler o kadar düşük olacak, hastanede yatış süresi azalacak, kullanılan pahalı implantların önü kesilecek, yaşam kalitesi artacak, işe dönüş çabuk olacak ve toplam iş gücü kaybı azalacaktır. Bu nedenle kırık, ortopedik cerrahinin en fazla uğraşılan konularından biridir (1).

Kırık iyileşmesi kırığın olduğu anda başlar ve kırık uçları tamamen bütünleşinceye kadar devam eder. Düzenli bir şekilde ilerleyen bu süreç, bir o kadar da iç içe geçmiş aşamaları takiben gerçekleşir. Bu evreleri etkileyen birçok etken bulunmaktadır. Kişinin genel durumu, yaşı, kullandığı ilaçlar, hastalıkları, travmanın şiddeti ve karakteri gibi faktörler, kırık iyileşmesini olumlu ya da olumsuz etkileyebilir. Kırık iyileşmesi, inflamasyonla başlayan üç aşamalı bir süreçtir. İnflamasyonu takiben onarım (reperasyon) ve yeniden yapılanma (remodeling) evreleri ile tamamlanır (2). Bu evrelerden herhangi birinde aksaklık olursa kırık iyileşmesi bu durumdan etkilenecektir.

Traneksamik asit (TA) lizin amino asidinin sentetik derivativesidir. TA acil veya elektif cerrahi prosedürlerde sıklıkla kullanılan potent bir antifibrinolitik ajandır. Fibrinolizisi güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. Spinal cerrahi ve ortopedik cerrahi prosedürlerde sıkça kullanılmaktadır (3). TA ortopedik cerrahiler sırasında kanamayı azaltıcı etkisi nedeniyle kullanılmaktadır ve kanamayı azaltıcı etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (4). Ayrıca son dönemlerde TA'nın antiinflamatuvar etkisinin de olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (5). Kırık iyileşmesinde inflamasyon dokusunun ve pıhtılaşmanın etkisi göz önüne alındığında TA'nın kırık iyileşmesine olan etkisinin araştırılması önem arz etmektedir.

Bizim çalışmamızdaki amacımız; hayvan modelinde TA'nın kırık iyileşmesine olan etkilerinin radyolojik, histolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirmektir.

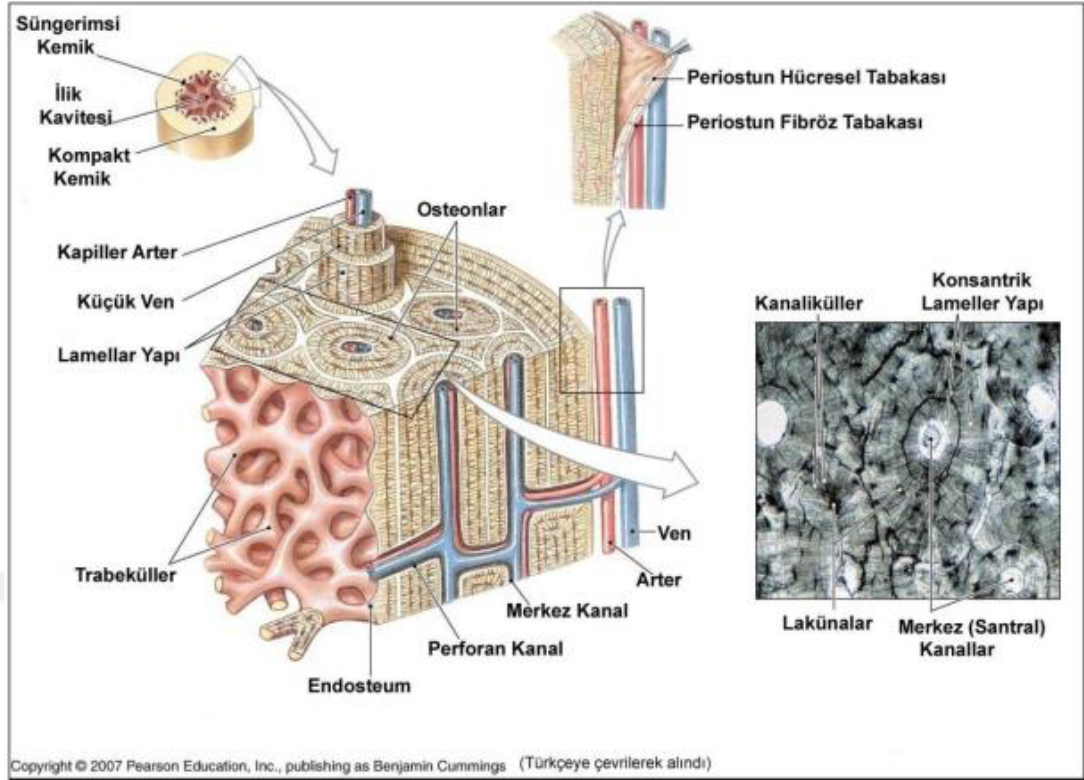


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusu ve Histolojisi

Vücudun en sert dokularından biri kemik dokusudur. Canlı, iyi kanlanma gösteren, yapım ve yıkımın eş zamanlı seyrettiği, mineralize bir bağ dokusudur. Kasların bağlantı noktası olması sebebiyle denge ve hareketin oluşturulmasında ve aynı zamanda hayati organların korunmasını sağlamakta en önemli yapıdır. Kemik dokusu aynı zamanda içinde bulunan kemik iliği sayesinde kan hücrelerinin yapımında ve metabolik olarak da vücudun ihtiyacı olan kalsiyum (Ca) ve fosfat (PO₄) gibi minerallerin depolanıp, gerektiğinde salınmasında etkin göreve sahiptir (6,7).

Kemik dokusu hücresel ve hücresel olmayan iki ana yapıdan oluşmaktadır. Osteoblastlar, osteositler, osteoklastlar ve çeşitli kök hücre dizilerinden köken alan mezenkimal osteoprogenitör hücreler, kemik dokusunu oluşturan hücresel yapılardır. Osteoblastlar pluripotent mezenkimal hücrelerden köken alırlar. Aktif durumda kemik matriksini üretirler. Aktif osteoblastların yaklaşık üçte birini mineralize matriks içinde osteositleri oluşturur. Osteositler, kalsiyum ve fosfor dengesinden sorumludurlar. Osteoklastlar monosit öncülerinin birleşmesiyle oluşan çok çekirdekli dev hücrelerdir. Mineralize kemik matriksinin rezorpsiyonundan sorumludurlar. Osteoprogenitör hücrelerse aktive olmayı bekleyen osteoblastların mezenkimal öncüleridir (8-10). Hücresel olmayan matriks ise organik ve inorganik olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Kollajen lifleri, proteoglikanlar, glikoproteinler, fosfolipidler ve fosfoproteinler organik kısmı oluştururken, inorganik kısımda kalsiyum hidroksiapatit ve osteokalsiyum fosfat bulunmaktadır (8,10).



Şekil 1. Kemiğin morfolojik görünümü

2.1.1. Kemiğin hücresel bileşenleri

Kemik yapının yaklaşık %2'sini oluşturur.

2.1.1.1. Osteoprogenitör hücre

Embriyogenik mezenkimal hücrelerden kaynaklanan, kök hücre özelliğinde osteoblastlara farklılaşabilen ve kemik matriksi salgıyalabilen, iğsi görünümlü soluk boyanan, oval çekirdekli hücrelerdir (11). Periosteumun iç tabakasında ve havers kanallarını çevreleyen endosteumda bulunurlar. Mitoza girme yeteneklerini devam ettirerek osteoblastlara farklılaşabilirler. Bu hücreler kırık iyileşmesi ve kemik büyümesi gibi durumlarda osteoblastlara farklılaşırlar (12).

2.1.1.2. Osteoblastlar

Kemik matriksin organik bileşenlerinin sentezinden sorumlu olan hücrelerdir. Tip 1 kollajen, glikoproteinler, osteokalsin, osteopontin ve kemiksiyeloproteini gibi ürünler sentezlerler. Ayrıca inorganik matrix yapımı da osteoblastlar sayesinde olur. Kübikten yassıya kadar değişik şekillerde bulunurlar. Sentez işlemi azaldıkça alkalin fosfataz(ALP) aktivitesi azalır ve yassı hale gelirler. Osteoblastlar kemik

yüzeylerinde epitel hücreleri gibiyen yana dizili halde bulunur. Matriks sentezlemeye başladıkları zamanlarda kübik halden prizmatik hale kadar dönüşür. Osteoblastlar yeni sentez edilen matriks ile çevrelendiklerinde osteosit olarak adlandırılır. Daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblast yüzeylerinden matriks sekresyonu olur ve henüz kalsifiye olmamış matriks meydana gelir, buna osteoid adı verilir ve bu olaya da kemik aposizyonu denir (13).

2.1.1.3. Osteositler

Osteoblastların kemik matriksi ile tamamen çevrili halidir. Lakunalar içine yerleşmişlerdir. Her lakunada sadece bir osteosit bulunur. Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik kanalcıklarla sarılmıştır (13). Kemik yapının yaklaşık %90'ını oluşturan destek elemanlarıdır. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığını sağlarlar. Hücre dışı kalsiyum ve fosfat konsantrasyonunun kontrolü için önemli görev üstlenirler (14).

Komşu osteositler arasında besin maddelerinin hücreden hücreye geçişini sağlayan, sitoplazmik uzantılarının birbirleri arasında yaptıkları oluklu bağlantılar vardır (11). Kan damarları ile osteosit arasında moleküler geçiş, osteositler ile kemik matriksi arasında bulunan çok az miktardaki ekstrasellüler madde yardımıyla olur. İlerleyen süreçte endoplazmik retikulumları ve golgi kompleksleri boyutları azalır. Nükleer kromatinler yoğunlaşır. Osteositlerin ölümünden sonra matriks rezorpsiyonu izlenir (15-16).

2.1.1.4. Osteoklastlar

Osteoklastlar kan kaynaklı monositlerin birleşmesi ile meydana gelen, mononükleer fagositer sisteme dâhil hücrelerdir. Sitoplazmaları asidofiliktir. Büyük, dallanmış ve hareketli hücrelerdir. Çeşitli büyüklük ve sayıda çekirdeği hücre gövdelerinde bulundurlar. Bir hücrede 15-20 veya daha fazla nükleusları, çok sayıda lizozom, granüllü endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş golgi cisimciği bulunur. Fonksiyonları kemiği yıkmaktır. Yıkımı proton salgılayarak yaparlar. Kemiği demineralize ederler, lizozomal ve non-lizozomal yol ile kemik matriksini destrükte ederler. Howship lakunası denilen çukurlarda kemik rezorpsiyonunu başlatırlar. Kemik rezorpsiyonu tamamlandıktan sonra apoptozise uğrarlar. Osteoklastların rezorpsiyon aktivasyonu osteoblastlar, makrofajlar ve

lenfositler tarafından uyarılırken, yükselen intersellüler kalsiyum onları inaktive eder. Osteoklastların aktivasyonu kalsitonin, D vitamini ve bazı düzenleyici moleküllerle sağlanır. Osteoklastlar, osteoblastlardan salgılanan RANK Ligandı(RANKL) ile aktive olarak matur osteoklastlara dönüşür ve RANKL'a bağlanan osteoprotegrin tarafından inhibe edilirler. Osteoklastlar kemik matriksini etkileyen asit, kollajenaz ve diğer proteolitik enzimleri salgırlarlar. Aktif osteoklastlarda bulunan kemik matriksine bakan yüzdeki düzensiz yapıda fırçamsı kenarlar kemik rezorbsiyonu için mikro çevre oluşturur(17-19).

2.1.2.Kemik matriksi

Organik ve inorganik moleküllerden meydana gelen kemik matriksin kuru ağırlığının yaklaşık %40'ı organik bileşenlerden oluşur.Organik matriks tip 1 kollojen, proteoglikan gibi temel maddelerin yanında osteokalsin, siyaloprotein, osteopontin ve çeşitli sitokinler içerir.

İnorganik bölümünde ise özellikle kalsiyum, fosfor ve bunlarla birlikte sitrat,sodyum, bikarbonat ve magnezyum da bulunur.Kalsiyum ve fosfor belli oranlarda birleşerek hidroksiapatit kristallerinioluşturur.Kemiğin sertlik ve dayanıklılık özelliği hidroksiapatit kristalleri ve kollojen lifleri arasındaki ilişki ile sağlanır. Hidroksiapatit kristalleri üzerindeki iyonlar suya doymuş halde bulunur ve etrafında su ve iyon kaplı bir tabaka oluşur. Hidrasyon kabuğu denilen bu alan sayesinde vücut sıvıları ile iyon alışverişi yapılır. Dekalsifiye olduktan sonra kemik, şeklini korur ve esnek hale gelir. Dahasonra organik yapıların ortadan kaldırılmasıyla kemiğin orjinal hali ortaya çıkar; bozulmazfakat kolayca kırılabilir hale gelir (12).

2.1.3. Periosteum ve endosteum

Kemiğin dış yüzeyini örten zara periosteum, iç yüzeyini örten zara ise endosteum adı verilir. Bu zarlar bağ dokusu ve kemik yapan hücrelerden oluşmaktadır. Periosteum iki katmandan oluşmaktadır; dış katman fibroz yapıdayken iç katman hücre ve damarlardan zengindir. Periosteum en önemli özelliği kemik yüzeyi sararak kırık iyileşmesine önemli katkıda bulunmasıdır. Çocukluk çağında kemiğin beslenmesi ve kırığın iyileşmesindeki etkisi önem arz etmektedir.

Endosteum; daha ince yapıda kemiğin iç yapısını örten tabakadır. Tek kat yassı osteoprogenitör hücreler ve az miktarda bağ doku içerir. Periosteum ve endosteumun

temel görevleri; kemik dokusunun beslenebilmesi, büyüyebilmesi ve onarımı için gerekli olan osteoblastları sağlamaktır. Bu nedenlerle periosteum ve endosteumun korunması kırık kaynaması açısından önem taşır (6,12).

2.1.4. Kemğin beslenmesi

Kemik kardiyak çıktının yaklaşık %5 ila %10'unu alır. Uzun kemiklerin beslenmesi üç kaynaktan olur(20).

2.1.4.1. Besleyici arter sistemi

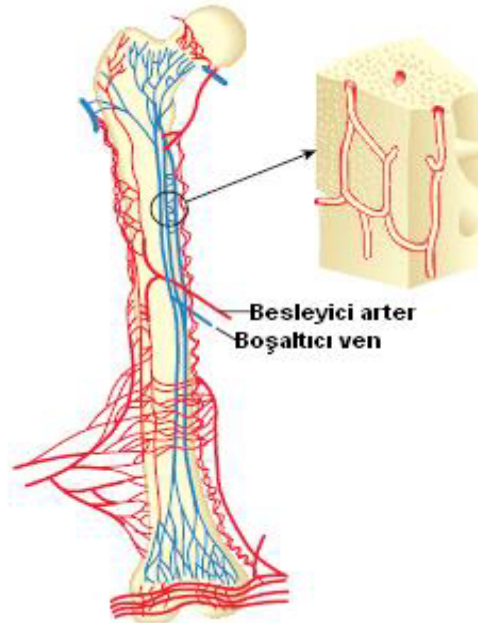
Sistemik arterlerden kaynak alırlar. Diyafizel kortekse ve meduller kanala besleyici deliklerden girerek yukarı çıkan ve aşağıya uzanan arterlere ayrılırlar. Endosteal kortekste arteriyollere ayrılarak haversiyan sistem yoluyla korteksin yaklaşık üçte ikilik kısmını besler. Bu sistemdeki kan basıncı yüksektir(20).

2.1.4.2. Metafizo-epifiziel sistem

Eklem çevresi vasküler pleksuslardan kaynaklanır(20).

2.1.4.3. Periosteal sistem

Kan basıncı düşüktür. Korteksin üçte birlik dış kısmını besleyen kılcal sistemidir(20).



Şekil 2. Kemğin beslenmesi (Miller's Orthopaedics 12th edition, 2014)

Olgun kemikte arteriyel kan akımı içerden dışarıyadır(santrifüjel). Bunun sebebi besleyici sistemin basıncının periosteal sistemden yüksek olmasıdır. Kırık oluşunca besleyici arter sistemi bozulur ve periosteal sistem baskın hale gelir ve kan akımı dışarıdan içeriye(sentripedal) doğru olur. Olgunlaşmamış kemikte de periosteal sistem hakim olduğu için akım sentripedaldir. Venöz akış ise yine sentripedaldir(20).

2.1.5. Kemik oluşum tipleri

2.1.5.1. Enkondral kemikleşme

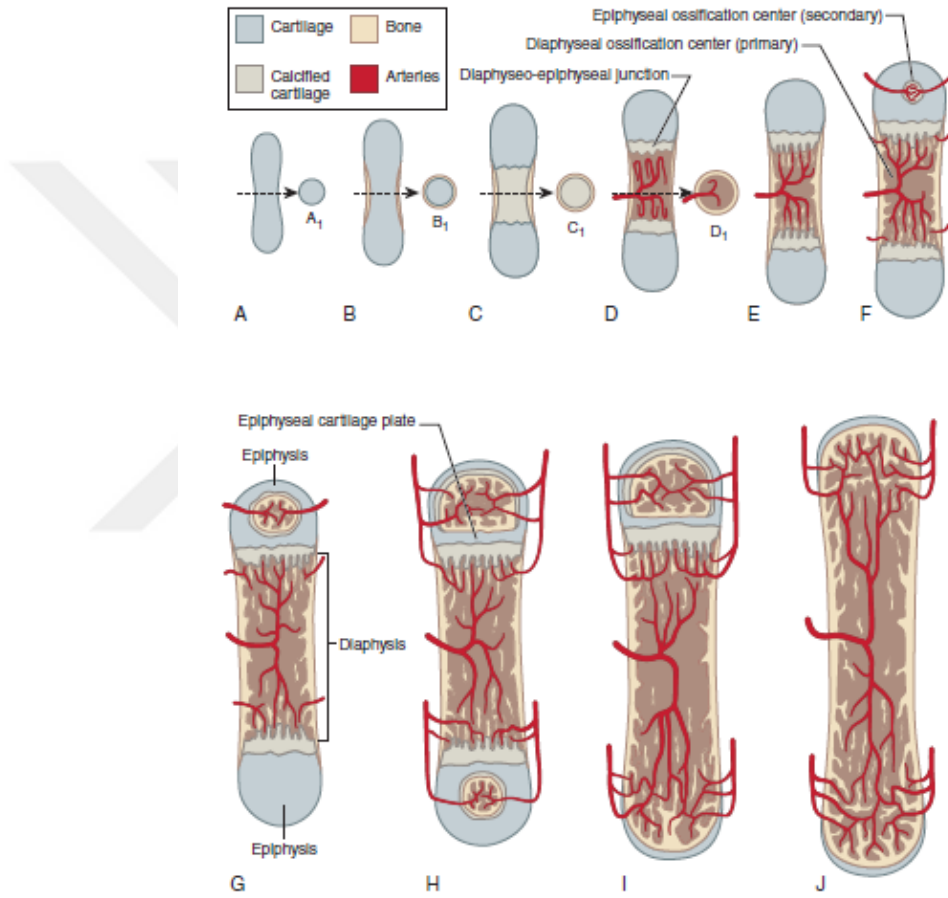
Kıkırdağın rol aldığı kemikleşme modelidir. Uzun kemiklerin şekillenmesi özellikle bu şekilde olur. Uzun kemiklerin diyafiz bölgesinde kıkırdak hücrelerinin bazı değişimleri sonucu enkondral kemikleşme gerçekleşir. Diyafiz bölgesindeki kemikleşmeye primer kemikleşme denir. Diyafiz bölge tamamen kemikleşinceye kadar sürer. Primer kemikleşmeyi sekonder kemikleşme adı verilen, epifiz bölgesindeki sekonder kemikleşme merkezinden kaynaklanan kemik oluşumu takip eder. Epifizdeki eklem kıkırdağı kemikleşmeye katılmaz.

Temel olarak ‘enkondral kemikleşme’ iki aşamadan oluşur. İlk aşama kemik modelindeki kondrositlerin hipertrofisi ve harabiyetidir. Bunun dışındaki kalsifiye olmuş kıkırdak dokular arasındaki genişlemiş alanlara lakuna denir. İkinci aşamada, osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerlerinden oluşan osteojenik tomurcuk, bu lakunalara girer. Osteoprogenitör hücreler, kemik matriks oluşturacak olan osteoblastlara dönüşür. Böylece kalsifiye kıkırdak dokusu septumları, başlayan ossifikasyona destek dokusu olarak bulunmaktadır. Kemik bir yandan devamlı olarak yapılırken bir yandan da osteoklastlarca yıkıma uğratılmakta ve bu iki olayın uyumlu çalışmasıyla kemik normal formunu korumaktadır(13).

2.1.5.2. İntramembranöz kemikleşme

Mezankimal doku yoğunlaşmaları içerisinde oluşan ve yassı kemikleri meydana getiren kemikleşme tipidir. İntramembranöz kemikleşme uzun kemiklerin kalınlaşmasında ve kısa kemiklerin büyümesinde rol oynar. Ossifikasyonun başladığı mezankimal dokudaki ilk noktaya primer kemikleşme merkezi denir. Olay bir grup mezankimal hücrenin osteoblasta dönüşmesi ile başlar. Yeni kemik matriksinin oluşmasının ardından kalsifikasyon süreci başlar. Bazı osteoblastların etrafları sarılarak osteosit haline gelir. Oluşan bu kemik adacıklarına spikül adı verilir.

Spiküller; aralarında kapillerler, kemik iliği hücreleri ve farklılaşmamış hücreler bulunduran kaviteletin uzamış duvarlarının kesitleridir. Bu spiküller zamanla birleşerek süngerimsi kemik yapısını oluşturur. Spiküller arası bağ dokuya, farklılaşmamış mezankimal hücreler ve kan damarlarının gelmesiyle kemik iliği oluşur. Bağ dokunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise periosteum ve endosteumu oluşturur(13).



Şekil 3. Uzun kemiklerin endokondral kemikleşmesi

2.2.Kırık İyileşmesi

Kırık dışarıdan ya da içeriden etki eden kuvvetlerce kemiğin anatomik yapısının bozulması olarak tanımlenebilir. Kırık sonrası bütünlüğün yeniden sağlanması için fizyolojik reaksiyon zinciri başlar. Kırık iyileşmesi için mekanik, biyolojik ve moleküler faktörlerin uygun etkileşimi gerekmektedir(17).Kırık iyileşmesi karmaşık bir süreçtir ve doğal gidişatı şu evrelerden oluşur (21):

1-Periosteal ve endosteal kallus oluşumu ve fragmanlar arası fibrokartilaj dönüşümü,

2-İntramembranöz ve enkondral kemikleşmeyle kemik devamlılığının sağlanması,

3-Nekrotik ve avasküler sahalarda yeni havers kanalları oluşumu,

4-Remodelling,

5-Fonksiyonel adaptasyon.

Temel olarak iki tip kırık iyileşmesinden söz edilebilir; primer ve sekonder:

Primer kırık iyileşmesi; genelde dış kallus dokusu olmadan iç kallus oluşumuyla devam eden temas (kontakt) iyileşmedir, bunun için kemik uçlarının herhangi bir aralık olmaksızın anatomik olarak redükte edilmesi ve sağlam (rijit) tespiti sonrası görülür. Burada kemik zamanla lamellar kemiğe dönüşür ve haversian kanalları ve yeni kandanarları oluşabildiğinde direk iyileşmeden bahsedilir. Bu süreç aylar hatta yıllarca devam edebilir (13).

Sekonder kırık iyileşmesi; en sık görülen iyileşme çeşididir. Enkondral ve

intramembranöz iyileşme ile gerçekleşir. Bu iyileşmede mikrohareket ve yüklenme

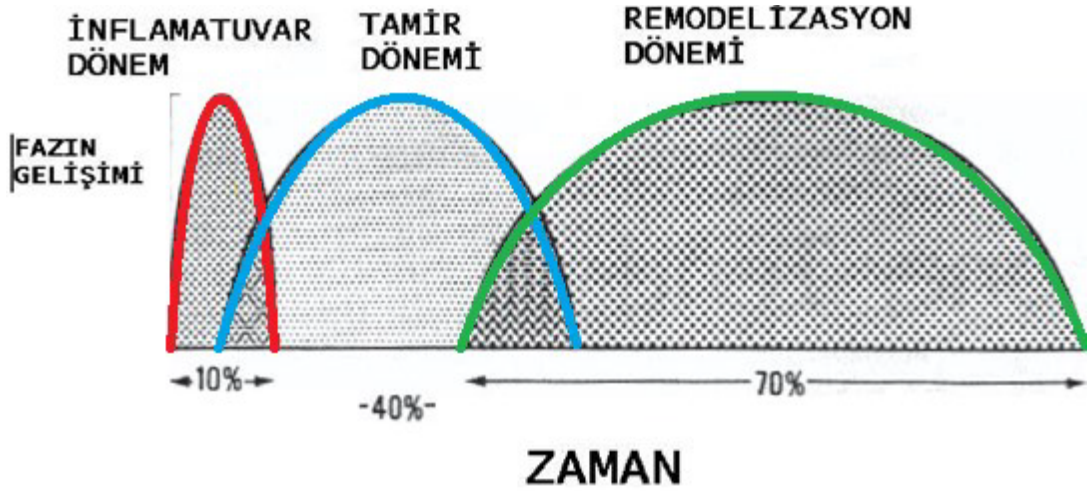
bulunur. Konservatif (alçı, traksiyon) tedavide, intramedüller çivilemede, eksternal tespit ya da parçalı kırıkların minimal girişimsel internal (perkütan osteosentez) tespitinde sekonder iyileşme görülür (13).

Kemiğin histolojik olarak iyileşme süreci ise iç içe geçmiş üç aşamada gerçekleşir:

1-Yangı (inflamasyon),

2-Onarım (reperasyon)

3-Yeniden şekillenme (remodelling)



Şekil 4. Kırık iyileşme evreleri

2.2.1. Yangı (inflamasyon) evresi

Kırık sonrası kemiğin kendisi ve etrafındaki yumuşak dokular zarar görür. Bölgedeki periost ve kan damarlarının hasarlanması sonucu kanama meydana gelir. Travma sonrası, kan pıhtılaşması (hematom oluşumu) ve ilk 12 ila 14 saatte başlayan iltihaplanma, kırık iyileşmesinin ilk aşamasını oluşturur. Akut inflamasyon hücrelerinin, kırık alanına göç etmesi sebebiyle bu evrenin adı inflamasyon evresidir. Kırık meydana gelmesi ile beraber matriks hasarı, endosteum ve periosteum yırtıkları oluşmasıyla kırık uçlarının ayrılması ve yer değiştirmesi gözlenir. Diğer travmalarda olduğu gibi kırık sonrasında da oluşan ilk cevap inflamasyon yani “yangı”dır (22). Kırık uçları, periost ve çevre yumuşak doku hasarı oluşturur. Yırtılan küçük damarlar ve lenfatiklerden sızan kan ve lenf sıvıları aynı bölgede toplanır. Kanama olan bölgeye pıhtılaşmayı sağlamak amacıyla trombotik faktörler salınır. Pıhtılaşmayla beraber de hem kırık uçları arasında ve etrafında, hem de periost altında hematom meydana gelir. Hematom kırık uçlarını bir arada tutar ve sekonder iyileşmede rolü çok büyüktür.

Açık kırıklarda ve cerrahi fiksasyon için açılan kırıklarda, kırık hematomu dışarı boşaldığından iyileşme sürecini geciktirir, hatta kaynamama bile gözlenebilir. Fibrin yapıda bir iskelet oluşturan kırık hematomu onarım hücrelerine destek olur. Beraberinde salınan büyüme faktörü ve proteinleri matriks ve periost hücre sentezine yardımcı olur.

Kırık sonrasında ilk aşamada arteriollerde geçici daralma gözlenir, hemen sonrasında ise mast hücrelerinden histamin salınımıyla hem arterioller hem venüller hem de kılcal damarlarda genişleme gözlenir. Kırık bölgesinde damarların geçirgenliğinin artmasıyla da ödem oluşur. Son olarak da monosit, lökosit ve lenfositler ödemli bölgeye doğru göç eder.

Komşu havers sistemleri arasında yetersiz anastomozlar olması nedeniyle kırık hattının her iki tarafında oluşan dolaşım bozukluğu sonucu nekroz alanları oluşur. Akut yangının başlamasında oluşan bu nekrotik dokular ve kırık bölgesinde açığa çıkan prostoglandinler etkilidir (23).

Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olarak fibrin bakımından zengin bir hal alır. Lökosit ve makrofaj göçü ile fibrin matriks meydana gelir. Büyükkemik kırıklarında makrofaj ve monositler interlökin-1 salgılar. İnterlökin-1 lenfosit göçünü, kemik geri emilimini (rezorbsiyon) sağlar ve ateş oluşumunda görev alır. Akut enflamasyon cevabı, ilk 24 saat boyunca zirveye çıkmaktadır ve yaralanmadan 7 gün sonraya kadar devam etmektedir (24).

2.2.2. Onarım (reperasyon) evresi

Kırık oluştuktan birkaç saat sonra başlayan onarım evresi, 7-12 gün içinde belirgin hale gelir. İyileşme evrelerinin en önemli kısmını oluşturur ve ilk aşaması hematomun organize hale gelmesidir. Hematom organizasyonundan sonra fibrinden zengin granülasyon dokusu oluşur (21). Uyarılan öncü hücreler farklılaşarak yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde ve destek hücreler oluşumunu sağlar. Onarım mekanizmasında rol alan öncü hücreler çok yönlü gelişim gücüne sahiptir. Bu hücrelerin kökeni kırık bölgesindeki granülasyon dokusu, periosteumun osteojenik tabakası ve nadiren de endosteumdur. Bu hücreler farklılaşmaya başlayınca ilk olarak hematoma içindeki fibroblastlar değişikliğe uğrar. Kırık uçlarındaki yoğun mezenşimal hücreler üçüncü gün sonunda yumuşak bir granülasyon dokusu meydana getirir. Bu granülasyon dokusu periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle ve fibrin matriksindeki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla oluşur (25). Osteoblastlar osteoid, fibroblastlar kollajen, kondroblastlar ise kollojen ve glikozaminoglikan salgılar. Ortamdaki kollojen miktarı iyileşen kemiğin gerilmeye karşı olan direncini belirler. Kırık hattındaki hareket miktarı ise kallus

boyutunu belirler. Yaşlanmayla birlikte bu hücrelerin farklılaşma kapasitelerinde azalmalar olur.

Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdan uzaklaştırılması kırık iyileşme sürecin geciktirir (26). Kırık bölgesindeki mezenşimal hücre çoğalması ilk 16 saatte görülmüştür. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. İyileşmesinin ilk evrelerinde periosta ait damarlar, geç evrelerinde ise besleyici damarlar kılcal damar tomurcuklanmasını sağlar. Beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın bölgedeki hücreler osteoblastlara dönüşür, uzak kısımda kılcal damarların gelişim hızı hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden hücreler; kondrosit ve kondroblast olarak farklılaşarak kırık dokusu oluşturur (27). Oluşan kırık dokusu damarlanmasından sonra kemik gelişimi başlar. Kan dolaşımı yeterli düzeyde olursa osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlayabilir. Ca'nın yeni damarların kırık dokuya yönelimini sağlamakta etkili olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla kırık dokusu kemik kallusa dönüşümü için damarlanma, bunun sağlanabilmesi için de osteoid mineralizasyonu gerekmektedir.

Onarımın ilk evresinin ana özelliği kırık dokusu oluşumudur (kırık dokusu kallus). Daha sonra mineralize olan kırık dokusu kallus oluşumu yeniden emilir ve kemik ile yer değiştirir (24). İlk oluşan yarı sert yumuşak kallus vaskülerdir, fakat woven kemik dokusu ile yer değiştirildiğinde, vasküler mimariye dönüşür. Kalsifiye kırık dokusu, yeni rejenere dokuya angiogenezis için bir uyarı olarak görev yapar ve osteoklastları ve osteoblastları kırık bölgesine getirir. Osteoklastlar kırık dokusu kaldırarak onun yerine woven kemiğin oluşmasını sağlar. Kırık dokusu kallus oluşum aşamasında özellikle tip II ve tip X kollajenler, hialüronik asit ve polisülfatlanmış glikozaminoglikanlar; özellikle kondroitin sülfat ve dermatan sülfat önemli role sahiptir (28).

Periostun iç (kambiyum) tabakasındaki Pluripotent Mezenkimal Hücreler (PPMH), kırık bölgesindeki erken dönem kemik yapımında görev alır. Bunlar doğrudan osteoblastlara farklılaşarak periostal intramembranöz kemikleşmeyi başlatır. Yani periosttan kaynaklanan intramembranöz kemik yapımı, kırıktan hemen sonra başlar. Oluşan intramembranöz woven kemik kırık hattının her iki kenarına bitişik olarak görülmeye başlar ve kallus merkezine doğru ilerler. İnamembranöz

kemikleşme sonucumeydana gelen kallusa, kemik kallus (sert kallus) denir. İntramembranöz kemikleşme kırıksonrasında 8-16 günde periost altında belirgindir (29).

Kırık iyileşmesinin ortalama 2. haftasının ortalarında kırıkta kallus oluşur. Mineralizasyon ve kemik kallus oluşumu ise ortalama 4 ila 16. haftalar arasındadır.

Onarım evresinin ortalarında gereksiz ve etkisiz kallus dokusunun geri emildiği remodeling başlar (30). Sert kallus oluştuğunda ve kalsifiye kırıkta doku woven kemiğiyle değiştirildiğinde, kallus mekanik olarak daha katı ve solid hale gelir (31).

2.2.3. Yeniden şekillenme (remodelling) evresi

Üçüncü ve son aşamadır. Kemiğin replasmanı ve aşırı kallus reabsorbsiyonu ile başlar. Bu fazda sert fakat düzensiz woven yapısındaki kemiğin, normale yakın güçteki düzenli lamellar kemiğe dönüşümü gözlenir. Bu faz, en uzun faz olup aylarca hatta yıllarca sürebilir (30)

Bu evrede başlıca 4 olay meydana gelir:

1- Kalsifiye kırıkta; osteoid dokuyla değişip birincil trabeküler dokuya dönüşür.

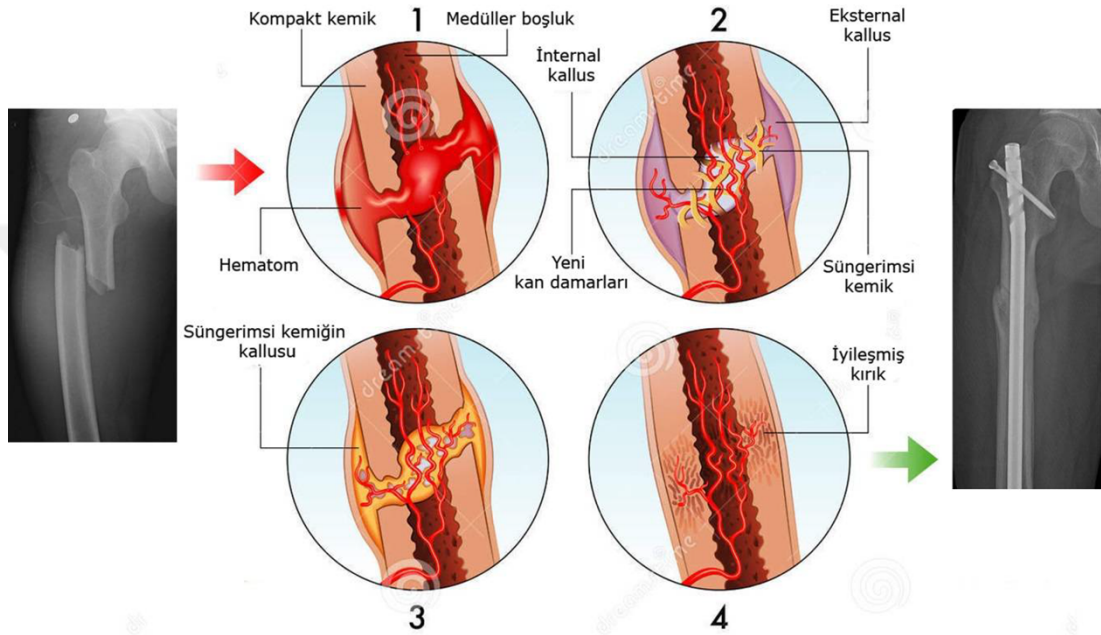
2- Lameller kemik; oluşan dokunun yerini alır.

3- Kompakt kemik uçlarındaki kallus lameller; kemikten yapılan ikincil osteonlara dönüşür. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.

4- Medüller kanal dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus rezorbe olarak boşluklar yeniden düzenlenir.

Histolojik olarak bazı değişikliklerin etkisi ile kemik eski şeklini almaya çalışır. Buna Wolf kanunu denir. Mekanik stres etkisi altında kalan kemiğin konkav tarafı negatif, konveks tarafı pozitif yüklenir. Bu olaya piezoelektriksel yüklenme adı verilir. Pozitif yük, osteoklastları uyardığından konveks tarafta kemik resorbsiyonu; negatif yük, osteoblastları uyardığından konkav tarafta kemik sentezi artar (25).

“Hueter-Volkman Yasası” mekanik faktörlerin; uzunlamasına büyümeyi, kemikremodelizasyonunu ve kırık onarımını etkileyebildiğini belirtir. Tensil kuvvetler büyümeyi uyarırken kompresif kuvvetler büyümeyi engeller(25).Sonuç olarak açılanma düzeltilmeye çalışılır. Neovaskülarizasyonyeniden şekillenme evresinde sonlanmış değildir, devam eder.



Şekil 5. Kırık iyileşme süreci

2.3. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

2.3.1. Lokal faktörler

2.3.1.1 Yaralanma, tedavi ve komplikasyondan bağımsız faktörler

1. Kemik tipi

Karşılıklı gelmiş kansellöz kemik yüzeyler, muhtemelen kansellöz kemiğin birim hacmine oranla yüksek yüzey alanının, hücre ve kemik açısından zengin birçok temas noktası oluşturması ve osteoblastların var olan trabeküllerin doğrudan üzerinde yeni kemik oluşturması sebebiyle genellikle hızlıca kaynarlar(32).

2. Anormal kemik

Radyasyon nekrozu:Yüksek dozda radyasyon haversiyan sistemde uzun dönemli değişiklikler yapar ve hücreliliği (selüleriteyi) azaltır(33).

Enfeksiyon:Eğer kırıktan sonra ortaya çıkan bir enfeksiyon varsa ya da enfeksiyona bağlı bir kırık oluşmuşsa, çok sayıda hücre enfeksiyonu çevrelemeye ya da yok etmeye yönlendirilir ve enerji tüketimi artar. Bunun yanında, enfeksiyon normal dokuların nekrozuna ve kan damarlarının trombozuna neden olur ve böylelikle iyileşmeyi yavaşlatır ya da engeller(32).

Tümör ve diğer patolojik durumlar:Patolojik kırıkların yaygın sebepleri arasında osteoporoz, osteomalazi, kemiğin kendisinin kötü huylu tümörleri, metastatik tümörler, iyi huylu kemik tümörleri,kemik kistleri, osteogenezis imperfekta, fibröz displazi, paget hastalığı, hiperparatiroidizm ve enfeksiyonlar gösterilebilir(32).

3. Denervasyon

İmmünohistokimyasal olarak kırık kallusunda yedinci günde sinir dokusu elemanlarının ortaya çıktığı ve 14-21 günler arasında da periostta sinir liflerinin varlığı gösterilmiştir. Bazı yayınlarda kırık iyileşme sürecinin sözkonusu kırık sahasıyla ilişkili sinir dokusunun hasarlı olmasıyla olumsuz etkilendiğine işaret edilmektedir(34).

2.3.1.2. Yaralanmaya bağlı faktörler

1-Lokal hasarın derecesi

Açık kırıklar: Yumuşak dokunun yaralanarak devamlılığını kaybetmesi, ciddi miktarda nekrotik kemik ve yumuşak doku oluşturup, kırık kan pıhtısı oluşumunu engelleyerek ya da azaltarak ve onarım dokusu oluşumunu geciktirerek kırık bölgesine kan desteğini keser (32).

Parçalı kırıklar:Kemik parçalanması genellikle yaygın yumuşak doku zedelenmesiyle birliktedir. Buna tek istisna, osteopenik hastalardaki minimal travmalarda oluşan parçalı kırıklardır. Geniş yumuşak doku materyali ve kırık parçalarının birbirinden uzaklaşması, nekroze debrisini artırır ve yerel kan akımını engelleyerek kırık iyileşmesini geciktirir(32).

2-Vasküler desteğin kaybolması (makrovasküler AVN)

Yeterli kan desteğinden yoksun olmak kemik iyileşmesini önemli oranda geciktirebilir ya da engelleyebilir(32).

3-Kırık tipi ve lokalizasyonu

Eklem dışı metafiz kırıkları, diafiz kırıklarından daha çabuk iyileşirken humerus, talus, skafoid ve tibia kırıkları diğer kemiklere göre daha zor iyileşir.

4-Kemik kaybı

Segment kaybı olan kırıklarda kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir.

5-Araya yumuşak doku girmesi

Kas, fasya, tendon ve bazen de sinirler ve damarları içeren yumuşak dokunun kırık parçaların arasına girmesi, kırık iyileşmesini tehlikeye atmaktadır(32).

6-Lokal büyüme faktörleri

TGF, FGF, PDGF gibi moleküller anjiyogenezi ve mitogenezi başlatır ve hücrelerin göçünü, farklılaşmasını ve çoğalmasını tetikler.

2.3.1.3.Tedaviye bağlı faktörler

1. Cerrahi travmanın derecesi

Cerrahi sırasında yapılan geniş diseksiyonlar kırık hematomunun oluşmasını ve dolaşımı bozarak kırık iyileşmesini olumsuz etkiler.

2. İmplanta bağlı değişen kan akımı

Oymalı çiviler endosteal kan akımını, plaklar ise periosteal kan akımını olumsuz etkiler.

3. İnternal veya eksternal tespitin rijiditesi

Traksiyon, alçı immobilizasyonunun tersine, en azından bazı eksternal tespit ve metal implantlarla yapılan iç sabitleme kırıkların sıkı tespitini sağlayabilmektedirler. Kırığın sıkı tespiti, kırıkta ya da bağ dokusu dolgusu olmaksızın birincil kemik onarımını olası kılsa da, kırık iyileşmesini hızlandırmaz(32).

4. Kemik ve yumuşak dokulara etki eden yüklerin derece, süre ve yönleri

Kırık iyileşmesi için uygun koşullar arasında onarım dokusunun yüklenmeside vardır. Mevcut kanıtlar, kırık bölgesine yapılan yüklenmenin kemik oluşumunu harekete geçirdiğini, yüklemenin azalmasının ise kırık iyileşmesini yavaşlattığını göstermektedir(32).

5. Parçalar arası temasın derecesi

Parçalar arasında temas yüzeyi arttıkça kaynama artar.

6. Posttravmatik osteogenezi uyaran faktörler

Kemik greftleri, BMP, PRP uygulaması, kemik iliği uygulaması, kırık uçlarına elektriksel uyarmı, WNT aktivatörü uygulaması (mesela lityum), aralıklı venöz staz - bier uygulamaları bu grupta yer alan osteogenezi uyardığı varsayılan bazı maddelerdir(35).

2.3.1.4. Komplikasyonlarla birlikte olan faktörler

1. Enfeksiyon(anormal kemik başlığı altına bakınız)
2. Venöz staz (durgunluk)
3. Metal alerjisi

2.3.2. Sistemik faktörler

2.3.2.1. Yaş

Kırığın yeniden şekillenmesi, yeni kemik dokusu oluşumu ve mezankimal hücre farklılaşması ileri yaşla birlikte yavaşlar (25).

2.3.2.2. Genel durum

Beslenme bozukluğu ve diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi kronik hastalıklar kırık iyileşmesini yavaşlatır. Artan lökositlerin proteolitik enzimleri, matriksin bozulmasına neden olur ve osteoid oluşumunu engeller(36).

2.3.2.3. Hormonlar

Parathormon (PTH), kalsiyum ve fosfat metabolizmasında önemli bir düzenleyicidir. PTH, kemik mineral dansitesini artırır, kırık riskini azaltır ve kırık iyileşmesini artırır (37).Kalsitonin ve insülin de kırık iyileşmesini artırır. Kalsitonin, PTH'nun antagonistidir. Hem kompakt, hemde trabeküler kemik yapımını artırır. Büyüme hormonu gibi anabolizan hormonlar kırık iyileşmesini hızlandırmaktadır. Tiroid hormonu da PTH gibi kemiğin yeniden şekillenmesine yardım eder (25). Kortizon kırık iyileşmesini yavaşlatır. Kortizon, aynı zamanda kallus oluşumunu azaltır. FGF, EGF ve PDGF üzerine antagonist etki yaparak kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (6).

2.3.2.4. Vitaminler

A vitamini mezankimal hücre farklılaşmasını uyararak kırık iyileşmesine katkı sağlar. Eksikliğinde osteoblast ve osteoklast aktivitesinde bozulma olur ve kemik oluşumu yavaşlar (23).A vitamini fazlalığında ise hücre çoğalmasının olumsuz etkilenmesiyle birlikte kırıkta aşınma meydana gelir. Osteoklast dönüşümü fazla uyarılır ve kırık iyileşmesi olumsuz etkilenir. C vitamininin, dolaylı yoldan kemik iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir (23).D vitamini, normal dozlarda kırık iyileşmesini hızlandırır. D vitamini eksikliğinde Ca düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu azalır. Ayrıca kemiğin yeniden şekillenme evresinde rol oynar. Toksik dozda ise kemik iyileşmesine olumsuz etkisi vardır (38). B6 vitamini eksikliği ve K vitamini antagonistleri (warfarin) kırık iyileşmesine olumsuz yönde etki ederler (38).

2.3.2.5. İlaçlar

Kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kırık iyileşmesine yardım eder. L-Dopa ve klonidinin büyüme hormonunu arttırarak kırık iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir. İndometazin yüksek dozlarda kırık iyileşmesini durdurduğu gösterilmiştir (38).

2.3.2.6. Hiperbarik oksijen

Günde iki saat kadar 2-3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulamasının kırık iyileşmesine yardım ettiği gözlenirken, 6 saat/gün dozda uygulamaların kırık iyileşmesini geciktirdiği izlenmiştir (38).

2.3.2.7. Kırık bölgesi egzersiz ve stresleri

İyi redüksiyon yapıldıktan sonra sıkı bir tespit uygulanan kırıklara erken hareket ve kontrollü yük verilirse kemik gelişimi uyarılarak iyi sonuç alınmaktadır (6).

2.3.2.8. Elektriksel uyarı ve ultrason

Gecikmiş kaynama ve kaynamama tedavisinde elektromanyetik uyarı 1970'li yılların başından beri kullanılmakta ve %64 ile %85 arasında değişen başarı oranları bildirilmektedir, ancak hala taze kırıkların tedavisinde etkili olduğu ispatlanamamıştır (37).

2.3.2.9. Merkezi sinir sistemi travması

Uzun kemiklerde ve eklemlerde osteogenesisi artırır.

2.3.3. Kırık iyileşmesinin kontrolü

Kırık oluşması sonrası ilk anda ortamda bulunan osteoblast ve osteoklast miktarı iyileşme için yeterli yoğunlukta değildir. Kırık iyileşmesi için gerekli olan kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ile yerel aracılı mekanizmalar oluşmalıdır. Kırık sahasında bölgesel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, kemik dengesini koruyabilen kenetleyici faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir (39).

2.3.3.1. Prostoglandinler (PG)

Araşidonik asitten meydana gelen ve hücre membranında bulunan yağ asit türevleridir. Akut inflamasyon için önemli araçlardan olup inflamatuvar hücrelere kemotaktik etkiye sahiptirler. Güçlü vazodilatatördürler ve hücre çoğalmasını uyarırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler. Hücre içine ve dışına Ca hareketini kolaylaştırırlar. PGE2 ve PGI2'nin kemik geri emilim gücü fazladır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır. PGF2 α , kondrogenesis ve kondroliziste etkilidir. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; EGF, TGF α , PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE2 aracılığıyla göstermektedir (39).

2.3.3.2. Kemik uyarıcı faktörler

Farklılaşmamış mezankimal hücrelerin mitozunu uyarırlar ve yeni kemik hücrelerinin oluşumunu sağlarlar (39). Başlıcaları şunlardır:

1. Dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β): Doku tamiri ve inflamasyondan sorumludur. Başlıca kaynağı trombositler ve kemiğin hücre dışı matriksidir. TGF- β kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve encondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır.
2. Kemik morfojenik proteini (BMP): Hasarlanan kemik kaynaklı morfogenetik proteindir. Mitojenik ve dönüştürücü etkiye sahiptir. Mezankimal hücrelerin kırıkta ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu düşünülmektedir. BMP'nin 1-10 arası on altı grubu vardır. BMP-7 osteojenik protein 1, BMP-8 ise osteojenik protein 2 olarak bilinir.

3. Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü (FGF): Fibroblastlar ve kırıkta için mitojeniktir. Kırık oluşumu aşamasında kallusu genişletir.
4. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF): Kemik hücreleri ve fibroblastlar için mitojeniktir. Hem kırık sahasında hem de kan dolaşımında da bulunabilmektedir. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezankimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacminin arttığı gösterilmiştir.
5. İnterlökinler (IL): Makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE-2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler.
6. Plazma fibronektini: Damarlanmayı artırır.
7. Somatomedin C: İskelet sistemi üzerinde büyüme hormonuna benzer etkisi vardır. Kondroblastların bölünme ve farklılaşmalarını, ayrıca kemik matriksi oluşumunu hızlandırır.
8. Epidermal büyüme faktörü (EGF): Kemik geri emilimini hızlandırır.
9. Kondroblast kökenli büyüme faktörü (CDGF): Hiyaluronik asit ve tip2 kollojen için düzenleyicidir.
10. Makrofaj kaynaklı büyüme faktörü (MDGF): Sıçanlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir.
11. Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörü (ECGF): Kırıkta ve kemik için mitojeniktir.
12. Endotelial hücre kaynaklı büyüme faktörleri (ECDGF): Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

2.4. Kanama Fizyolojisi

2.4.1. Hemostaz, koagülasyon ve fibrinolitik sistem

Damar bütünlüğünün bozulmasıyla beraber hemostaz(kanamamanın önlenmesi) başlar. Hasarın ardından öncelikle endotelial mediatörler salgılanır ve vazokonstrüksiyon oluşur. Buna vasküler faz denir. Bölgeye trombosit adhezyonu başlar ve trombositlerin agregasyonu gerçekleşir. Böylece trombosit tıkaçı oluşur ve trombosit fazına geçilmiş olur. Plazma fazı ise t-Pa'nın salgılanmasıyla başlar ve plazma faktörleriyle birlikte fibrin tıkaçını oluşturur.

2.4.1.1. Vazospazm

Endoteldeki hasarlanma hemen vazokonstrüksiyona neden olarak o bölgedeki kan akımında geçici yavaşlamaya neden olur. Böylece hem kan kaybı azalır hem de koagülasyon faktörlerinin toplanması için zaman kazandırılır.

2.4.1.2. Trombosit plağı oluşumu

Kandaki trombosit sayısı ortalama 150.000-400.000/dl' dir. Kompleks hücreler olan trombositlerin ortalama ömrü 10 gündür. Damar duvarındaki hasarlanma ile aktive olarak morfolojik ve fizyolojik değişime başlarlar. Plak formasyonuna geçerek damar duvarındaki hasarı kapatmak için duvara ve birbirlerine adezyon kapasiteleri artar. Aynı zamanda serotonin, tromboksan A2 gibi kimyasal faktörler salgılayarak vazospazma neden olurlar. Koagülasyon sistemini aktive ederler. Trombositlerin görevlerini düzgün yapabilmesi için hem sayıca hem de fonksiyonca yeterli olmaları gerekir. Trombosit sayısındaki artış veya azalma kanamaya neden olabilir.

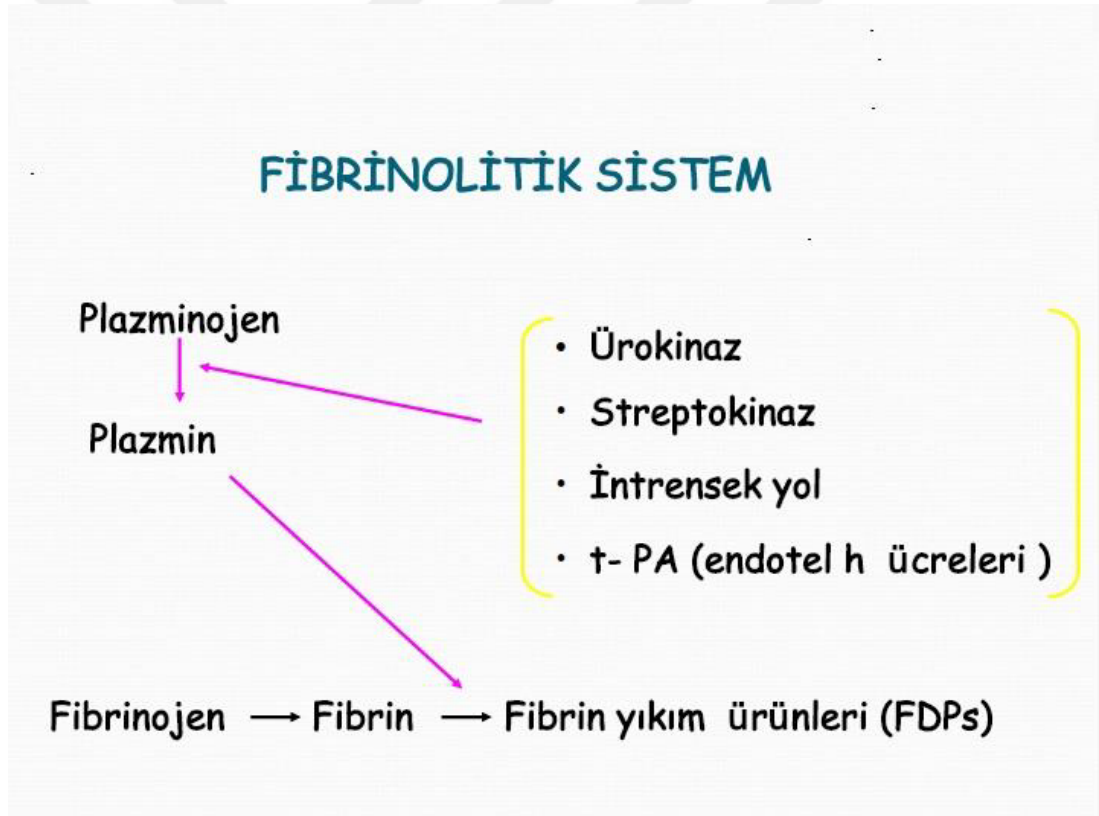
Trombositlerin plak formasyonu oluşum aşamasında farmakolojik olarak müdahale edilebilir. Örneğin asetilsalisilik asit, trombosit fonksiyonlarını engelleyerek trombozisi azalttığı için inme ve kalp krizinde sıkça kullanılmaktadır. Dipiridamol ve klopidoğrel defarklı mekanizmalarla trombosit fonksiyonlarını etkileyerek kanın akışkanlığını arttıran diğer iki ilaçtır.

2.4.1.3. Koagülasyon ve fibrinolizis

Koagülasyon sistemi, birçok koagülasyon faktörünün bir dizi karmaşık enzimatik reaksiyonu ile fibrinojenin fibrine dönüşümünü ve ayrıca trombosit plağının stabilizasyonunu içerir. Böylece tromboz oluşur. Fibrinojenin fibrine dönüşmesi trombin tarafından katalize edilir. Trombin, bu serum proteaz formuna aktif faktör X'un protrombini aktive etmesi ile dönüşür. Faktör X aktivasyonu ise intrinsik veya ekstrinsik yol aracılığıyla oluşur (Şekil 6).

Klinik gereklilik durumunda hem koagulasyon hem de fibrinolizis sistemi manipüle edilebilir. Pulmoner emboli (PE) veya Derin ven trombozu (DVT) durumlarında hastalar warfarin ile tedavi edilebilir. Warfarin, K vitamini metabolizmasını etkileyerek koagülasyon faktörlerinin sentezini inhibe eder ve daha az pıhtı oluşumunu sağlar. Benzer şekilde miyokard infarktüsü (MI) hastaları erken dönemde rekombinant teknoloji ile üretilmiş bir plazminojen aktivatörü olan alteplaz ile tedavi edilebilirler.

Buna zıt biçimde, yoğun kanamaları önlemek veya kontrol altına almak amacıyla aprotinin, epsilon aminokaproik asit (EACA) ve TA gibi antifibrinolitik ajanlar ise fibrinolitik sistemi inhibe edip erken pıhtı erimesini engelleyerek ciddi kanamaları önlerler.



Şekil 7. Fibrinolitik sistem

2.4.2 Antifibrinolitikler ve traneksamik asit(TA)

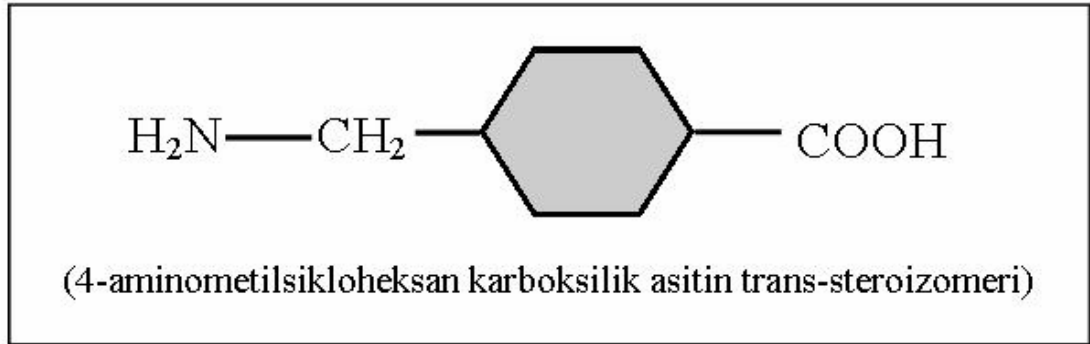
TA gibi antifibrinolitik ajanlar fibrinolitik sistemi inhibe ederek pıhtının lizisini geciktirirler. Böylelikle de kanamayı önlemiş olurlar. Bu etkilerinden dolayı pekçok

tıbbi branşta geniş bir kullanım alanı bulmuşlardır. Travma hastaları, kardiyovasküler cerrahi, tonsillektomi, dental girişimler, prostat cerrahisi sonrasındaki kanamaları, hemofili hastalarındaki kanamaları ve ağır menstrüel kanamayı başarılı şekilde durdururlar(41-42).Genel olarak kullanılan üç ajan vardır:

- Traneksamik asit (TA)
- Aprotinin
- Epsilon aminokaproik asit (EACA)

2.4.2.1. Traneksamik asit(TA)

Traneksamik asit etkinliğini plazminojen üzerindeki lizin bağlayan bölgeleri reversibl bloke ederek ve fibrin degradasyonunu önleyerek gösteren sentetik lizin türevidir. EACA'ye benzer farmakolojik özellikler gösterir. Fibrinolizis inhibisyonuna neden olan antifibrinolitik bir ajandır (43-23). (Şekil 8)

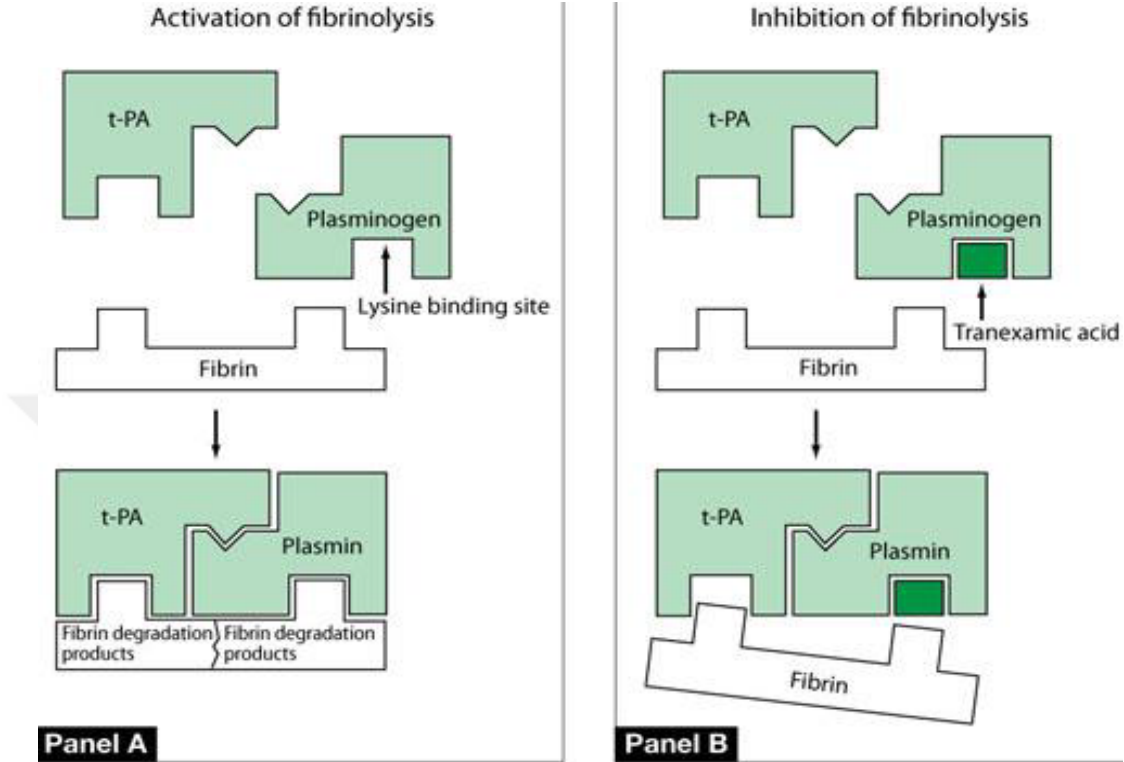


Şekil 8. TA kimyasal yapısı

TA'nın plazmini inhibe etme potansiyeli EACA'dan yaklaşık 10 kat daha fazladır. Fibrinolizi izleyen kanamalı durumların koruyucu tedavilerinde kullanılır. Oral yolla alındığında (20mg/kg) hızlı absorbe olur ve 2-3 saat sonra kanda maksimum konsantrasyona ulaşır. İntravenöz uygulandığında hemen maksimum konsantrasyona ulaşır ve 6. saatten sonra düşmeye başlar. Yarı ömrü 3 saattir. Traneksamik asit topikal olarak da kullanılmaktadır(44-45).

Plazminojen veya plazmin ile geri dönüşümlü kompleksleroluşturmaktadır. Plazminojenin lizin bağlanma alanına aminokaproik asit veya traneksamik asit ile birleşirse plazminojenin yeri değişir ve aktif formu olan plazmin de yer değiştirerek

fibrin yüzeyinden uzaklaşır(Şekil 9). Plazminojenin fibrine bağlanmasının bloke olması ile plazminojenin aktivasyonu da önlenir ve fibrinoliz bloke edilmiş olur(46-47).



Şekil 9. TA etki mekanizması

Traneksamik asit yaygın damar içi pıhtılaşmadan şüpheleniliyorsa, mesanenin proksimalinde üriner kanama varsa, ağır böbrek yetmezliğinde kontraendikedir.

Erişkinlerde 24 saatte 2-4 gr, 2-3 enjeksiyonla uygulanır. Çocuklarda 20mg/kg/gün dozunda verilir ve i.v. enjeksiyonlar çok yavaş yapılmalıdır. İlacın biyoyararlanımı gıdalardan etkilenmez(44-45).

Dağılım hemen tümüyle ekstrasellülerdir. Plazma proteinlerine çok az bağlanır. Yaklaşık olarak %3 oranında plazminojene bağlanır. Traneksamik asit kan-beyin bariyerini aşar, sinovyal sıvıya, sinovyal zara, plasentaya ve anne sütüne geçer. Çeşitli dokularda 17 saat, serumda ise 7-8 saat süreyle antifibrinolitik konsantrasyonlarda bulunur. İlaç idrar yolu ile atıldığından böbrek fonksiyon bozukluğunda vücutta birikebilir. Bu nedenle böbrek yetersizliği olan hastalarda doz ayarlaması gerekir(48-49).

Traneksamik asitin yan etkisi olarak bacakta kramp, kusma, diyare gibi gastrointestinal şikayetler görülebilmektedir. Hızlı intravenöz uygulama yapıldığında nadiren hipotansiyon ve baş dönmesi görülebilmektedir. Heparin, kumarin türevleri, salisilatlar veya antiagreganlarla birlikte kullanıldığında diğer antifibrinolitikler gibi traneksamik asitin de etkisi azalabilmektedir (48-49).

2.5. İnterlökin-6

Farklılaşmış modifiye fosfoglikoproteinden oluşan IL-6 hasaracevap olarak ortalama 60 dakika içinde salınmaktadır (50). İnflamatuar stimulusa yanıt olarak monosit - makrofajlar, B hücreleri, Th hücreleri, timusun stroma hücreleri, megakaryositler, endotelial hücreler, keratinositler ve fibroblastlar tarafından sentezlenmektedir. Yapımında rol oynayan diğer bölgeler ön hipofiz, hipotalamus ve böbreküstü bezi korteksidir. Yapımı TNF- α , IL-1, IFN- γ , PDGF ve virusler tarafından induklenirken sentez ve salınımı IL-4, IL-10 ve IL-13 tarafından inhibe edilmektedir (51).

IL-6 travmadan sonraki ilk saatlerde TNF- α ve IL-1 tarafından induklenmesi sonucu salınmaktadır. Yarı ömrü her iki sitokinden daha uzundur. Dolaşımında 60 dakikada belirmeye başlamakta, 4-6 saatte pik yaparak 10 gün dolaşımında kalmaktadır (52).

Kırık iyileşme sürecinde, başlangıç evresinde TNF alfa, IL-1, IL-6, IL-11 ve IL-18 düzeyinde artış görülür. İyileşmede birçok interlökinin etkisi vardır; fakat IL-1 ve IL-6'nın daha önemli ve kritik olduğu bilinmektedir. Makrofajlarla IL-1 düzeyi artması, osteoblastlardan IL-6 salınımını artırır; kırıkta kallus gelişimini; ILR-1 (interlökin reseptör 1) ve ILR-2 (interlökin reseptör 2) reseptörlerini etkileyerek damarlanmayı uyarır. IL-6 sadece akut fazda salgılanır; VEGF salınımını artırıcı, damarlanmayı, osteoblast ve osteoklast farklılaşmasını uyarıcı etki yaratır.

2.6. İndüklenebilir NOS (iNOS)

NOS enzimi kimyasal ve kinetik özellikleri bakımından indüklenebilir ve yapısal olarak temelde iki şekilde gruplandırılır. 3 farklı tip gen tarafından kodlanan NOS'lar 3 farklı izoform şeklinde sentezlenir. Bu izoformlar; nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) dur. eNOS ve nNOS yapısal enzim özelliği gösterirken, iNOS çeşitli uyarılarla indüklenebilmektedir (53-55). Makrofajlardan izole edilerek gösterilen bir NOS izoformu olan

iNOS sitoplazmik bir enzimdir (56). iNOS hem membrana bağılı hem de sitosolik formda bulunabilmektedir. Diğer NOS izoformlarından farkı Ca'dan bağımsız olmasıdır. Uyarana bağılı olarak uzun süreli NO üretebilir (53, 56). iNOS'un bağışıklık sistemini düzenleyici etkisi vardır. Hepatositlerde, endotel hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde, hepatositlerde, kondrositlerde, keratinositlerde, mast hücreleri ile monosit, makrofaj, mikroglia, Kupffer hücreleri, eozinofil ve nötrofilleri de içeren fagositik hücrelerde de üretilmektedir (57,58).

iNOS normal koşullarda vücutta sentezlenen bir enzim değildir. Lipopolisakkarit (LPS), sitokinler (IFN γ , IL-1, TNF- α v.b.) gibi faktörler iNOS enzimini uyarıp aktif hale getirmektedir. Enzim uzun süreli etkisini gösterir. LPS, IFN γ , IL-1, TNF- α , en önemli fizyolojik indükleyici olarak görev yaparlar. iNOS'un aktivitesi transkripsiyon-transkripsiyon sonrası, translasyon-translasyon sonrası düzeylerde kontrol edilmektedir (59). iNOS, uyarıcısına ve hücre tipine bağılı olarak, farklı sinyal yollarını ve transkripsiyonel faktörleri aktive edebilir.

NO; pro-enflamatuar sitokinler, mekanik gerginlik ve cinsel hormonlar gibi farklı uyaranlara cevap olarak üretilen, kemikteki önemli bir sinyal molekülüdür. NO, kemik hücrelerinin fonksiyonuna ve kemik remodeling işlemine aracılık eder (60,61). NOS izoformlarının üçü de kırık iyileşme sürecine dahil olurken, indüklenebilir NOS (iNOS), osteoblastların NO tarafından uyarılmasında rol oynayan birincil izoform olarak görülmektedir (62-66). iNOS geni seçici bir şekilde silindiği zaman, kırık iyileşmesinin bozulduğu, indüklenerek ise iyileşmenin aktive edildiği gösterilmiştir (67).

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Deney ve Denekler

Traneksamik asitin rat femur kırığı iyileşmesine olan etkisini araştırdığımız deneysel çalışmamız; Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra nisan 2017 ve Aralık 2018 tarihleri arasında Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

Çalışmaya denek olarak Ortalama 250-300 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi 64 erişkin erkek rat dahiledildi. Ratlar oda sıcaklığında sekiz farklı grup olacak şekilde kafeslere yerleştirilerek istedikleri kadar standart rat yemi ve su ile beslendi. Çalışma süresi boyunca rat kafesleri 4 günde bir düzenli olarak temizlendi.Oluşturulan gruplara yapılacak işlem planı özetle:

Grup A: Femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve traneksamik asit uygulanmayan 2. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

Grup B: Femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve traneksamik asit uygulanmayan 4. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

Grup C: Femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve intraperitoneal 30mg/kg dozunda traneksamik asit uygulanan 2. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

Grup D: Femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve intraperitoneal 30mg/kg dozunda traneksamik asit uygulanan 4. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

Grup E: Femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve intraperitoneal 100mg/kg dozunda traneksamik asit uygulanan 2. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

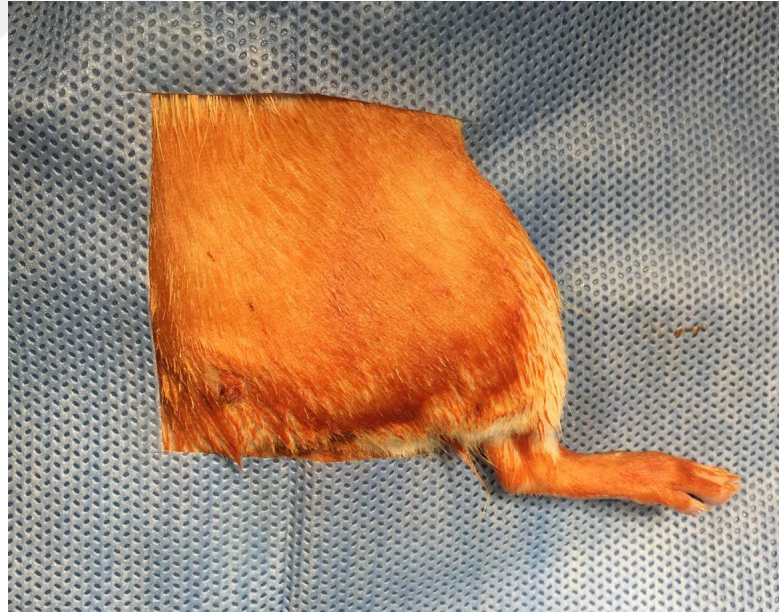
Grup F: Femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve intraperitoneal 100mg/kg dozunda traneksamik asit uygulanan 4. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

Grup G: Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve lokal 50mg/kg traneksamik asit uygulanan 2. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

Grup H: Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve lokal 50mg/kg traneksamik asit uygulanan 4. hafta sonunda incelenecek olgulardan oluşmaktadır. (n=8)

3.2. Cerrahi Teknik

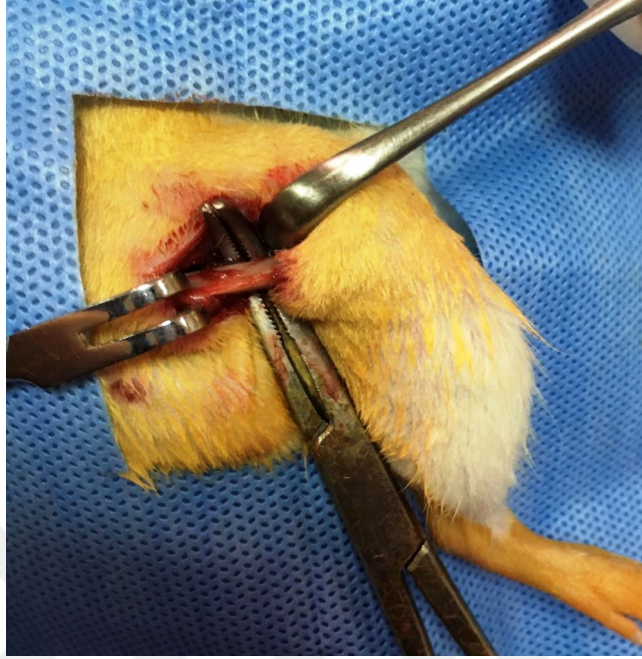
Elektronik tartı yardımıyla ratların ağırlıkları tartılarak her deneğe ayrı şekilde anestezi ilaç dozu hesaplandı. Tüm gruplara deneyin ilk günü 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar ®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer, Türkiye) intraperitoneal olarak sol kasık bölgesinden verilerek anestezi uygulandı. Ratların pozisyonunda yerleştirildi. Cerrahi alan traş edildi. Betadine scrub (10% povidoneiodine, Merkez-Türkiye) solüsyonu ile lokal saha temizliği yapıp ratlarda steril alan oluşturuldu.



Resim 1. Ratın uyluğunun ameliyat için hazırlanması.

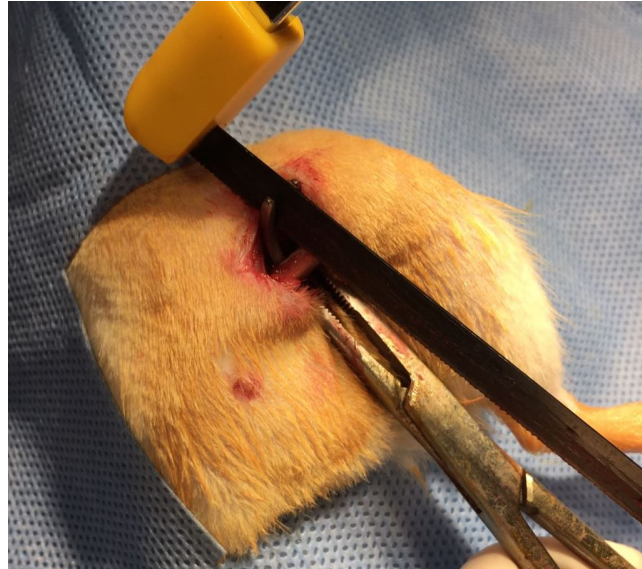
Uygun saha temizliği ve örtümü sonrasında sağ uyluk cildi lateraldenlongitudinal insizyonla yaklaşık 2 cm açıldı. Fasia geçildi ve kas yapıları

ulaşıldı. Femur diafizinin tam ortasına gelecek şekilde yumuşak dokular kemikten sıyrıldı.



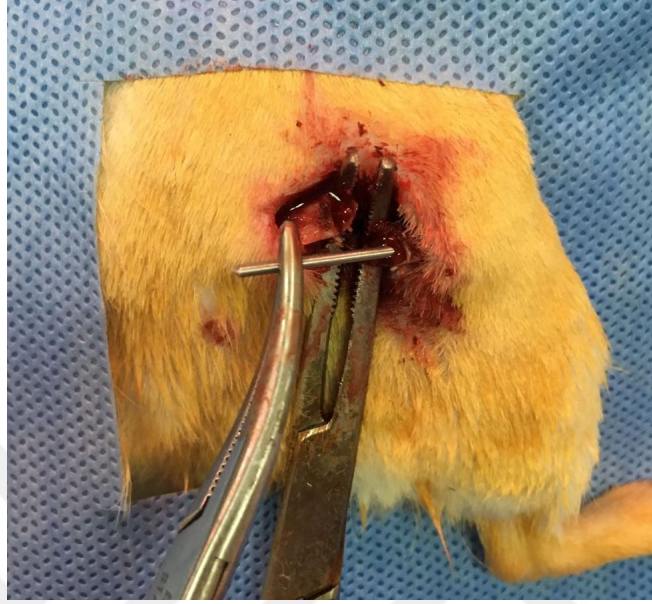
Resim 2. Femurun yumuşak dokulardan ayrılarak ortaya konması

Femurun orta 1/3 lük diafiz kısmı ortaya konduktan sonra bu bölgeden testere yardımıyla osteotomize edildi.



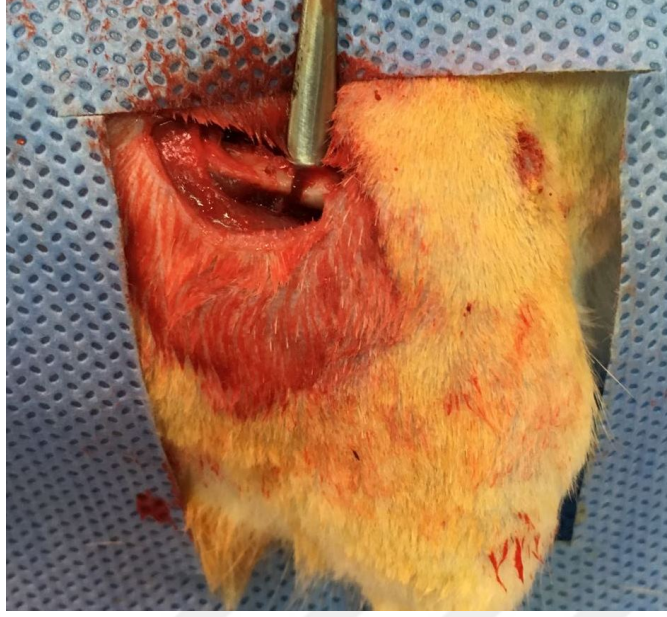
Resim 3. Femurun testere yardımı ile osteotomize edilmesi

Kırık hattından distale doğru antegrad olarak 1 mm'lik Kirschner teli diz hiperfleksiyondayken nazıkçe ilerletildi ve patellar ligamentin medialinden çıkması sağlandı.



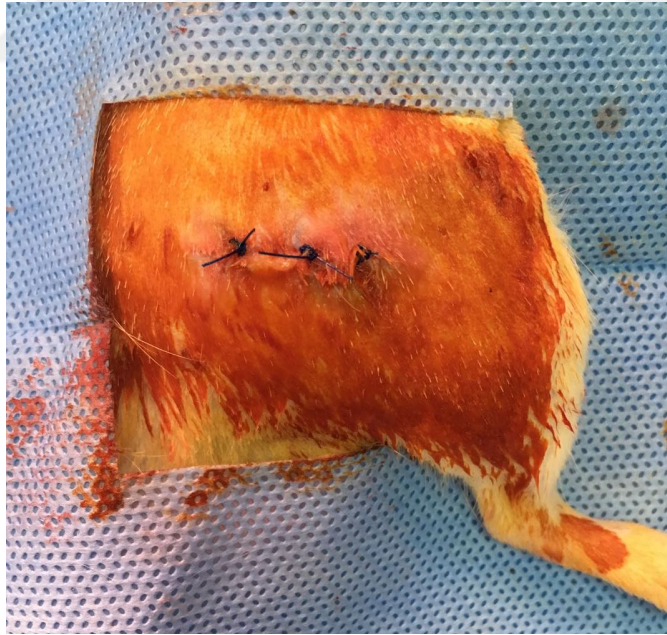
Resim 4. Kirschner telinin yerleştirilmesi

Kirschner teli distale doğru çekildi ve kırık hattı redükte edildikten sonra retrograd olarak proksimale doğru ilerletildi. Sertleřtiėi yerde yaklaşık 2 mm ilerletilip geri çekilen kirschner teli, tel makasıyla diz bölgesinden kesildi. Ardındantelin tamamının gömülmesi için başka bir telin ucuyla tekrar ilerletilerek fiksasyontamamlandı.



Resim 5. Fikse edilmiş femur

Cilt 3/0 prolene ile kapatıldı. Sonrasında yara yeri batikon ile temizlenerek rat cerrahi masasından alındı.



Resim 6. Uyluğun son görüntüsü

Cerrahi işlem sonrasında intraperitoneal yolla 10 mg/kg dozunda Tramadol (Ultrameks® ADEKA, Samsun, Türkiye) analjezik olarak verildi. Yapılan cerrahi işlemin ardından ratlar herhangi bir eksternal tespit yöntemi uygulanmadan normal

beslenme ve yaşam koşullarına bırakıldı. Anestezinin etkisi geçtikten sonra, ratların kırık ekstremitesine yük vermesinde herhangi bir kısıtlamaya gidilmedi.

Grup C ve D olgularına, rutin uygulamaya ek olarak preoperatif 1 doz 30mg/kg ip traneksamik asit enjeksiyonu yapıldı Grup E ve F olgularına, rutin uygulamaya ek olarak preoperatif 1 doz 100mg/kg ip traneksamik asit enjeksiyonu yapıldı Grup G ve H olgularına, rutin uygulamaya ek olarak intraoperatif 1 doz 50mg/kg traneksamik asit kemiğe ve etraf yumuşak dokuya lokal olarak enjekte edildi. Kırık bölgesinde ilaç göllendirilerek 3 dk bekletildi.



Resim 7. Lokal TA uygulanması

Cerrahi sonrası 2. haftada A-C-E-G grupları anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Ratların sağ femurlarına kalçadan ve dizden dezartikülasyon uygulandı. Ratların sağ femurlarının ön-arka röntgen grafileri çekildikten sonra yumuşak dokuları diseke edilerek rat femurları %10 luk formaldehit içine koyularak histolojik değerlendirme için Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Rutin Laboratuvarına gönderildi.

Cerrahi sonrası 4.haftada B-D-F-H grupları anestezi uygulandıktan sonra servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Ratların sağ femurlarına kalçadan ve

dizden dezartikülasyon uygulandı. Ratların sağ femurlarının ön-arka röntgen grafileri çekildikten sonra yumuşak dokuları diseke edilerek rat femurları %10 luk formaldehit içine koyularak histolojik değerlendirme için Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Rutin Laboratuvarına teslim edildi.

3.3. Radyolojik İnceleme

Servikal dislokasyonla kurban edilen ratların kalça ve diz eklemlerinden dezartikülasyonu yapılarak çıkarılan sağ femurları röntgen kasetlerine yerleştirilerek ön-arka direk röntgenleri çekildi. Elde edilen görüntülerin skorlaması Lane-Sandhu radyolojik puanlama sistemine (68)göre yapıldı(Tablo 1).Çalışmadan bağımsız ve gruplardan haberi olmayan iki ayrı ortopedist tarafından skorlama yapıldı.

Tablo 1. Lane-Sandhu puanlama sistemi

	Puan
Kemik oluşumu	
Kemik oluşumunun olmaması	0
Kemik oluşumunun defektin %25’ni doldurması	1
Kemik oluşumunun defektin % 50’ni doldurması	2
Kemik oluşumunun defektin % 75’ni doldurması	3
Kemik oluşumunun defektin tamamını doldurması	4
Kaynama	
Bariz kırık görülmesi	0
Kısmi kırık görülmesi	2
Kırık hattının görülmemesi	4
Yeniden yapılanma	
Yeniden yapılanmanın görülmemesi	0
Medüller kanalın yeniden yapılanması	2
Korteksin tamamen yeniden yapılanması	4

3.4. Histolojik İnceleme

Dokuların ışık mikroskopik inceleme için işlemlendirilmeleri BEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Rutin Histoloji Laboratuvarında

gerçekleştirildi. Anestezi altında sakrifiye edilen deneklerden çıkarılan femur örnekleri, % 10'luk nötral formalin ile 2 hafta süre ile fiske edildikten sonra, akar çeşme suyunda yıkama işlemine alındı. Ardından örnekler %10'luk EDTA solusyonunda dört hafta süre ile dekalsifiye edildi. Yapılan yıkama işlemi ardından dokular dehidratasyon için, 1 gün süre ile % 70'lik alkolde ve ardından artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) birer saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma ve optimum inklüzyon için dokular 15'er dk süre ile ksilol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 55 °C'de 1 gece bekletildi. Ardından femur örnekleri, Bio Optica marka parafin dispenser ile bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan, Shandon Finesse 325 marka rotary mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığında longitudinal kesitler alındı. Bu kesitler femur dokusunun genel özelliklerini ortaya koyabilmek için Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyandı. İyileşmenin histolojik olarak skorlaması ışık mikroskobu altında Huo ve arkadaşlarının yayınladığı (69)histolojik kırık iyileşme skorlamasına göre yapıldı (Tablo 2). Tüm inceleme ve bulguların fotoğraflandırılmasında, Zeiss AX10 marka foto-mikroskop cihazı kullanıldı.

Tablo 2. Kırık iyileşmesinin histolojik değerlendirilmesinde kullanılan skorlama kriterleri

Skor	Kırık bölgesi histolojik bulguları
1	Fibröz doku
2	Ağırlıklı fibröz doku ve az oranda kıkırdak doku
3	Eşit miktarda fibröz doku ve kıkırdak doku
4	Kıkırdak doku
5	Ağırlıklı olarak kıkırdak ve az miktarda immatür kemik
6	Eşit oranda kıkırdak ve immatür kemik
7	Ağırlıklı olarak immatür kemik ve az oranda kıkırdak
8	Tamamen İmmatür kemik
9	İmmatür kemik ve az miktarda matür kemik
10	Matür (lamellar) kemik

3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme

Hazırlanan parafin bloklardan Shandon Finesse 325 marka rotary mikrotom kullanılarak 5 mikron (μ) kalınlığında kesitler alındı ve bu kesitlere, IL-6 ve iNOS aktivitesini araştırmak amacıyla, immünohistokimyasal ABC (Avidin-Biotin Kompleks) yöntemi uygulandı. Alınan kesitler ilk olarak deparafinizasyon işlemi için, 55 °C'de 1 gün, ardından 61 °C'de 1 saat inkübe edilip sırasıyla ksilen ve alkol serilerinden geçirilerek suya indirildi. Dokuda formaldehit fiksasyonundan kaynaklanan reseptör maskelenmesini önlemek için sitrat tamponuna alınan kesitlere mikrodalga fırında yüksek ısı uygulandı. Antijenik determinant bölgelerinin açığa çıkarılmasından sonra kesitler sitrat solüsyonundan distile suya alınıp 20 dk oda sıcaklığında tutuldu. Daha sonra kesitler PBS (phosphate buffered saline) içerisinde 3 defa çalkalandıktan sonra, endojen peroksidaz aktivitesini önlemek amacıyla 15 dk süreyle %3'lük hidrojen peroksit ile muamele edildi. Nonspesifik bağlanmayı önlemek amacıyla yapılan 5 dk'lık Ultra V block (LabVision, TA-015-UB) uygulamasını takiben anti-IL-6, anti-iNOS, primer antikorları kesitlere nemli bir ortamda 1 saat oda ısısında uygulandı. Primer antikor aşamasından sonra, kesitler PBS' e alınıp, uygun sekonder antikor (Biotinylated Link, Dako, K0609) ile 30 dk muamele edildi. Ardından tekrar PBS'e alınan kesitlere 10 dk Streptavidin peroksidaz (Streptavidin HRP, Dako, K0609) kompleksi uygulandı. Süre bitiminde PBS'e alınan kesitlere immün reaksiyon gerçekleşinceye kadar (mikroskop altında) diaminobenzidine (DAB) kromojen solüsyonu (Vector, SK-4100) uygulandı, zıt boyama Mayer's hematoksilen ile yapıldı. Son olarak, kesitler alkol serilerinden geçirilip, ksilen ile muamale edildikten sonra entellan ile kapatıldı. Hazırlanan tüm preparatlar Zeiss marka Axiolab A1 araştırma mikroskobu altında değerlendirilerek fotoğraflandırıldı. Grupların immünohistokimyasal boyanmalarında, boyanma yoğunluğu (i); 1 (az), 2 (orta) ve 3 (çok) olarak belirlendi. Boyanan hücrelerin yüzdesi (Pi) %0-100 arasında değerlendirildi. İmmünboyanma histolojik skorumla sistemiyle (H-skor = H-SCORE) şu denkleme göre hesaplandı: $H-SCORE = \sum P_i (i + 1)$. 1 optik yoğunluğun düzeltilmesi için kullanıldı.

3.6. İstatistiksel İnceleme

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Dunn testi ile yapıldı ve tüm değerlendirmeler için $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Radyolojik Bulgular

Çalışmadaki tüm deneklerin röntgen görüntüleri gruplardan habersiz iki farklı ortopedist tarafından Lane-Sandhu skorlama sistemine göre puanlandı (68). Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). 2. haftada incelenen ip 30 mg/kg TA verilen grup (grup C); 4. haftada incelenen kontrol (Grup B) ($p=0.002$), ip 100 mg/kg (Grup F) ($p=0.029$) ve lokal 50 mg/kg (grup H) ($p=0.002$) TA uygulanan gruplardan anlamlı şekilde düşük bulundu. 2. haftada incelenen 100 mg/kg TA verilen grubun (Grup E), 4. haftada incelenen kontrol (Grup B) ($p=0.002$) ve lokal 50 mg/kg (Grup H) ($p=0.002$) TA uygulanan gruplara göre anlamlı şekilde düşük olduğu saptandı. 2. haftada incelenen 50 mg/kg lokal TA uygulanan grubun (Grup G) ise, 4. haftada incelenen kontrol (Grup B) ($p=0.002$) ve lokal 50 mg/kg (Grup H) ($p=0.002$) TA uygulanan gruplardan anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü.

2. haftada incelenen gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde 4 grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.398$) (Tablo 3).

4 haftalık gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında radyoloji skoru bakımından fark anlamlı bulundu ($p=0.008$) (Tablo 3). Grupların ikili karşılaştırmalarında ip 30 mg/kg TA verilen grubun (Grup D); kontrol grubundan

(Grup B) ($p=0.024$) ve lokal 50 mg/kg TA uygulanan gruptan (Grup H) ($p=0.015$) anlamlı şekilde düşük skorlara sahip olduğu görüldü.

2. haftada değerlendirilen örneklerde bariz kaynama ve yeniden yapılanma gözlenmezken, özellikle kontrol grubunda (Grup A) diğer gruplara göre kemik oluşumunun bir miktar ön plana çıktığı görüldü (Resim 8). 2 haftalık grupların aralarındaki ikili karşılaştırmalarında ise anlamlı fark bulunmadı.

4. haftada değerlendirilen örneklerde kontrol grubuyla (Grup B), lokal TA uygulanan grupta (Grup H) kemik oluşumunun tama yakın olduğu, kaynamanın gerçekleşmeye yakın olduğu ve medullada yeniden yapılanmanın olduğu görüldü. 100 mg/kg ip TA uygulanan grupta (Grup F) ise kemik oluşumunun %50-75, kaynamanın kısmi olduğu görüldü. 30 mg/kg ip TA uygulanan grupta (Grup D) kaynamanın ve yeniden yapılanmanın daha düşük olduğu gözlemlendi (Resim 9). 4 haftalık grupların ikili karşılaştırmaları değerlendirildiğinde anlamlı fark tespit edilmedi.

Tablo 3. Tüm grupların radyolojik skorları

	Gruplar	Radyolojik skorlar	P*
2. hafta	A	2,68±2,08	0.398
	C	1,18±1,03	
	E	1,81±1,33	
	G	1,68±1,06	
4. hafta	B	6,43±1,61	0.008
	D	2,81±1,68	
	F	5,25±2,43	
	H	6,25±1,64	

* Kruskal-Wallis varyans analizi



(A)

(C)

(E)

(G)

Resim 8. 2. Haftada incelenen grupların röntgen görüntüleri



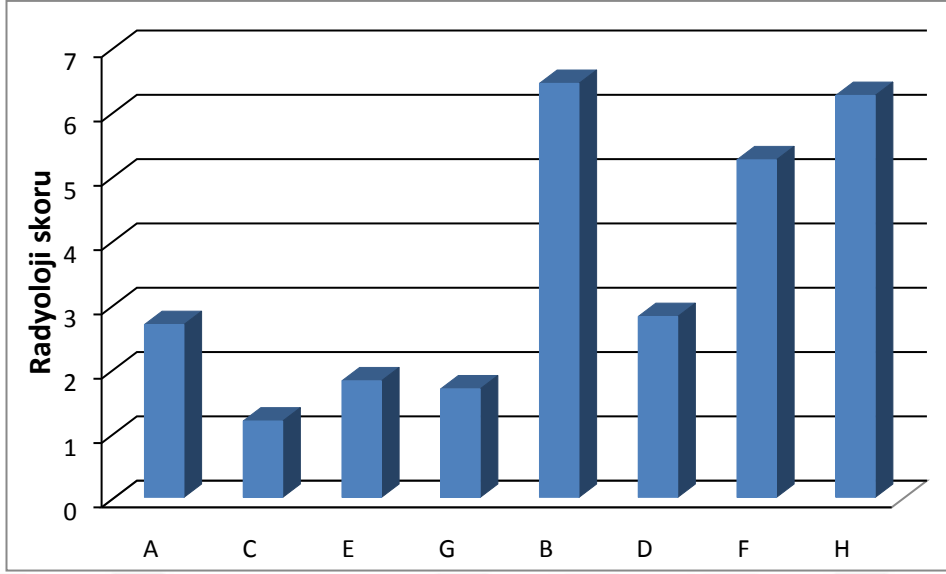
(B)

(D)

(F)

(H)

Resim 9. 4. Haftada incelenen grupların röntgen görüntüleri



Grafik 1. Radyolojik skorlamanın gruplara göre dağılımı

4.2. Histopatolojik Bulgular

Yapılan radyolojik ve klinik incelemelerin ardından tüm gruplara ait deneklerden çıkarılan femur örneklerinden, mikroteknik işlemler sonrasında parafin bloklar elde edildi. Her bir femurdan longitudinal düzlemde dört adet kesit alındı. Hematoksilen-Eozin boyaması yapılarak elde edilen preparatlar, histopatolojik değerlendirmeye alındı. Her bir kesit Huo ve arkadaşları tarafından belirtilen kriterler (69) göz önünde bulundurularak skorlandı. Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). Tüm grupların yapılan ikili grup karşılaştırmalarında 2. haftada incelenen ip 30 mg/kg TA verilen grup (Grup C), 4. haftada incelenen kontrol (Grup B) ($p<0.001$), ip 100 mg/kg (Grup F) ($p=0.026$) ve lokal 50 mg/kg (Grup H) ($p=0.001$) TA uygulanan gruplardan anlamlı şekilde düşük bulundu. 2. haftada incelenen 100 mg/kg TA verilen grup (Grup E), 4. haftada incelenen kontrol (Grup B) ($p<0.001$), 4. haftada incelenen 100 mg/kg ip (Grup F) ($P=0.008$) ve lokal 50 mg/kg (Grup H) ($p<0.001$) TA uygulanan gruplarla karşılaştırılmasında anlamlı şekilde düşük saptandı. 2. haftada incelenen 50 mg/kg lokal TA uygulanan grubun (Grup G) ise, 4. haftada incelenen kontrol (Grup B) ($p<0.001$), 100 mg/kg ip (Grup F) ($p=0.035$) ve lokal 50 mg/kg (Grup H) ($p=0.001$) TA uygulanan gruplardan anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi. 2. haftada incelenen kontrol grubu değerlerinin (Grup A) ise, 4. haftada incelenen kontrol

grubundan (Grup B) anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p=0.028$). 2. haftada incelenen ilaç uygulaması yapılan tüm gruplar (C,E,G), 4. haftada incelenen D grubu dışındaki tüm gruplardan anlamlı şekilde düşüktü.

2. haftada incelenen gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında histoloji skoru bakımından fark anlamlı bulundu ($p=0.003$) (Tablo 4). İkili karşılaştırmalarda kontrol grubunun (Grup A); ip 30 mg/kg TA uygulanan gruptan (Grup C) ($p=0.003$), ip 100 mg/kg TA uygulanan gruptan (Grup E) ($p=0.03$) ve lokal TA uygulanan gruptan (Grup G) ($p=0.048$) anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edildi.

4. haftada incelenen gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında histoloji skoru bakımından fark anlamlı bulundu ($p<0.001$)(Tablo 4). İkili karşılaştırmalarda 30 mg/kg ip uygulama yapılan grubun (Grup D); kontrol grubundan (Grup B) ($p<0.001$) ve lokal uygulama yapılan gruptan (Grup H) ($p=0.004$) anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi. Ayrıca 100 mg/kg ip uygulama yapılan grubun da (Grup F) kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük olarak belirlendi ($p=0.004$).

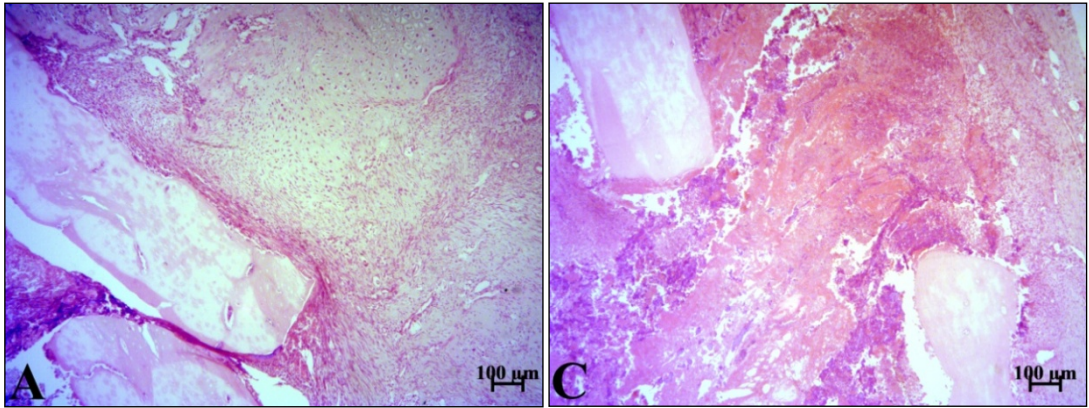
Tablo 4. Tüm grupların histolojik skorları

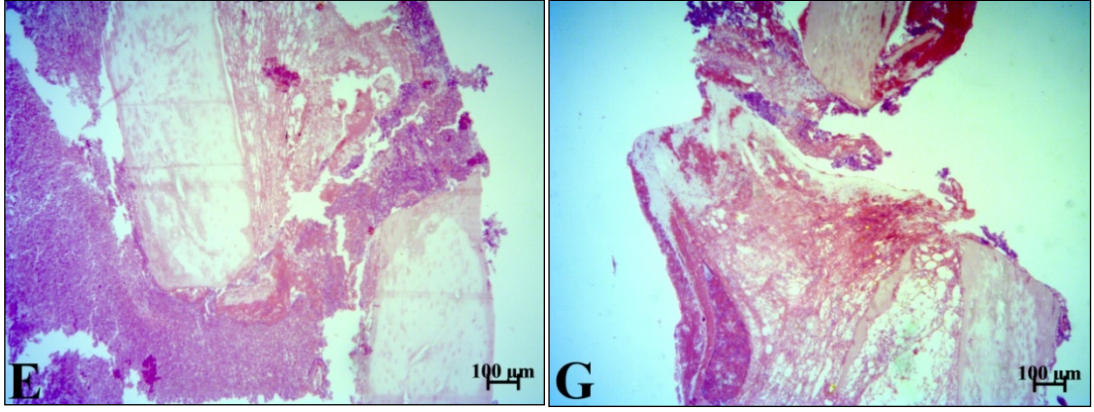
	Gruplar	Histolojik skorlar	P*
2. hafta	A	1,84±0,44	0.003
	C	1,12±0,13	
	E	1,06±0,11	
	G	1,15±0,18	
4. hafta	B	7,84±0,12	<0.001
	D	1,90±0,22	
	F	4,96±0,20	

	H	6,87±0,26	
--	---	-----------	--

* Kruskal-Wallis varyans analizi

Kırık oluşumundan 2 hafta sonra yapılan histopatolojik incelemelerde; femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan deneklerde, ağırlıklı olarak fibröz doku, az miktarda kıkırdak hücre proliferasyonu izlendi. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin ortalama skoru Evre 2 olarak tespit edildi (Resim 10-A). Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip 30mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan deneklerde, ağırlıklı fibröz dokuya hemorajik alanlar ile inflamatuvar hücrelerin eşlik ettiği saptandı. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin ortalama skoru Evre 1 olarak tespit edildi (Resim 10-C). Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip100mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan deneklerde, fibröz doku ile birlikte yoğun inflamatuvar hücre birikimi ve hemorajik alanlar dikkati çekmekte idi. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin de ortalama skoru Evre 1 olarak tespit edildi (Resim 10-E). Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve lokal 50mg/kg traneksamik asit uygulanan deneklerde ise; kırık uçlarını dolduran fibröz dokunun zayıf olduğu, inflamatuvar hücreler ve hemorajik alanların dikkati çektiği görüldü. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin de ortalama skoru Evre 1 olarak tespit edildi (Resim 10-G).

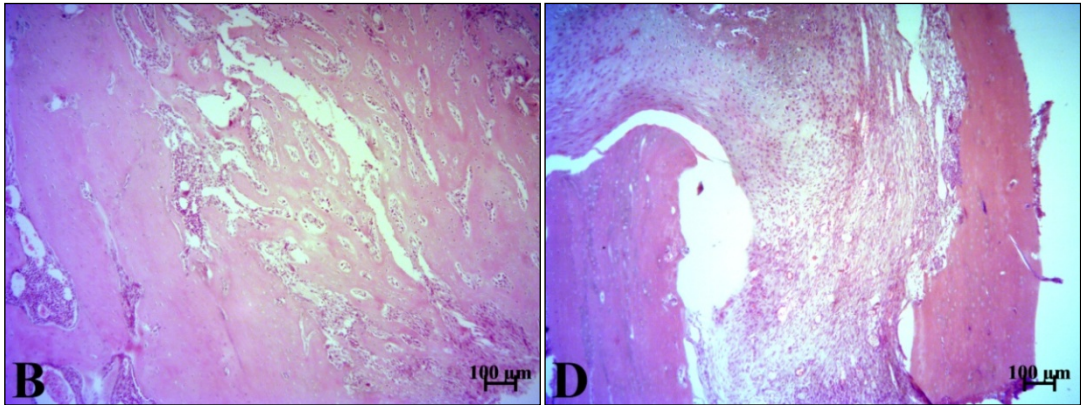


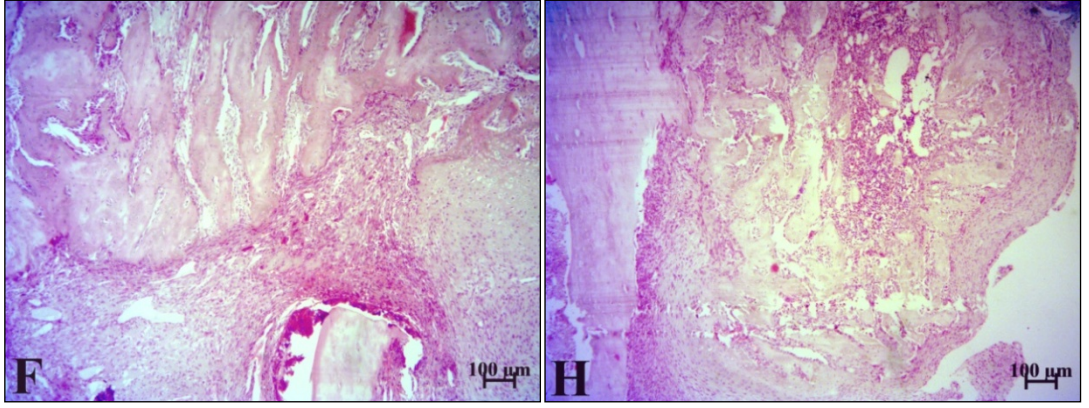


Resim 10. 2 haftalık deney gruplarının Hematoksilen-Eozin boyaması (H-E) uygulanmış preparat görüntüleri. **A** (femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan, 2. hafta grubu): Ağırlıklı olarak fibröz doku, az miktarda kırıkta hücre proliferasyonu izlenmekte (Evre 2). **C** (femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip 30mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan, 2. hafta grubu): Ağırlıklı fibröz dokuya hemorajik alanlar ile inflamatuvar hücreler eşlik etmekte (Evre 1). **E** (femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip100mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan, 2. hafta): Fibröz doku ile birlikte yoğun inflamatuvar hücre birikimi ve hemorajik alanlar dikkati çekmekte (Evre 1). **G** (femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve lokal 50mg/kg traneksamik asit uygulanan 2. hafta grubu): Kırık uçlarını dolduran fibröz doku zayıf olarak izlenmekle birlikte, inflamatuvar hücreler ve hemorajik alanlar dikkati çekmekte (Evre 1). H-E, Bar:100 µm.

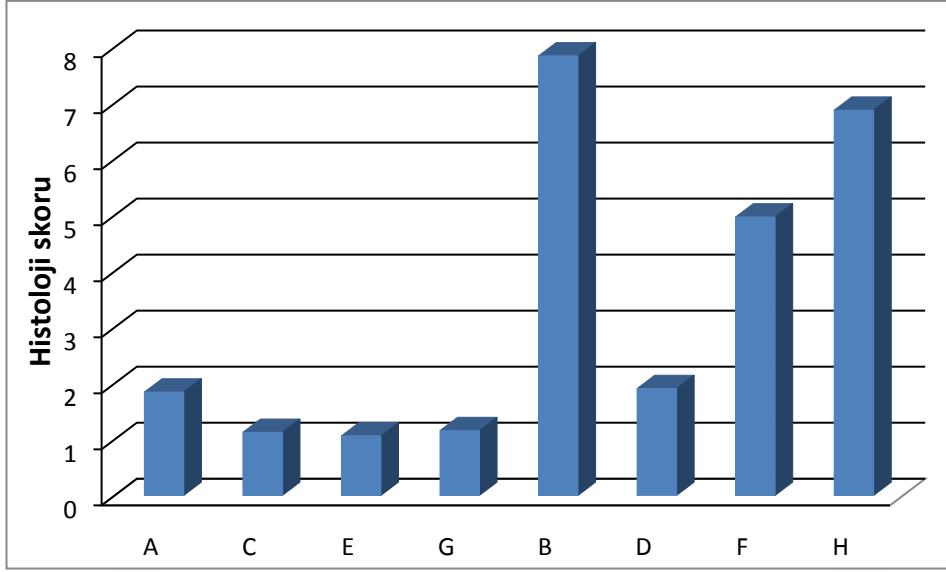
Kırık oluşumundan 4 hafta sonra yapılan histopatolojik incelemelerde; femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan deneklerde: primer kemik spiküllerinin olduğu, immatür kemik doku alanları izlendi. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin ortalama skoru Evre 8 olarak tespit edildi (Resim 11-B). Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip 30mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan deneklerde: ağırlıklı olarak fibröz dokuya az oranda kırıkta dokunun eşlik ettiği görüldü. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin ortalama skoru Evre 2 olarak tespit edildi (Resim 11-D). Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip100mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan deneklerde: fibröz doku, kırıkta doku ve primer kemik spiküllerinin görüldüğü alanlar arasında yer yer inflamatuvar hücre birikimleri dikkati çekti. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin ortalama skoru Evre 5 olarak tespit edildi (Resim 11-F). Femur şaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve lokal

50mg/kg traneksamik asit uygulanan deneklerde ise: primer kemik spiküllerinin oluştuğu, immatür kemik doku alanları ile az miktarda kıkırdak doku izlendi, ayrıca yer yer inflamatuvar hücreleri içeren alanlar da dikkati çekmekte idi. Yapılan skorlamada, bu grup deneklerin ortalama skoru Evre 7 olarak tespit edildi (Resim 11-H).



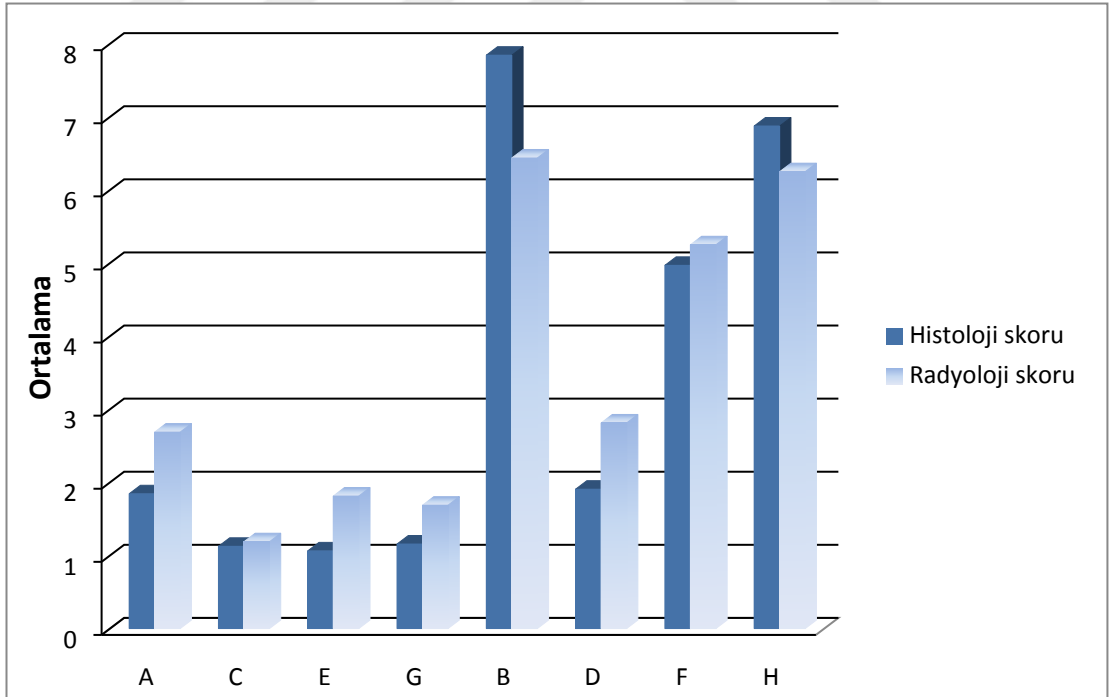


Resim 11. 4 haftalık deney gruplarının Hematoksilen-Eozin boyaması (H-E) uygulanmış preparat görüntüleri. **B** (femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan, 4. hafta grubu): Primer kemik spiküllerinin olduğu, immatür kemik doku alanları izlenmekte (Evre 8). **D** (femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip 30mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan, 4. hafta grubu): Ağırıklı olarak fibröz dokuya az oranda kıkırdak doku eşlik etmekte (Evre 2). **F**(femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve ip 100mg/kg dozda traneksamik asit uygulanan, 4. hafta grubu): Fibröz doku, kıkırdak doku ve primer kemik spiküllerinin görüldüğü alanlar arasında yer yer inflamatuvar hücre birikimleri dikkati çekmekte (Evre 5). **H** (femur shaft osteotomisi+fiksasyonu yapılan ve lokal 50mg/kg traneksamik asit uygulanan 4. hafta grubu): Primer kemik spiküllerinin olduğu, immatür kemik doku alanları ile az miktarda kıkırdak doku izlenmekte, yer yer inflamatuvar hücreleri içeren alanlar dikkati çekmekte (Evre 7). H-E, Bar:100 μm.



Grafik 2. Histolojik skorlamanın gruplara göre dağılımı

Radyolojik bulgular ve histolojik bulgular beraber analiz edildiğinde gruplara göre skor dağılımlarının birbirleriyle paralellik gösterdiği görüldü (Grafik 3).



Grafik 3. Histolojik ve radyolojik skorlamaların gruplara göre dağılımı

4.3. IL-6 İmmünohistokimya Bulguları

Tüm gruplarda IL-6 immünohistokimya boyaması yapıldıktan sonra H skor verileri elde edildi. Elde edilen H skor verileriyle istatistiksel analiz yapıldı. IL-6 açısından tüm grupların arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Tüm gruplar birbirleriyle kıyaslandığında (A ile B grubu, C ile D grubu, E ile F grubu ve G ile H grubu) A ile B grubu arasında, yani femur shaft osteotomisi yapılan ve 2 hafta sonra sakrifiye edilen grup (Grup A) ve yine femur shaft osteotomisi yapılan ve 4 hafta sonra sakrifiye edilen grup (Grup B) karşılaştırıldığında her iki grupta da osteoblast sitoplazmalarında ve kemik spiküllerinin arasındaki hücrelerde IL-6 boyanması gözlemlendi. B grubunda IL-6 ekspresyonu A grubuna göre azalma gösterse de bu azalma anlamlı değildi ($p=0.632$). Aynı şekilde C ile D grubu arasında ve E grubu ile F grubu karşılaştırıldığında hem D ($p=1.00$) grubunda hem de F ($p=0.101$) grubunda anlamlı olmayan düşüşler gözlemlendi. G grubu ile H grubu kıyaslandığında ise G ve H grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=1.00$).

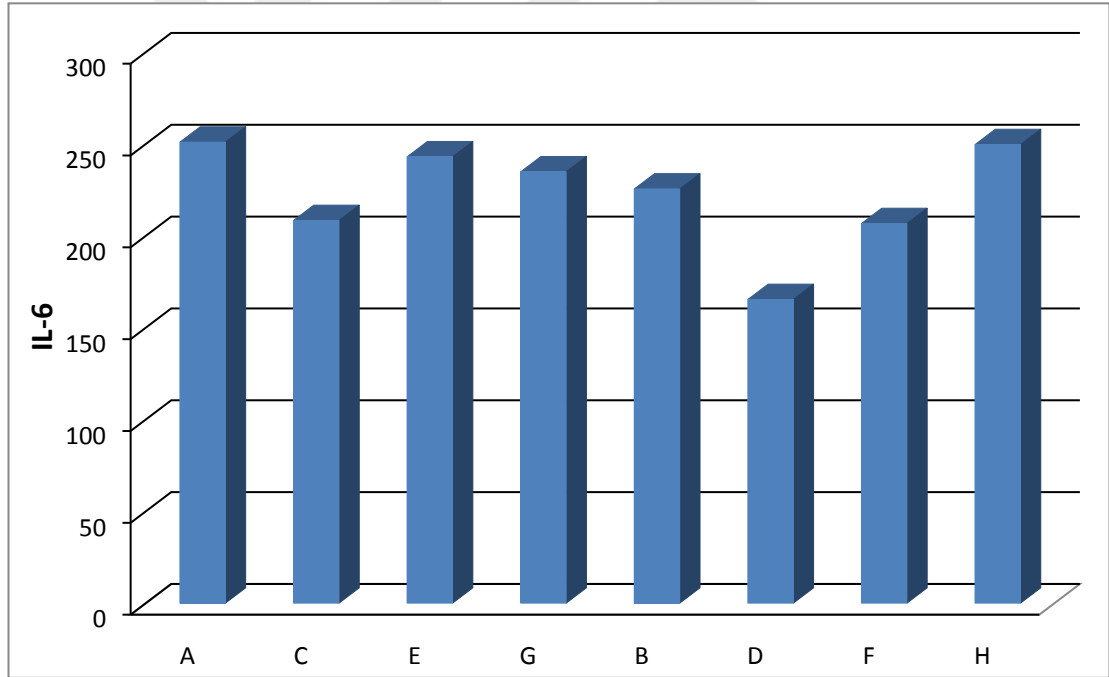
2. haftada incelenen gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında IL-6 bakımından fark anlamlı bulundu ($p=0.001$)(Tablo 5). İp 30 mg/kg TA uygulanan grup (Grup C); kontrol grubundan (Grup A) ($P=0.001$) ve ip 100 mg/kg uygulama yapılan gruptan (Grup E) anlamlı şekilde düşük saptandı.

4. haftada incelenen gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında IL-6 bakımından fark anlamlı bulundu ($p=0.001$)(Tablo 5). İkili karşılaştırmalarda 30 mg/kg ip uygulama yapılan grubun (Grup D); kontrol grubundan (Grup B) ($p=0.02$) ve lokal uygulama yapılan gruptan (Grup H) ($p<0.001$) anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi. Ayrıca 100 mg/kg ip uygulama yapılan grubun (Grup F) ($p=0.002$), lokal uygulama yapılan gruptan (Grup H) anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü.

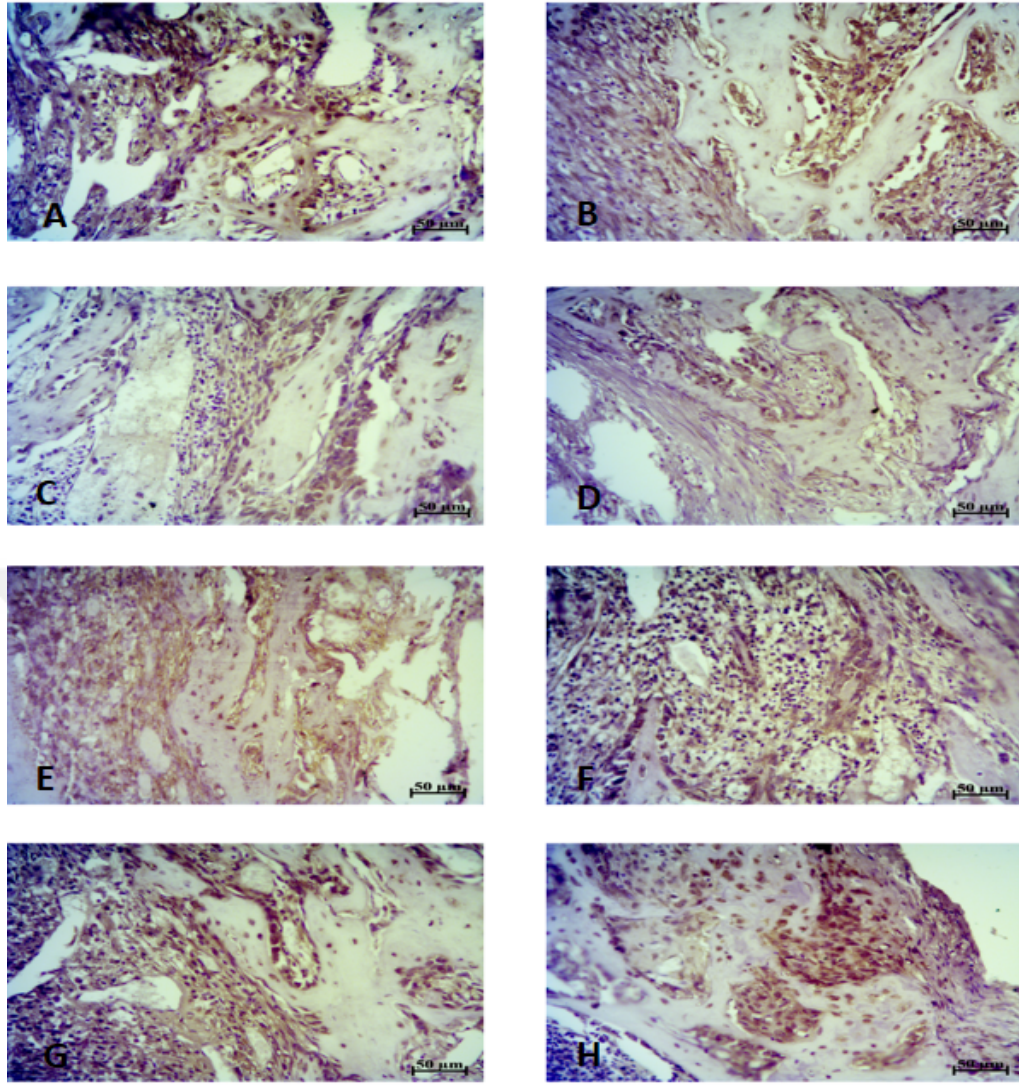
Tablo 5. Tüm grupların il- 6 boyama skorları

	Gruplar	IL-6	P*
2. hafta	A	251,00±12,03	0.001
	C	208,33±5,31	
	E	243,00±10,77	
	G	234,83±5,87	
4. hafta	B	225,50±3,72	0.001
	D	165,33±9,26	
	F	206,67±3,20	
	H	249,67±7,20	

* Kruskal-Wallis varyans analizi



Grafik 4. IL-6 skorlarının gruplara göre dağılımı



Resim 12. Tüm grupların IL-6 immünohistokimya boyaması. Bar:50 µm.

4.4. iNOS İmmünohistokimya Bulguları

iNOS H-skorları bakımından tüm gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Tüm gruplar birbirleriyle kıyaslandığında (A ile B grubu, C ile D grubu, E ile F grubu ve G ile H grubu) A ile B grubu arasında ($p = 0.013$) ve C ile D grubu arasında ($p = 0.016$) anlamlı fark olduğu saptandı. Bu durumda A ile B grubu kıyaslandığında 4 haftalık sham grubu olan B grubunda iNOS proteini ekspresyonunun 2 haftalık sham grubuna göre anlamlı derece artış gösterdiği gözlemlendi. Bunun yanında ip 30 mg/kg traneksamik asit verilen 2 haftalık (Grup C) ve 4 haftalık grup (Grup D) birbirleriyle kıyaslandığında D grubunda iNOS proteini ekspresyonu anlamlı derecede yüksekti ($p = 0.016$).

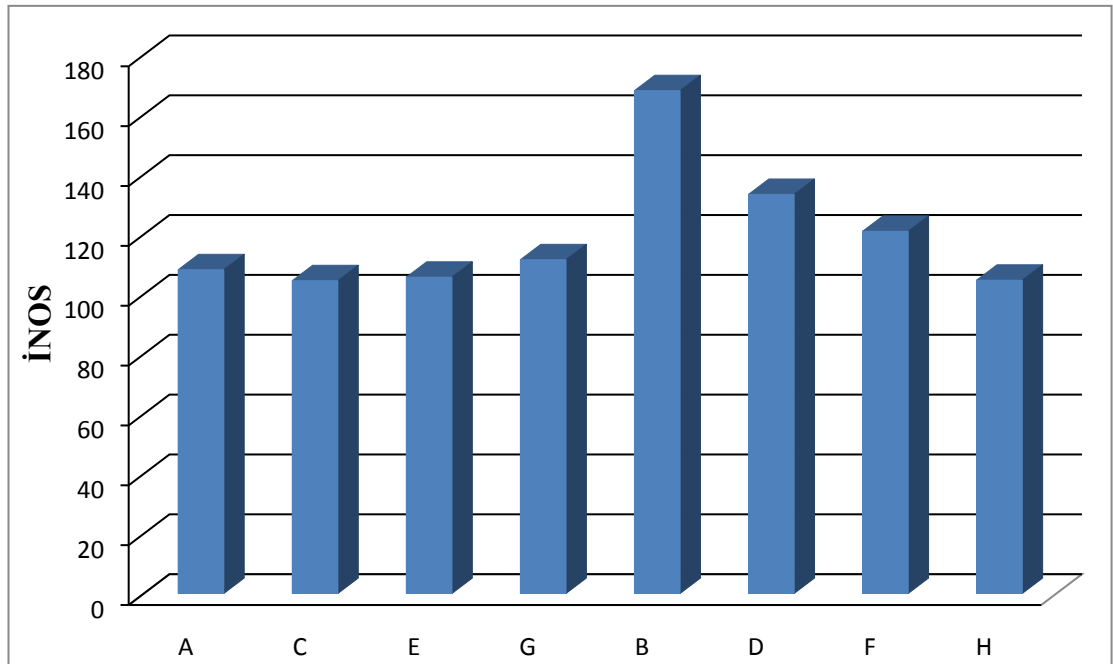
2. haftada incelenen gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında iNOS bakımından fark anlamlı bulunmadı ($p=0.153$).

4. haftada incelenen gruplar kendi aralarında analiz edildiğinde 4 grup arasında iNOS bakımından fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). Grupların ikili karşılaştırmalarında lokal TA uygulanan grubun (Grup H); kontrol grubundan (Grup B) ($p<0.001$) ve 30 mg/kg ip uygulanan gruptan (Grup D) ($p=0.025$) anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi. Kontrol grubunun (Grup B) ise 100 mg/kg ip uygulanan gruptan (Grup F) anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p=0.025$).

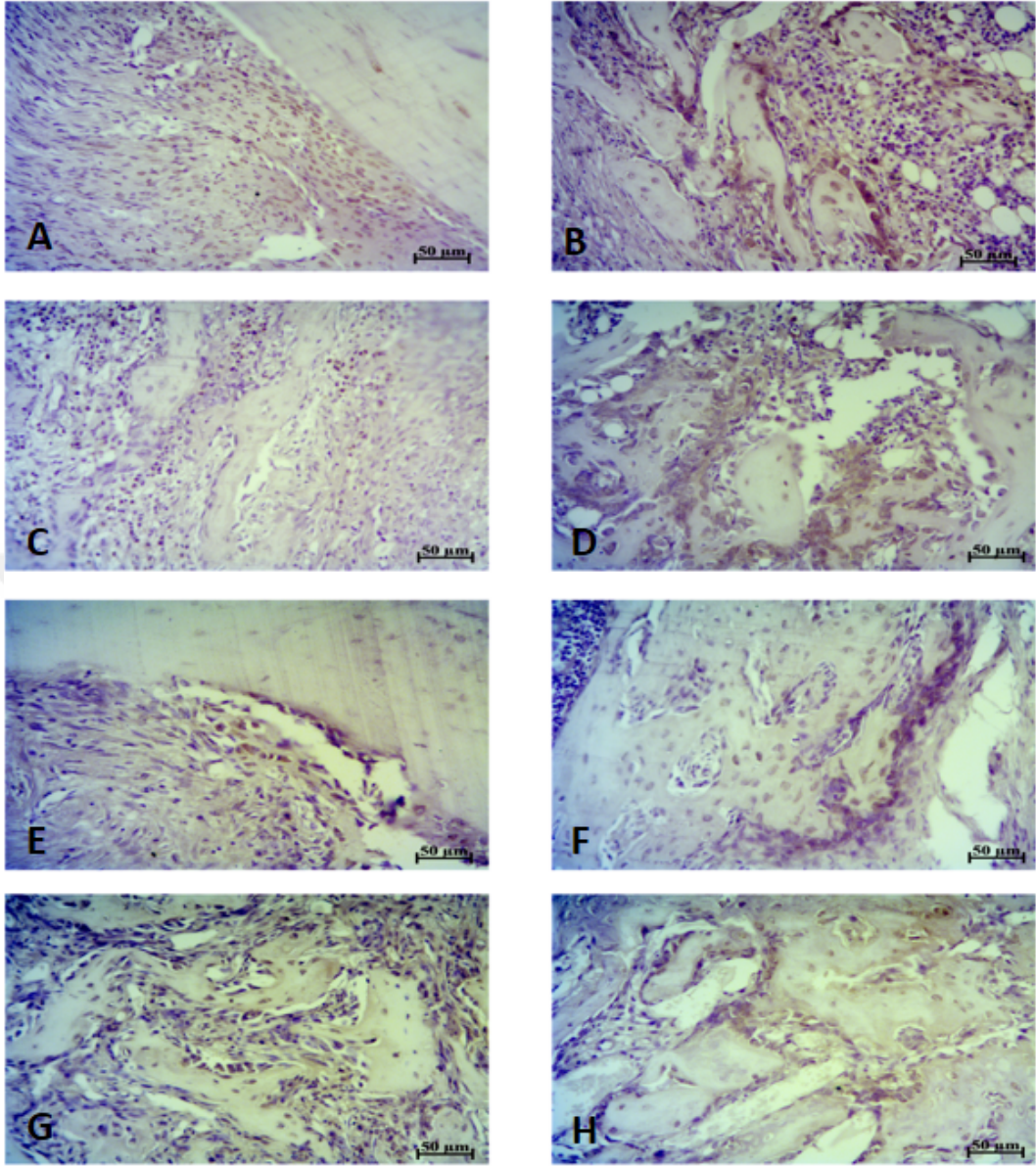
Tablo 6. Tüm grupların iNOS boyama skorları

	Gruplar	iNOS	P*
2. hafta	A	108,17±6,46	0.153
	C	104,50±2,16	
	E	105,67±5,16	
	G	111,50±5,43	
4. hafta	B	168,00±8,22	<0.001
	D	133,33±7,31	
	F	121,00±4,73	
	H	104,67±4,32	

* Kruskal-Wallis varyans analizi



Grafik 5. iNOS skorlarının gruplara göre dağılımı



Resim 13. Tüm gruplarını NOS immünohistokimya boyaması. Bar:50 µm.

5. TARTIŞMA

Geçmişten günümüze kırık ve kırık iyileşmesi ortopedinin en önemli konularından biridir. Kırık iyileşmesi üzerine literatürde yapılmış birçok çalışma mevcuttur ve yapılmaya da devam etmektedir. Kırık iyileşmesini hızlandırma veya yavaşlatma ve hatta durdurma ihtimali olan moleküller ve basamaklar, sonuçların hastalara olacak geniş etkisi göz önünde bulundurularak sıkça araştırılmaktadır.

Kırık oluşumu; osteoporoz, enfeksiyon, tümör gibi içten ve travma gibi dıştan sebeplerle kemiğin fonksiyonel ve anatomik bütünlüğünün bozulmasıdır. Bu durum kemikle beraber etraftaki yumuşak dokuyu ve nörovasküler yapıları da etkiler. Kırık iyileşmesi üzerinde; travmanın şiddeti ve şeklinin, etraftaki dokularda meydana gelen hasar, tedavi şeklinin açık ya da kapalı olması ve sistemik sorunların bulunup bulunmaması gibi birçok faktörün etkisi olduğu bilinmektedir. Sigara, alkol, sistemik hastalıklar ve bazı ilaç kullanımları iyileşmeyi olumsuz etkiler(70).

Enflamasyon, onarım ve remodelizasyon olmak üzere başlıca üç evrede gerçekleşen kırık iyileşmesi, kemik dokunun yanında periost, çevre yumuşak doku ve medullanın da etkin rol oynadığı karmaşık hücrel ve biyokimyasal aşamalar neticesinde gerçekleşir. Kırık iyileşmesinde aşamaların ortaya koyulmasıyla birlikte biyolojik ve biyofiziksel birçok ajanın kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması gündeme gelmiştir (71,72).

Kemik iyileşmesinde biyofiziksel olarak elektrik, ultrason ve mekanik stimülasyon çalışmalarının yanında, biyolojik olarak otojenik ve allojenik kemik greftleri, sentetik greftler, otojen kemik iliği ve birçok büyüme faktörleri araştırılmış, ancak bunların bir bölümü klinik kullanım alanı bulmuştur.

Kırıkların büyük çoğunluğu konservatif veya cerrahi tedavi yöntemleriyle sorunsuz olarak iyileşmektedir. Geç kaynama veya kaynamama gibi sorunların görüldüğü ek tedavi gerektiren yaklaşık %5-10'luk bir kısım bulunmaktadır. Bu problemli olgularda da normal iyileşmenin sağlanması ve iyileşme sürecinin hızlandırılması; tekrarlayan tedavi gereksinimlerini, işgücü kaybını, morbidite artışını ve tedavi maliyetlerinin artmasını engelleyecektir ve hastanın en kısa sürede normal yaşantısına dönmesine olanak sağlayacaktır. Bu nedenle de birçok yöntem araştırılmakta ve denenmektedir (73-75).

Literatürde farklı yöntemlerin kırık iyileşmesi üzerine olan etkilerinin araştırılması için; sıçanlar, fareler, tavşanlar, köpekler, koyunlar ve domuzlar gibi birçok farklı hayvan çeşidi üzerinde yapılmış çalışmalar mevcuttur (76). Biz çalışmamızda, izogenetik olarak düşündüğümüz modellemesi ve cerrahisi daha gerçekçi olacağı düşüncesiyle kendi hayvan laboratuvarımızda ve yeterli sayıda elde edebildiğimiz sıçanları tercih ettik.

Kırık iyileşmesi üzerinde çeşitli faktör ve moleküllerin etkilerini araştıran çalışmalarda, denekte oluşturulan kırık modelinin de oldukça önemli olduğu belirtilmiştir. Kapalı basit kırık, açık osteotomi şeklinde kırık, segmental kırık modelleri ve kaynamama modeli kullanılabilir. Literatürdeki birçok çalışmada kapalı kırık modeli kullanılmasına karşın, kaynamamaya yatkınlık oluşturmaya ve geç kaynamaya sebep olması nedeniyle açık osteotomi, araştırılan yöntemin etkinliğini göstermede daha başarılı bulunmuştur (77,78).

Kırık modeli tespit yöntemleri plak vida ile tespit, intramedüller tespit ve eksternal fiksator ile tespit olarak literatürde gösterilmiştir (79,80).

Biz kendi çalışmamızda, uygulama ve temin edebilme kolaylığı nedeniyle, hem de rijid olmayan tespit yapıp kallus dokusu oluşturarak sekonder kırık iyileşmesi meydana getirmek amacıyla Kirschner teli ile intramedüller tespit yöntemini uyguladık.

Kemiğin ve çevre dokuların kanlanması kırık iyileşmesi için en önemli faktörlerdendir. Periosttan, kemik içinden ve etraf dokulardan gelerek kırık sahasına toplanan kan, kırık iyileşmesini sağlar. Bu hematoma içinde iyileşme için gereken büyüme faktörleri, sitokinler, inflamatuvar mediatörler ve fibroblastlar bulunur. Böylece inflamasyon fazı da başlamış olur (23,81).

Gerek travma sonrası acil servislere gerekse de ortopedi gibi kanamalı operasyonlar gerçekleştiren travma bölümlerince antifibrinolitik ilaçlar ve özellikle traneksamik asit yaygın şekilde kullanılmaktadır (82,83).

Traneksamik asit, geri dönüşümlü olarak fibrinolizi inhibe eden lizin aminoasitinin sentetik bir analogudur ve bu sayede kan kaybını azaltmayı hedefler. Koagülasyon parametreleri üzerine etkisi olmayan traneksamik asit hücre dışı boşlukta birikerek fibrinolizisi inhibe eder ve pıhtı dengesini sağlar (84).

Literatürde kırık iyileşmesine çeşitli maddelerin etkisini araştıran birçok çalışma dikkati çekmektedir. Bayar ve ark (85) nın 2015 yılında yayınlamış olduğu hayvan deneyinde; enalapril ve losartanın sıçan femur kırığı modelinde kırık iyileşmesine olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmada değerlendirme kriterleri olarak histolojik (huo) ve x-ray (lane-sandhu) skorlamaları kullanılmıştır. Ayanoğlu ve ark (86) nın 2015 yılındaki çalışmasında 80 adet tavşanın tibia proximal metafizinde oluşturulan kırık modelinde kallus oluşumuna, hyaluronik asitin etkisi histolojik ve radyolojik olarak araştırılmıştır. Biz de çalışmamızda özellikle kırık iyileşmesine TA'nın etkisini gösterebilmek amacıyla radyolojik ve histolojik olarak değerlendirmeyi tercih ettik.

Ortopedi ile traneksamik asit ilişkisini literatürde incelediğimiz zaman kırık ve omurga cerrahilerinde sıklıkla intravenöz nadiren lokal yolla ve artroplasti cerrahilerinde ise hem intravenöz hem de lokal yolla traneksamik asit uygulandığı görülmektedir (87,88). Ayrıca az da olsa traneksamik asitin oral kullanımıyla ilişkili çalışmalar da mevcuttur (89,90). Bu uygulamaların amacı peroperatif kanamayı azaltmak ve kan transfüzyon ihtiyacını en aza indirmektir. Fakat uygulama şekliyle ilgili üstünlüğü ortaya konulmuş ortak bir metod tercihi henüz oluşmamıştır. İstisna olarak total diz artroplastisinde lokal uygulamanın üstün olduğuna dair yayınlar dikkati çekmektedir (91). Lokal uygulama ile sistemik yan etkilerden kaçınarak belirli bölgede yüksek konsantrasyona ulaşmak mümkünken, iv uygulama ise homojen ve hızlı bir yayılım sağlamaktadır.

Bunların yanında traneksamik asit kullanımının, ek komplikasyonlara neden olup olmadığına bakılan çalışmalar da mevcuttur (92).

Traneksamik asitin kanamayı azaltıcı etkisinin yanında inflamatuvar sisteme de etkisinin olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Bunlar çoğunlukla antiinflamatuvar etkisini belirtmekle birlikte proinflamatuvar etkisinin gösterildiği çalışmalar da mevcuttur (93-95).

Bunların yanında literatür taramasında traneksamik asitin uygulama şekilleri ve dozlarının, kırık iyileşmesine etkisini histolojik, radyolojik ve immünolojik açıdan inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Traneksamik asitle ilgili yapılan çalışmamızla

bağlantı kurabileceğimiz birçok araştırma üzerinden sonuçlarımızı karşılaştırmayı amaçladık.

Phan ve ark (96) nın 2015 yılında yayınlamış olduğu bir çalışmada, yaklaşık 2 yıl içinde total kalça artroplastisi ve total diz artroplastisi yapılan 232 hastaya intravenöz TA uygulanması sonucu kanama miktarının ve transfüzyon ihtiyacının azaldığı gösterilmiştir. Vara ve ark (97) nın 2016 yılında yayınlamış olduğu prospektif, çift kör, randomize bir çalışmada 102 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Ters omuz protezi yapılan hastalara iv TA uygulanmış ve ameliyat sonrası hemoglobin değeri düşüşünde, dren çıkışında, toplam kan kaybında ve transfüzyon ihtiyacında anlamlı azalma tespit edilmiştir. Zhang ve ark (98) nın yayınlamış olduğu 2018 tarihli bir sistemik taramada lokal ve iv TA uygulanmış femur kırığı ameliyatlarını içeren 13 çalışma ele alınmış ve meta analizin sonucunda hem iv hem de lokal TA'nın kan transfüzyon ihtiyacını azalttığı görülmüştür. Literatürde ortopedik cerrahilerle ilişkili TA'nın kanamayı azalttığına dair benzer birçok çalışma bulunmaktadır. Biz de çalışmamızı planlarken TA'nın kanamayı azaltıcı bu etkisinin kırık bölgesindeki kanamayı da etkileyerek kırık hematomu üzerine direk etkisinin olabileceğini ve kırık iyileşmesinde olumlu ya da olumsuz bir faktör olabileceğini düşündük. Çalışmamızdaki özellikle 2. hafta incelemelerinde hem ip, hem lokal TA verilen tüm grupların ve 4. haftada özellikle ip TA verilen grupların tamamı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da histolojik ve radyolojik skorlar açısından düşük olarak saptanmasının hematomdaki bu azalmaya bağlı olabileceği düşünülmüştür. Özellikle 2 hafta sonra sakrifiye edilen ilaç uygulanmış tüm gruplarda iyileşme geriliği olmasında, TA'nın akut etkili bir ilaç olmasının rolünün olması da muhtemel bir etken olarak değerlendirilmiştir. Histolojik değerlendirmede 2 haftalık ilaç uygulanan bütün grupların, kontrol grubundan anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür. TA'nın tamamına yakını vücutta hiç metabolize olmadan 24 saat içinde böbreklerden atılan bir ilaçtır. Eliminasyon yarı ömrü ise 3 saat kadardır. Yani etkisini kısa sürede gösterir ve sonlandırır (99).

Traneksamik asitin literatürdeki uygulanma şekillerine baktığımızda; intravenöz, intraartikuler, lokal, intratekal, intraperitoneal, oral ve intraosseoz gibi farklı birçok şekilde uygulanmış olduğunu görülmektedir. Boudreau ve ark (100) nın 2017 yılında yayınlanmış çalışmasında travmatik beyin hasarı oluşturulan sıçanlara

intraperitoneal TA uygulanmış ve sonrasında pıhtılaşma ve enflamasyon durumuna bakılmıştır. 2015 yılında Ohashi ve ark (101) nın yapmış olduğu çalışmada intratekal ve intraperitoneal TA'nın spinal dorsal kökler aracılığıyla ağrı deneyimi oluşturabildiği gösterilmiştir. Yine 2018 yılında Luo ve ark (102) nın yapmış olduğu bir çalışmada 2015 ve 2018 yılları arasında femur boyun kırığı nedeniyle total kalça protezi uygulanan 77 kadın hasta dört gruba ayrılarak lokal, intravenöz, kombine ve kontrol grubu şeklinde değerlendirilmiştir. İlaç uygulanan üç grubun da birbirlerine bariz üstünlük kurmadan kanama miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Sun ve ark (103) nın 2019 yılında yayınlamış olduğu 26 randomize kontrollü çalışmayı içeren meta analizde TA'nın iv, lokal ve kombine şekilde uygulamalarının; kan kaybı, hemoglobin, transfüzyon hızı, hastanede kalış süresi, venoz tromboemboli gibi parametrelere etkisi araştırılmıştır. 3 uygulamanın da etkili olduğunu, fakat özellikle kombine uygulamanın en etkili yöntem olduğunu belirtmişlerdir. 2018 yılında yayınlanmış olan Montroy ve ark (104) nın 6034 hastalık 67 çalışmayı içeren bir meta-analizinde topikal TA'nın kanamayı azaltıcı etkisinin iv TA ile benzer olduğu ve ek olarak bir komplikasyon oluşturmadığı kanısına varılmıştır. Bizim çalışmamızda da ortopedik hastalarda en sık uygulama yöntemleri olması sebebiyle hem lokal hem de sıçanlarda iv uygulama ile eşdeğer sayılabilecek intraperitoneal uygulama tercih edilmiştir. Erken dönemde hem ip hem de lokal uygulamanın kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu histolojik ve radyolojik olarak görülmüştür. İp uygulamanın özellikle geç dönemde kırık iyileşmesine olumsuz etkisinin lokal uygulamaya göre daha fazla olduğu görülmüştür. Özellikle histolojik incelemede, 4. haftada incelenen gruplarda, ip uygulanan grupların kontrol grubundan anlamlı derecede düşük skorlara sahip olduğu; lokal uygulamanın ise kontrol grubuyla benzer değerlerde olduğu belirlenmiştir. Lokal uygulamanın 2. hafta ve 4. hafta değerlendirilmesinde ise diğerlerinden farklı olarak hem histolojik hem de radyolojik skorlarda anlamlı fark tespit edilmiştir. Histolojik değerlendirmede ise ek olarak kontrol grubu ve 100 mg/kg ip uygulamada, 4. haftada kırık iyileşmesinde anlamlı şekilde yükseliş görülmüştür. Grupların 2. ve 4. hafta incelemeleri değerlendirildiğinde hem histolojik hem de radyolojik olarak anlamlı iyileşme göstermeyen grubun ip 30 mg/kg TA uygulanan grup olduğu görülmüştür. Lokal uygulamanın akut dönemdeki iyileşmeye olan olumsuz etkisinin diğer

uygulamalara göre ilerleyen dönemde olumluya dönme ihtimalinin daha yüksek olduğu düşünülebilir.

Literatür taramasında TA'nın farklı dozlarda uygulanmasıyla ilgili çeşitli çalışmalara rastladık. Wu ve ark (105) nin 2018 yılında yayınlamış olduğu bir çalışmada, 90 hastaya preop iv 1g TA ve postop 3 grup halinde 1, 2 ve 3 gr yara kapatıldıktan sonra intraartiküler TA uygulanmıştır. 2 ve 3 gr TA uygulanan gruplardaki kan kaybının ve transfüzyon ihtiyacının 1 gr uygulanan gruptan daha düşük olduğu gösterilmiştir. Karski ve ark (106) nin yapmış olduğu çalışmada TA'nın farklı dozlarda uygulanmasıyla hafif sistemik hipotermik kardiyak cerrahi sonrası kan kaybına etkisine bakılmıştır. Hastalara 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 150 mg/kg iv TA uygulanmış, en etkili dozun 100 mg/kg olarak ön plana çıktığı tespit edilmiştir. Lin ve ark (107) nin 2018 yılında yayınladığı bir çalışmada 100 adet kompleks yetişkin omurga cerrahisinde yüksek doz TA uygulanmıştır. 50 mg/kg bolus ve cerrahi boyunca 5 mg/kg/sa infüzyon şeklinde uygulanan TA sonucunda, yüksek doz TA'nın etkili olduğu fakat bariz bir üstünlüğünün gösterilemediği belirtilmiştir. Morrison ve ark (108) nin yapmış olduğu çalışmada ise elektif diz ve kalça protezi ameliyatlarından önce hastalara 15 mg/kg ve 30 mg/kg tek doz iv TA uygulamaları karşılaştırılmıştır. 30 mg/kg dozun daha etkin olduğu bulunmuştur.

Traneksamik asitin uygulamasındaki bir diğer farklılık da kaç doza bölünerek, cerrahi öncesi, sırası veya sonrasında verilmesiyle ilgilidir. Bunları ayrı ayrı veya beraber değerlendiren birçok çalışma yapılmıştır. Wilde ve ark (109) ı 2012-2016 yılları arasında uygulanmış olan 1736 total kalça protezi ve 2042 total diz protezi hastasını değerlendirmişlerdir. Tek doz iv TA ve 2 doz iv TA uygulanan gruplarda tek doz uygulamanın da en az 2 doz uygulama kadar etkin olduğunu gösterilmiştir. Aytuluk ve ark (110) nin total diz protezi uygulaması yapılmış hastaları değerlendirdiği bir çalışmada; bir grup hastaya TA uygulanmamış, bir grup hastaya turnike şişirilmeden 15 dk önce ve turnike açılmadan 15 dk önce 10 mg/kg dozunda iv TA ve gerekli olursa cerrahiden 2 saat sonra serviste 5 mg/kg şeklinde bolus iv TA uygulanmış, diğer bir grupta ise perioperatif infüzyon şeklinde 10 mg/kg iv infüzyon ve cerrahiden 12 saat sonra 5 mg/kg iv bolus şekilde uygulanmıştır. İv infüzyon şeklinde uygulamanın daha etkin olabileceği gösterilmiştir. Biz çalışmamızda ip ilaç uygulamalarını insizyondan hemen önce, lokal uygulamayı ise intraoperatif olacak

şekilde uyguladık. Dozlarımız ise ip olarak 30 mg/kg ve 100 mg/kg, lokal olarak ise 50 mg/kg olacak şekilde oluşturuldu. Lokal uygulamanın 4. hafta radyolojik ve histolojik değerlendirilmelerinde 2. haftaya göre anlamlı bir yükseliş tespit edilmiştir. Ayrıca ip 30 mg/kg TA verilen 2. hafta incelenen grubun hem histolojik hem de radyolojik skorlarının diğer grupların 4. hafta incelemelerine göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. Hem 2. hem de 4. hafta incelemelerinde radyolojik ve histolojik olarak ip 30 mg/kg uygulama en düşük skorlara sahiptir. Hem radyolojik hem de histolojik incelemelerin hepsinde kontrol gruplarından anlamlı olarak düşük saptanan tek gruptur. Lokal uygulamanın akut dönemdeki olumsuz etkisinin 4. haftada görülmediği ve ip düşük doz (30 mg/kg) uygulamanın diğer uygulamalara göre kırık iyileşmesine olumsuz etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Batıbay ve ark (111) ı 2018 yılında TA'nın intramedüller tibia çivisi uygulaması sırasında kullanılmasının güvenilirliğini araştıran bir çalışma yapmışlardır. 70 hastalık bu çalışmada kan kaybı, intravasküler tromboz ve kırık iyileşmesi değerlendirilmiştir. TA'nın bu parametreler üzerine olumsuz etkisi olmadığı görülmüştür. Literatürde kırık iyileşmesini direk incelemese de komplikasyon parametreleri arasında değerlendiren, rastladığımız tek çalışma olarak göze çarpmaktadır. TA'nın güvenlik ve komplikasyon açısından değerlendirildiği başka bir çalışma Xiao ve ark (92) tarafından 2019 yılında yayınlanmıştır. 11 randomize kontrollü çalışmanın dahil edildiği bu sistemik taramada kalça kırığı cerrahisi sırasında iv TA uygulanmasının dvt ve tromboembolik olay oluşturma riski araştırılmıştır. Bu risklerde anlamlı bir artışa rastlanmamıştır. Liu ve ark (112) nın 2017 yılında yaptığı bir meta-analizde total kalça protezi ameliyatı olan hastalarda iv ve ia (intraartiküler) TA'nın etkinliği ve riskleri açısından değerlendirme yapılmıştır. Kesin kaniye varılamamakla birlikte iv TA'nın pulmoner emboliye kadar varan embolik olaylar riski taşıdığı belirtilmiştir. İv ve ia TA'nın kan kaybını azaltıcı etkisinin benzer olduğu ve bu nedenle lokal TA'nın embolik riskler nedeniyle iv TA'ya tercih edilebileceği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda traneksamik asitin kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkileme ihtimali de düşünülerek kırık hastalarında risk oluşturup oluşturmadığı da araştırılmak istenen hedeflerdendi. Çalışma sonuçlarımız gerek ip gerekse de lokal uygulamanın kırık iyileşmesinin bazı dönemlerine olumsuz etki oluşturabileceği düşündürmektedir. Özellikle ip düşük doz

TA uygulaması sonrasında, kırık iyileşmesi ve IL-6 skorlarının düşük tespit edilmesi, bir kaynama gecikmesi komplikasyonuna yol açabileceği şeklinde yorumlanmıştır. 2 haftalık ve 4 haftalık örneklerin IL-6 değerlendirilmesinde, 30 mg/kg ip uygulama kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde düşük bulunan tek gruptur.

TA'nın araştırma konusu olmuş etkilerinden biri de inflamasyona olan olumlu ya da olumsuz katkısıdır. Literatürde daha çok antiinflamatuvar etkinliği olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır. İnflamasyonun kırık iyileşmesine olan rolü de göz önünde bulundurulunca biz de çalışmamızda immunohistokimyasal olarak IL-6 ve iNOS üzerinden TA'nın inflamasyona olan etkilerine baktık. Teng ve ark (95) nin yaptığı bir çalışmada sıçanlarda oluşturulan travma-hemorajik şok modelinde akut akciğer hasarına TA'nın etkisine bakılmıştır. TA'nın IL-6, tnf-alfa, myeloperoksidaz parametrelerinde düşüşe neden olarak akciğerdeki inflamasyonu ve hasarı azalttığı yönünde sonuca varılmıştır. 2013 yılında Chen ve ark (94) yapmış olduğu çalışmada kalp kapak replasmanı ameliyatı olan hastalara TA ve ulinastatin tedavisi verilmiş; Tnf-alfa, IL-6, nötrofil elastaz değerleri araştırılmıştır. TA'nın antifibrinolitik etkisinin yanında bir miktar antiinflamatuvar etkisinin de olduğu gösterilmiştir. Grant ve ark (113) nin yaptığı çalışmada ise TA uygulanan TKP hastalarında ameliyat sonrası sistemik inflamasyon değerlerinde bazı artışlar tespit edilmiş ve TA'nın proinflamatuvar etkisinin olabileceği belirtilmiştir. Xie ve ark (114) nin yapmış olduğu benzer çalışmada ise TKP uygulanan hastalarda TA'nın proinflamatuvar değil sistemik antiinflamatuvar etki gösterdiği IL-6 ve c-reaktif protein değerleriyle gösterilmiştir. Wallace ve ark (115) nin 2011 yılında yaptığı bir hayvan deneyinde farelerde IL-6 ablasyonu yapılarak kırık iyileşmesine olan etkileri biyomekanik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. 2 haftalık incelemelerde IL-6 ablasyonunun iyileşmeyi olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. 6 haftalık incelemede ise tüm grupların kırık iyileşme karakterinin benzerlik gösterdiği saptanmıştır. 2018 yılında Xiao ve ark (116) tarafından yapılan çalışmada splenektomili hastalardaki tnf-alfa, IL-6 ve bmp seviyelerinde düşüş olması nedeniyle kırık iyileşmesinin olumsuz etkilendiği belirtilmiştir. Diwan ve ark (63) nin yapmış olduğu sıçan modelinde, vücutta 3 şekilde bulunabilen nitrik oksit sentazın kırık iyileşmesindeki rolü araştırılmıştır. Deneklere NOS inhibitörleri veya NO verilen çalışmada NOS'un kırık iyileşmesinde olumlu yönde görevi olduğu çıkarımı yapılmıştır. Rajfer ve ark

(117) nın 2018 yılında yayınladığı bir hayvan deneyi araştırmasında iNOS'un kırık iyileşmesine olan etkisine bakılmıştır. 58 erkek sıçanın kullanıldığı deneyde femur kırık modeli oluşturularak deneklere iNOS'u arttırdığı bilinen ilaç verilerek Bt ve iNOS parametreleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak iNOS'un kırık iyileşmesini olumlu yönde etkilediği fikri belirtilmiştir. Bu ve benzeri araştırmaları da göz önünde bulundurarak IL-6 ve iNOS'un inflamasyon ve kırık iyileşmesinde görevli olabileceği kanısıyla çalışmamızda immunohistokimyasal olarak bu moleküller değerlendirilmiştir. TA uygulamalarının genel olarak tüm gruplarda IL-6 değerlerini düşürdüğü görülmüştür. IL-6 değerleri, aynı işlem yapılan 2 haftalık ve 4 haftalık gruplar arasında anlamlı fark göstermezken, 2 haftalık ve 4 haftalık gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde 30 mg/kg ip TA verilen grupların, en düşük skor değerlerine olduğu görülmüştür. Hem 2. hem de 4. haftada kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük olan tek grubun ip 30 mg/kg uygulama yapılan grup olduğu saptanmıştır. Lokal uygulama yapılan gruplarda ise erken incelemede IL-6 değerlerinin düşük seyrederken 4. hafta incelemesinde ise en yüksek değere çıktığı görülmüştür. Lokal uygulanan grup 4. haftada incelenen diğer TA uygulanan gruplara göre anlamlı şekilde yüksekti. İp 30 mg/kg TA verilen gruplarda IL-6'nın skorlarının düşüklüğü ve lokal 50 mg/kg TA uygulanan grupta IL-6 değerlerini yüksekliği, aynı grupların kırık iyileşme skorlarıyla paralellik göstermektedir. Bu durum TA'nın IL-6 değerleri üzerinden de kırık iyileşmesine etki edebileceğini akla getirmektedir. iNOS değerleri karşılaştırıldığında ise 2 haftalık grupların kendi aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir. 4 haftalık gruplara bakıldığında lokal uygulanan grubun, en düşük skora sahip olduğu ve 30 mg/kg ip uygulama yapılan gruptan ve kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir. Aynı grupların 2. ve 4. hafta değerlendirmelerinde ise genel olarak IL-6 değerlerinin aksine, iNOS değerlerinin 4. hafta gruplarında yükselişe geçtiği görülmüştür. Skor olarak düşüş gösteren tek grubun, lokal uygulama yapılan grup olduğu saptanmıştır. Ama fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

6. SONUÇ

Antifibrinolitik bir ajan olan TA'nın değişik dozlarda ve şekillerde uygulanmasının, kanamayı azaltıcı fonksiyonunun yanında, inflamasyondaki rolü de gözönüne alınarak kırık iyileşmesine olan etkisini değerlendirmeyi amaçladığımız çalışmamızda;

1. 2. ve 4. hafta değerlendirmelerinde hem histolojik hem radyolojik açıdan, TA uygulanan tüm gruplarda, kontrol gruplarına göre skor olarak düşüklük saptanmıştır.
2. Lokal TA uygulamasının radyoloji, histoloji ve IL-6 açısından 2. haftada genel olarak en düşük skorlara sahipken, 4. hafta değerlendirmelerinde ise yüksek skorlar ortaya çıkardığı gözlemlenmiştir.
3. İp 30 mg/kg TA uygulanan 4. hafta grubunun histolojik ve radyolojik olarak 4. hafta grupları arasında en düşük skora sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu grubun, histolojik olarak 2. ve 4. hafta skorları açısından anlamlı yükseliş gösteremeyen tek grup olduğu izlenmiştir. 2. hafta 30 mg/kg ip uygulama yapılan grup, hem radyolojik hem histolojik olarak, 4. hafta değerlendirilen diğer uygulamalar yapılan gruplardan anlamlı şekilde düşük bulunan tek grup olmuştur.
4. IL-6 immünohistokimyasal değerlendirmede ip 30 mg/kg TA uygulanan grupların hem 2. hafta hem de 4. hafta skorlarının en düşük olduğu gözlenmiştir. 2. hafta grupları arasında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunan tek grup ip 30 mg/kg TA uygulanan grup olmuştur. Bu değerlerin kırık iyileşme skorlarıyla paralellik gösterdiği saptanmıştır.
5. Lokal 50 mg/kg TA uygulanan 4. hafta grubunun, diğer 4. hafta grupları arasında en yüksek IL-6 skoruna sahip olduğu saptanmıştır. Diğer TA uygulanan gruplara göre IL-6 skoru anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Kırık iyileşme skorlarının bu değerlerle paralellik göstermekte olduğu izlenmiştir.
6. iNOS değerlendirmesinde, 4. hafta skorları 2. haftaya göre düşüş gösteren tek grubun lokal TA uygulanan grup olduğu görülmüştür. 4. hafta lokal uygulama yapılan grup 4. hafta kontrol grubu ve 4. hafta 30 mg/kg ip TA

uygulanan gruba göre anlamlı şekilde düşük tespit edilmiştir. 2. haftada lokaluygulama yapılan grup dışındaki tüm ilaç uygulaması yapılan grupların, kontrol gruplarından düşük inos değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak TA'nın hem erken hem de geç dönemde kırık iyileşmesine olumsuz etkilerinin olabileceği düşünülmüştür. Lokal uygulamanın radyolojik, histolojik ve IL-6 skorları bakımından erken dönemde oluşturduğu olumsuz etkisini, geç dönemde normale döndürme eğiliminde olduğu kanısına varılmıştır. Ip 30 mg/kg TA uygulamasının; radyolojik, histolojik ve IL-6 skorları göz önünde bulundurulduğunda geç dönemde en olumsuz etkiyi oluşturmakla birlikte, erken dönemde de olumsuz etkilerinin olduğu görülmüştür. IL-6 değerlerinin genel olarak histolojik ve radyolojik iyileşme skorlarıyla paralellik gösterdiği ve TA' nın IL-6 üzerine etkisinin olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma özelinde, iNOS değerleriyle kırık iyileşmesi arasındaki bağlantı konusunda kesin kanıya varılamamakla birlikte, TA uygulamasının iNOS değerlerini düşürdüğü tespit edilmiştir.

7.KAYNAKLAR

1. Ege R: Travmatoloji Kırıklar ve Eklem Yaralanmaları. Kadioğlu Matbaası, Ankara, 1989, s. 1-61.
2. Current Concepts of Molecular Aspects of Bone Healing. Injury int care, 2005, 36: 1392-1404.
3. Craik JD, Ei Shafie SA, Kidd AG, Twyman RS. Can local administration of tranexamic acid during total knee arthroplasty reduce blood loss and transfusion 58 requirements in the absence of surgical drains? Eur J Orthop Surg Traumatol. 2013 Mar 14.
4. Zufferey P, Merquiol F, Laporte S, et al. Do antifibrinolytics reduce allogeneic blood transfusion in orthopedic surgery? Anesthesiology 2006; 105: 1034-46. Review
5. Exp Anim. 2018 Feb 2. Anti-inflammatory effect of tranexamic acid against trauma-hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats.
6. Jungueria CL, Carnerio J, Kelley O: Bone. In: Basic Histology. Appleton and Lange, New Jersey, 1995, pp. 132-151.
7. Gartner LP and Hiatt JL: Color Textbook of Histology. Second ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 2001, pp. 134-154.
8. Webb JCJ, Tricker J. A review of fracture healing.Curr Orthop 2000; 14:457 – 463.
9. A Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology.Part 1.Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization.J Bone Joint Surg Am. 1995; 77: 1256 – 1275.
10. A Buckwalter JA.Musculoskeletal tissues and the musculoskeletal system.In: Weinstein SL, Buckwalter JA, eds. Turek's Orthopaedics, Principles and Their Applications, altıncı baskı. Philadelphia, Pennsylvania, ABD: Lippincott Williams & Wilkins, 2005; 10-19.
11. Michael H.Ross, Wojciech Pawlina Histology atext and atlas; 218-220.
12. Fawcett DW, R.P.J.R., Concise Histology. 2002: (2.nd edition). p. s.88.
13. Aydın B K. Pentoksifilin kullanımının kırık iyileşmesi üzerine etkisinin ratlarda incelenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 1.Ortopedi ve Travmatoloji 2007.

14. Mark D. Miller MD (Author), Stephen R. Thompson MD MEd FRCSC (Author), Jennifer Hart PA-C ATC (Author). Review of Orthopaedics, 6e (Miller, Review of Orthopaedics) 6th Edition.
15. Gartner LP, Hiatt JL: Color Textbook of Histology. W.B. Saunders Company.
16. Kierszenbaum AL: Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Çev. Demir R). Palme Yayıncılık, Ankara, 2006, s. 118-145.
17. Serinoglu S. Mikroskopik düzeyde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2002; 55(2): 143-150.
18. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. (2. Nd edition) 1997 s.132-152.
19. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology (8.th edition) s.132-151.
20. Mark D. Miller, S.R.T., Miller's Review of Orthopaedics. 2016, Elsevier. p. 1-20.
21. Browner BD, J.M., Levine AM, Trafton MD., Skeletal Trauma. 1997. p. s51.
22. MD, M., Review of orthopaedics. 2006: p. s16.
23. Brond AR, R.T., Fracture healing. Surgery of the Musculoskeletal system New York: Churchill Livingstone. 1990. p. 93-114.
24. Oryan, A., S. Alidadi, and A. Moshiri, Current concerns regarding healing of bone defects. Hard tissue, 2013. 2(2): p. 13.
25. Yetkin H, Y.M., Miller'ın Ortopedi Kitabı. Ankara. 2006, Akademi Doktorlar Yayınevi:.p. 1-4.
26. Ozaki, A., et al., Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats: interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. J Orthop Sci, 2000. 5(1): p. 64-70.
27. Brinker RM, M.M., Basic sciences, Review of Orthopaedics. (2nd ed.). 1996, WB Saunders Co, Philadelphia,.p. s1-26.
28. Carano, R.A. and E.H. Filvaroff, Angiogenesis and bone repair. Drug discovery today, 2003. 8(21): p. 980-989.
29. R., E., Travmatoloji-Kırıklar, eklem ve diğer yaralanmalar. 2001, Cilt 1,.p. 35-55.
30. MD, L.J.R., Bone Regeneration and Repair Rewiew of Orthopaedics. 2007. p. 254-263.

31. LaStayo, P.C., K.M. Winters, and M. Hardy, Fracture healing: bone healing, fracture management, and current concepts related to the hand. *Journal of Hand Therapy*, 2003. 16(2): p. 81-93.
32. Buckwalter AJ. Bone and Joint Healing. In: Bucholz R, Heckman J, Court-Brown C (Eds) *Rockwood and Green's Fractures in Adults* seven edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2013; Vol 1: 85-103.
33. Miller MD. Bone. In: Miller M (Ed) *Review of Orthopaedics*. Saunders, Philadelphia. 1-22, 2014.
34. Li J, Ahmad T, Spetea M, Ahmed M, Kreicbergs A. Bone reinnervation after fracture: a study in the rat. *J Bone Miner Res* 2001;16(8):1505-1510.
35. Chuanyong Lu,MD. Fracture Repair and Bone grafting. In: *Orthopaedic Knowledge Update*, 10 – Chapter 2 :11-21 109, 2011.
36. Muscler FG. Bone Healing and Grafting. In: *Orthopaedic Knowledge Update* 8, Rosemont, 29-37, 2005.
37. Wood G: General principles of fracture treatment. In: Canale (Ed) *Campell's Operative Orthopaedics*. Mosby, Philadephia, 2003, pp. 2669-2724.
38. Khan SN: Bone growth factors. *Orthop Clin North Am*, 31: 375–388, 2000.
39. Bucholz RW, Heckman JD, Court-Brown C: *Rockwood and Green's Fractures in Adults*. Sixth ed., Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2006, pp. 297-330.
40. Miller MD: *Miller'in Ortopedi Kitabı* (Çev. Yetkin H ve Yazıcı M) *Akademi Doktorlar Yayınevi*, Ankara, 2006, s. 1-23.
41. Daily PO, Lamphere JA, Dembitsky WP, Adamson RM, Dans NF. Effect of prophylactic epsilon aminocaproic acid on blood loss and transfusion requirements in patients undergoing first time coronary artery “bypass” grafting. A randomized, prospective, double blind study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 99-108.
42. Eder S, Baker J, Gersten J, et al. Efficacy and safety of oral tranexamic acid in women with heavy menstrual bleeding and fibroids. *Womens Health (Lond Engl)*. 2013 Jul;9(4):397-403.
43. Müftüoğlu E. *Klinik Hematoloji*. Bölüm 3. *Bizim Büro Basımevi*.1994; 495-503.
44. Dural E. *Farmakoloji*. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi; 2008.

45. Sindet-Pedersen S, Ramström G, Bernvil S, Blombäck M. Hemostatic effect of tranexamic acid mouthwash in anticoagulant-treated patients undergoing oral surgery. *N Engl J Med*. 1989;320(13):840-843.
46. Verstraete M. Clinical application of inhibitors of fibrinolysis. *Drugs*. 1985;29(3):236-261.
47. Marin hm. Hemostatic mechanism in extracorporeal circulation. *Arch Surg*. 1964;88:988-998.
48. Fernández Lucas M, Liaño F, Navarro JF, Sastre JL, Quereda C, Ortuño J. Acute renal failure secondary to antifibrinolytic therapy. *Nephron*. 1995;69(4):478-479.
49. Robblee J. Graft Occlusion Following Administration of tranexamic acid. *Anesth Analg*. 80(4):141.
50. Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. *British Journal of Surgery* 1997;84:920-935.
51. Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. Cellular and molecular immunology Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 240-61.
52. Biffl WL, More EE, Moore FA, Peterson VM. Interleukin-6 in the injured patient. *Annals of surgery* 1996;224:647-64.
53. Guix FX, Uribealgo I, Coma M, Munoz FJ. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol*. 2005;76(2):126-52.
54. Poulos TL. Structural biology of heme monooxygenases. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338(1):337-45.
55. Lloyd-Jones DM, Bloch KD. The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med*. 1996;47:365-75.
56. SMUTZER G. Research tools for nitric oxide. A wide variety of reagent are available for nitric oxide research. *The Scientist*. 2001;6(15):23-9.
57. Nathan C, Xie QW. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem*. 1994;269(19):13725-8.
58. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nat Immunol*. 2001;2(10):907-16.
59. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci*. 2004;75(6):639-53.

60. Ralston SH. The Michael Mason Prize Essay 1997. Nitric oxide and bone: What a gas! *Br J Rheumatol*. 1997;36:831–8.
61. Chae HJ, Park RK, Chung HT, Kang JS, Kim MS, Choi DY, et al. Nitric oxide is a regulator of bone remodelling. *J Pharm Pharmacol*. 1997;49:897–902.
62. Corbett SA, Hukkanen M, Batten J, McCarthy ID, Polak JM, Hughes SP. Nitric oxide in fracture repair. Differential localisation, expression and activity of nitric oxide synthases. *J Bone Joint Surg Br*. 1999 May;81(3):531-7.
63. Diwan AD, Wang MX, Jang D, Zhu W, Murrell GA. Nitric oxide modulates fracture healing. *J Bone Miner Res*. 2000 Feb;15(2):342-51.
64. Zhu W, Murrell GA, Lin J, vd. Kırık iyileşmesi sırasında nitrik oksit sentazlarının lokalizasyonu. *J Bone Miner Res*. 2002; 17: 1470-1477.
65. Hukkanen M, Hughes FJ, Buttery LD, Gross SS, Evans TJ, Seddon S, Riveros-Moreno V, Macintyre I, Polak JM. Cytokine-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by mouse, rat, and human osteoblast-like cells and its functional role in osteoblast metabolic activity. *Endocrinology*. 1995 Dec;136(12):5445-53.
66. Wimalawansa SJ. Nitric oxide and bone. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Mar;1192:391-403
67. Baldik Y, Diwan AD, Appleyard RC, Fang ZM, Wang Y, Murrell GA. Deletion of iNOS gene impairs mouse fracture healing. *Bone*. 2005 Jul;37(1):32-6.
68. Lane JM, Sandhu HS: Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am*. 1987; 18: 213-225
69. Huo MH, Troiano NW The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res*. 1991; 9:3,383–390
70. Schemitsch EH, Bhandari M. Bone healing and grafting. In: Koval KJ (ed.). *Orthopaedic knowledge update 7* AAOS: Rosemont, IL, 2002;19-29.)
71. George W. Wood II Fractures and dislocations in adults Part XV; Chapter 53 general principles of fracture treatment; campbell's operative orthopaedics, twelfth edition, Philadelphia ,2014; 2577-2615.
72. Phillips AM: Overview of the fracture healing cascade. *Injury* 2005; 36:5-7

73. Miclau T. Advances in the enhancement of bone healing and bone graft substitutes. In: Orthopaedic Knowledge Update, 3 – Trauma, Rosemont, 107-109, 2005. 14.
74. Buckwalter JA, Glimcher MM, Cooper RR, et al. Bone biology II. Formation, form, modeling and remodeling. J Bone Joint Surg 1995; 77A:1276-1289
75. Nijweide PJ, Burger EH, Klein-Nulend J, van der Pluijm G. The osteocyte. In Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (ed). Principles of Bone Biology. Academic Press, San Diego, CA 1996;115–126.
76. Nunamaker DM: Experimental models of fracture repair. Clin Orthop Relat Res. 1998;355Supp:56-65
77. Simpson AHRW, Mills L, Noble B: The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing. J Bone Joint Surg 2006;88B(6):701-05
78. Jackson RA, McDonald MM, Nurcombe V, Cool SM: The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model. J Orthop Res. 2006;Apr:636-44
79. Eckardt H, Christensen KS, Lind M, Hansen ES, et al: Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing in an experimental model of fractures at risk of nonunion. Injury. 2005;36:489-94
80. Schmidmaier G, Wildeman B, Ostapowicz D, Kandziora F, et al: Long term effects of local growth factor(IGF-I and TGF- β 1) treatment on fracture healing: A safety study for using growth factors. J Orthop Res. 2004;22:504-19
81. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002;55(2):143-50.
82. Winkler UH. The effect of tranexamic acid on the quality of life of women with heavy menstrual bleeding, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2001;99(2):238-43.
83. Gaillard S, Dupuis-Girod S, Boutitie F, Rivière S, Morinière S, Hatron PY, et al. Tranexamic acid for epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia patients: a European cross-over controlled trial in a rare disease. J Thromb Haemost 2014;12(9):1494-502.
84. Rannikko A, Petas A, Taari K. Tranexamic acid in control of primary hemorrhage during transurethral prostatectomy. Urology 2004;64(5):955-8.

85. Bayar A, Turan A, Güle K, Akpolat M, Turan İ, Turhan E. The Effects of the Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Enalapril and the Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Losartan on Fracture Healing in Rats. *Clin Invest Med*. 2015 Aug 9;38(4):E164-72.
86. Ayanoglu S, Esenyel CZ, Adanır O, Dedeoglu S, İmren Y, Esen T. Effects of hyaluronic acid (Hyalonect) on callus formation in rabbits. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2015;49(3):319-25
87. Wang M, Zheng XF, Jiang LS. Efficacy and Safety of Antifibrinolytic Agents in Reducing Perioperative Blood Loss and Transfusion Requirements in Scoliosis Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2015;10(9):e0137886.
88. Oremus K, Sostaric S, Trkulja V, Haspl M. Influence of tranexamic acid on postoperative autologous blood retransfusion in primary total hip and knee arthroplasty: a randomized controlled trial. *Transfusion* 2014;54(1):31-41
89. Wang D, Luo ZY, Yu ZP, Liu LX, Chen C, Meng WK, Yu QP, Pei FX, Zhou ZK, Zeng WN. The antifibrinolytic and anti-inflammatory effects of multiple doses of oral tranexamic acid in total knee arthroplasty patients: a randomized controlled trial. *J Thromb Haemost*. 2018 Dec;16(12):2442-2453
90. Cao G, Huang Z, Xie J, Huang Q, Xu B, Zhang S, Pei F. The effect of oral versus intravenous tranexamic acid in reducing blood loss after primary total hip arthroplasty: A randomized clinical trial. *Thromb Res*. 2018 Apr;164:48-53
91. Soni A, Saini R, Gulati A, Paul R, Bhatti S, Rajoli SR. Comparison between intravenous and intra-articular regimens of tranexamic acid in reducing blood loss during total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2014;29(8):1525-7
92. Xiao C1, Zhang S1, Long N1, Yu W1, Jiang Y2. Is intravenous tranexamic acid effective and safe during hip fracture surgery? An updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2019 Jan 14
93. Barrett CD, Moore HB, Kong YW, Chapman MP, Sriram G, Lim D, Moore EE, Yaffe MB. Tranexamic acid mediates proinflammatory and anti-inflammatory signaling via complement C5a regulation in a plasminogen activator-dependent manner. *J Trauma Acute Care Surg*. 2019 Jan;86(1):101-107

94. Chen TT, Jiandong-Liu, Wang G, Jiang SL, Li LB, Gao CQ. Combined treatment of ulinastatin and tranexamic acid provides beneficial effects by inhibiting inflammatory and fibrinolytic response in patients undergoing heart valve replacement surgery. *Heart Surg Forum*. 2013 Feb 1;16(1):E38-47
95. Teng Y, Feng C, Liu Y, Jin H, Gao Y, Li T. Anti-inflammatory effect of tranexamic acid against trauma-hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats. *Exp Anim*. 2018 Jul 30;67(3):313-320
96. Phan DL, Rinehart JB, Schwarzkopf R. Can tranexamic acid change preoperative anemia management during total joint arthroplasty? *World J Orthop*. 2015 Aug 18;6(7):521-7
97. Vara AD, Koueiter DM, Pinkas DE, Gowda A, Wiater BP, Wiater JM. Intravenous tranexamic acid reduces total blood loss in reverse total shoulder arthroplasty: a prospective, double-blinded, randomized, controlled trial. *J Shoulder Elbow Surg*. 2017 Aug;26(8):1383-1389
98. Zhang P, Bai J, He J, Liang Y, Chen P, Wang J. A systematic review of tranexamic acid usage in patients undergoing femoral fracture surgery. *Clin Interv Aging*. 2018 Sep 4;13:1579-1591
99. Müller-Berghaus G, Pötzsch B. *Hämostaseologie*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2013:1
100. Boudreau RM, Johnson M, Veile R, Friend LA, Goetzman H, Pritts TA, Caldwell CC, Makley AT, Goodman MD. Impact of tranexamic acid on coagulation and inflammation in murine models of traumatic brain injury and hemorrhage. *J Surg Res*. 2017 Jul;215:47-54
101. Ohashi N, Sasaki M, Ohashi M, Kamiya Y, Baba H, Kohno T. Tranexamic acid evokes pain by modulating neuronal excitability in the spinal dorsal horn. *Sci Rep*. 2015 Aug 21;5:13458.
102. Luo GG, Lin ZQ, Xie HF, Yao JC, Zhang HZ. Preliminary analysis of the effect of different administration routes of tranexamic acid on blood loss after total hip arthroplasty for female femur neck fractures. *Zhongguo Gu Shang*. 2018 Dec 25;31(12):1086-1090
103. Sun Q, Li J, Chen J, Zheng C, Liu C, Jia Y. Comparison of intravenous, topical or combined routes of tranexamic acid administration in patients undergoing

- total knee and hip arthroplasty: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Open*. 2019 Jan 28;9(1):e024350
104. Montroy J, Hutton B, Moodley P, Fergusson NA, Cheng W, Tinmouth A, Lavallée LT, Fergusson DA, Breau RH. The efficacy and safety of topical tranexamic acid: A systematic review and meta-analysis. *Transfus Med Rev*. 2018 Feb 19. pii: S0887-7963(17)30151-7
 105. Wu J, Li G, Chen Y, Deng J, Zhang C. Comparison of combined intravenous and topical use of tranexamic acid with different dosage in primary total knee arthroplasty. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2018 Nov 1;32(11):1397-1401
 106. Karski JM, Dowd NP, Joiner R, Carroll J, Peniston C, Bailey K, Glynn MF, Teasdale SJ, Cheng DC. The effect of three different doses of tranexamic acid on blood loss after cardiac surgery with mild systemic hypothermia (32 degrees C). *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1998 Dec;12(6):642-6
 107. Lin JD, Lenke LG, Shillingford JN, Laratta JL, Tan LA, Fischer CR, Weller MA, Lehman RA Jr. Safety of a High-Dose Tranexamic Acid Protocol in Complex Adult Spinal Deformity: Analysis of 100 Consecutive Cases. *Spine Deform*. 2018 Mar - Apr;6(2):189-194
 108. Morrison RJM, Tsang B, Fishley W, Harper I, Joseph JC, Reed MR. Dose optimisation of intravenous tranexamic acid for elective hip and knee arthroplasty: The effectiveness of a single pre-operative dose. *Bone Joint Res*. 2017 Aug;6(8):499-505
 109. Wilde JM1, Copp SN1, McCauley JC2, Bugbee WD1. One Dose of Intravenous Tranexamic Acid Is Equivalent to Two Doses in Total Hip and Knee Arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2018 Jul 5;100(13):1104-1109
 110. Aytuluk HG1, Yaka HO2. Tranexamic acid is effective in lower doses with infusion in total knee arthroplasty. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2019 Jan 8
 111. Batıbay SG1, Türkmen İ, Duman S, Çamur S, Sağlam N, Batıbay S. Is tranexamic acid safe and reliable during tibial intramedullary nailing? *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2018 Nov;24(6):575-580
 112. Liu Y, Meng F, Yang G, Kong L, Shen Y. Comparison of intra-articular versus intravenous application of tranexamic acid in total knee arthroplasty: a meta-

- analysis of randomized controlled trials. Arch Med Sci. 2017 Apr 1;13(3):533-540
113. Grant AL^{1,2}, Letson HL², Morris JL^{1,2}, McEwen P^{1,2}, Hazratwala K^{1,2}, Wilkinson GP³. Tranexamic acid is associated with selective increase in inflammatory GP3. J Orthop Surg Res. 2018 Jun 18;13(1):149
 114. Xie J¹, Hu Q, Ma J, Huang Q, Pei F. Multiple boluses of intravenous tranexamic acid to reduce hidden blood loss and the inflammatory response following enhanced-recovery primary total hip arthroplasty: a randomised clinical trial. Bone Joint J. 2017 Nov;99-B(11):1442-1449
 115. Wallace A, Cooney TE, Englund R, Lubahn JD. Effects of interleukin-6 ablation on fracture healing in mice. J Orthop Res. 2011 Sep;29(9):1437-42
 116. Xiao W, Yang X, Wang Y, Li J. Splenectomy delays fracture healing by affecting the level of tumor necrosis factor alpha, interleukin 6 and bone morphogenetic protein. Adv Clin Exp Med. 2018 Feb;27(2):165-171
 117. Rajfer RA, Kilic A, Neviaser AS, Schulte LM, Hlaing SM, Landeros J, Ferrini MG, Ebrahimzadeh E, Park SH. Enhancement of fracture healing in the rat, modulated by compounds that stimulate inducible nitric oxide synthase: Acceleration of fracture healing via inducible nitric oxide synthase. Bone Joint Res. 2017 Feb;6(2):90-97

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



SAYI : 91330202-01
KONU : Etik Kurul Kararı

10/01/2017

Sayın, Doç. Dr. Ahmet BAYAR
B.E.Ü. Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 05/01/2017 tarihinde yapmış olduğu toplantıda çalışmanızla ilgili almış olduğu karar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkan V.

EK: Karar 2adet



T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 05.01.2017
TOPLANTI NO : 2017/01

- 10-** Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2017-07-05/01 Protokol no'lu "Sıçan Femur Kırığı Modelinde Traneksamik Asit Kullanımının Kırık İyileşmesine Etkisinin Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma" konulu çalışmasının Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR
Emine Yılmaz Sipahi

Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkan Vekili