

Ankaferd Blood Stopper ve Celox'un Varfarin Verilmiş Sıçan Derisinde Glutasyon ve Lipid Peroksidasyon Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Sertaç Aktop¹, Ebru Emekli-Alturfan², Cüneyt Özer³, Onur Gönül¹, Hasan Garip¹, Ayşen Yarat², Kamil Göker¹

¹Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD, İstanbul - Türkiye
²Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Temel Bilimler AD Biyokimya Bilim Dalı, İstanbul - Türkiye
³Kocaeli Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi, Kocaeli - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Dr. Dt Sertaç Aktop
 Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD, Güzelbahçe Büyükciftlik sok. No: 6 Nişantaşı/Şişli, İstanbul - Türkiye
 Elektronik posta adresi / E-mail address: sertacaktop@hotmail.com
 Kabul tarihi / Date of acceptance: 3 Ekim 2012 / October 3, 2012

ÖZET

Ankaferd blood stopper ve celox'un varfarin verilmiş sıçan derisinde glutasyon ve lipid peroksidasyon üzerine etkilerinin incelenmesi

Amaç: Çalışmamızın amacı, varfarin verilen deney hayvanlarında iki yeni nesil farklı lokal hemostatik ajanın kısa dönemde yumuşak doku iyileşmesi üzerine olan etkisinin biyokimyasal olarak incelenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

Yöntem: 24 adet Wistar cinsi albino sıçanların 12 tanesine sistemik olarak varfarin verilmiş (Varfarin grubu), diğer sıçanlar ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. 3 adet bistiüri yarası oluşturularak birine 40 mg kitozan granülleri (Celox®), diğerine 25 µl kurutulmuş folklorik bitki ekstresi (Ankaferd Blood Stopper®) uygulanırken diğer bir tanesine de herhangi bir hemostatik ajan uygulanmamıştır. Cerrahi işlemin yapıldığı gün, postoperatif 4. gün ve postoperatif 8. günde alınan doku örneklerinde antioksidan parametrelerden glutasyon ve oksidan parametrelerden lipid peroksidasyon tayini yapılmıştır.

Bulgular: Kullanılan lokal hemostatik ajanların intraoperatif ve postoperatif kanama kontrolünde çok iyi olduğu ve güvenle kullanılabilirliği; varfarin uygulaması ve lokal hemostatik ajanların antioksidan etkiyi zayıflattığı; ABS'nin klinik gözlemler neticesinde iyileşme potansiyeline etkisinin diğer ajana kıyasla daha fazla olduğu tesbit edilmiştir.

Sonuç: Ankaferd Blood Stopper ve Celox'un etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması ve potansiyel yararlarının geliştirilmesi için konunun farklı yönleriyle de ele alınması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Varfarin, kitozan, Ankaferd Blood Stopper, glutasyon, lipidperoksidasyon, protrombin zamanı

ABSTRACT

Effects of ankaferd blood stopper and celox on skin glutathione and lipid peroxidation levels in warfarintreated rats

Purpose: Aim of this study is to evaluation and comparison of the effect of these two new generation haemostatic agents on short term soft tissue healing of warfarin treated rats biochemically.

Method: 12 of 24 Wistar Albino rats were treated with warfarin systemically (Warfarin group) and the other rats were selected as the control group for the trial. All rats had 3 incisions on dorsal dermal tissue applied 40 mg of Celox, 25 µl of Ankaferd Blood Stopper or no haemostatic agent. Antioxidant parameters, glutathione and lipid peroxidation were determined from the tissue samples taken on the day of surgery, postoperative 4th and postoperative 8th day.

Result: Both haemostatic agents positively affected the haemostasis for intraoperative and postoperative bleeding and could be used safely; Warfarin treatment and local haemostatic agents decreased the antioxidant effect; Ankaferd Blood Stopper's effect to healing potential is better than the other agent under clinical observations.

Conclusion: Effect mechanisms of Ankaferd Blood Stopper and Celox needs to be enlightened and different aspects of the topic should be investigated for development of potential benefits.

Key words: Warfarin, Chitosan, Ankaferd Blood Stopper, Glutathione, Lipidperoxidation, Prothrombine time

GİRİŞ

Oral cerrahi işlemlerinde doku bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak damar içinde dolaşan kanın damar dışına

çıkmasıyla kanama meydana gelir. Kanamanın kontrol altına alınması vücudun hemostaz mekanizması sayesinde gerçekleşir. Oluşan kanamanın durdurulmasında vasküler sistem, ilgili damarın konstrükte olmasını ve kan akımının

yavaşlamasını, trombositler sistem, trombositlerin zarar gören damar endoteline yapışmalarını ve kümeleşerek sabit olmayan bir tıkaç meydana getirmesini, koagülasyon sistemi ise oluşan tıkaçın fibrin ihtiva eden sağlam pıhtıya dönüşmesini sağlayarak etki ederler.

Antikogulan kullanan hastalarda uygulanan oral cerrahi girişimler sırasında ve/veya sonrasında hemostaz sağlanması güçleşmektedir. Oral cerrahi işlemlerinde, gereksiz kan kaybını önlemek, kemik içi kavileri doldurarak oluşacak pıhtının organize olmasına matriks teşkil etmek ve sekonder kanama riskini ortadan kaldırmak amacıyla çeşitli yöntem ve ilaçlar uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. İlgili bölgeye pozitif basınç uygulamak, sütürasyon ve çeşitli lokal hemostatik ilaçların uygulanması oral cerrahi pratiğindeki rutin uygulamalardır (1,2).

Varfarin, kan pıhtısı oluşumunu, pıhtı şekillenmesini ve büyümesini engeller. Hidrokinonun aktif şeklinin oluşumundan sorumlu olan K vitamini epoksinin redüksiyonunu, epoksit redüktaz enzimini inhibe ederek engeller. Varfarinin etki süresi 2- 6 gün, yarılanma ömrü 37- 40 saattir. Ağızdan alındığında gastrointestinal sistemden süratle ve tam olarak emilir. Varfarin yaygın olarak kullanılmaktadır ve genellikle ömür boyu kullanımı söz konusudur. Başlangıç dozu ilk iki gün için 5- 10 mg'dır. Bu grup ilaçların farmakokinetik yanıtlarının çok değişken olması, dozun bireyselleştirilmesini gerektirir. Doz bireye özel olarak protrombin zamanı ve INR'ye bağlı olarak 2- 10 mg aralığında düzenlenir. INR 8,0'ın üzerindeyse yaygın kanamalar görülür. Spesifik antidotu fitomenadion (K1 Vitamini), pıhtılaşma faktörleri (II, VII, IX, X) ve taze dondurulmuş plazmadır. Varfarin kullanan bireye uygulanacak tüm tedavilerde kanama kontrolü açısından tedbir alınmalıdır (3-8).

Ankaferd Blood Stopper (ABS) (Ankaferd Health Products Ltd., İstanbul, Turkey), geleneksel olarak Türk tıbbında kullanılan beş bitkisel içeriğin çeşitli oranlarda kullanılması suretiyle hazırlanan hemostatik bir ajandır. Aynı zamanda, damar endoteli, kan hücreleri, anjiogenez, hücre proliferasyonu üzerine etkileri olan bitkisel bir karışımdır. İçeriğinde, Glycrrhiza Glabra (Meyan), Vitis Vinifera (Koruk), Alphina Officinarum'un (Havlıcan) kurutulmuş yaprak ekstraktları, Urtica Dioica (Isırgan) kurutulmuş kök ekstresi, Thymus Vulgaris (Kekik) kurutulmuş ot ekstresi bulunmaktadır (9,10).

Celox® (Medtrade Products Ltd. Crewe, CW1 6GL, UK) (Poli-N-asetilglukozamin ya da Kitozan Lineer Polimeri) yeni

jenerasyon bir lokal hemostatik ajandır ve etkinliği halen araştırma aşamasındadır. Kitozan, kitin hammaddesinin işlenmesinden sonra elde edilen katyonik bir karbonhidrat polimeri olan poli-N-asetilglukozamin maddesidir. Kitin ise, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir (11). Kitozan'ın etki mekanizmasının, klasik koagülasyon kaskadından bağımsız olarak eritrosit hücre membranı ile elektrostatik etkileşmesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Eritrositler arasındaki çapraz köprü oluşumuyla hemostazı arttırdığı ya da repolimerizasyonla kafes formuna dönüşerek hücreleri tuzağa düşürdüğü ve böylece yapay bir pıhtı oluşturduğu da varsayılmaktadır (12). Kitozan'ın pıhtılaşma faktörleri ya da trombositlerin yokluğunda pıhtı oluşumunu arttırdığı, varsayılan kapasitesinin koagülopatik ya da antikoagulan tedavi alan hastalarda kullanışlı olabileceği kanıtlanmıştır (13).

Lipid peroksidasyonu (LPO); serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki poliansature yağ asitlerinin oksidasyonu ile membran yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan, kimyasal bir olaydır. Olay otokatalitik zincir reaksiyonu ile başlar, ilerler ve hücrede hasar bırakarak sonlanır. LPO'nun; zar işlevinin bozulmasına, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenlerine zarar verdiği ve son ürünler olan aldehitlerin de sitotoksik, hepatotoksik, mutajenik ve genotoksik özellikleri ile hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir (14-16).

Glutasyon (GSH); başta karaciğer olmak üzere organizmada tüm hücrelerde bulunan, hücrenin protein yapısı dışındaki sülfhidril grubu içeriğinin %90 kadarını oluşturan, glutamik asid, sistein ve glisinden, -glutamil sistein sentetaz ve glutasyon sentetaz enzimleri aracılığı ile oluşturulan, bir tripeptittir. Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan GSH, hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp, hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı ve toksik etkilerinden korumaktadır (17-20).

Protrombin zamanı (PT); İlk defa 1935 yılında tanımlanmıştır. Ekstresek yoldaki faktör eksikliklerini gösteren bir testtir. Özellikle karaciğer hastalıklarında ve sodyum varfarin kullananlarda uzar. Sodyum Varfarin (CoumadinR) dozunun ayarlanması için PT testinden yararlanılır.

Yara iyileşmesi, hücresel ve biyokimyasal olayların karşılıklı etkileşimini içeren patofizyolojik bir süreçtir. Deride oluşan hasar, reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuna, enzimatik ve enzimatik olmayan çeşitli antioksidanlarda azalmaya, LPO'ya neden olur ve iyileşme sürecini etkiler (21).

Çalışmamızın amacı, varfarin verilen deney hayvanlarında iki yeni nesil farklı lokal hemostatik ajan olan Celox ve ABS'nin kısa dönemde yumuşak doku iyileşmesi üzerine etkilerinin GSH ve LPO miktarlarını değerlendirerek incelemek ve karşılaştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 24 adet Wistar - Albino cinsi, 280 - 560 g. ağırlığında yetişkin, sağlıklı erkek sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları standart sıçan yemi ve içme suyu ile beslenmişlerdir. Bu çalışma için proje kapsamındaki hayvan deneyleri için Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alınmıştır (15.12.2009 tarihli 16/3-2009 sayılı onay).

Sıçanlar kontrol grubu ve varfarin grubu olarak iki gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna cerrahi işlem öncesi 3 gün boyunca, günde 1 kez intraperitoneal 1 ml/kg serum fizyolojik uygulanmıştır. Serum fizyolojik uygulaması cerrahi işlem günü ara verilip, sıçanların sakrifiye edildiği güne kadar devam etmiştir. Kontrol grubu sıçanlarından 6 adeti cerrahi işlem sonrası 4.günde, kalan 6 adeti ise 8.gün de sakrifiye edilmiştir.

Varfarin grubu cerrahi işlem öncesi 3 gün boyunca, günde 1 kez intraperitoneal enjeksiyon ile 0,1mg/kg varfarin uygulanmış, cerrahi işlem günü ara verilip, sakrifiye edilen güne kadar varfarin uygulaması devam etmiştir. Varfarin grubu sıçanlarından 6 adeti cerrahi işlem sonrası 4.günde, kalan 6 adeti cerrahi işlem sonrası 8.günde sakrifiye edilmiştir.

Kontrol ve varfarin gruplarını oluşturan deney hayvanlarının sırtları traşlandıktan sonra, baş-kuyruk doğrultusunda gelecek şekilde sırt derisine birbirlerinden 2 cm aralıklı olarak, 2 cm'lik 3 adet bisturi insizyonu yapılmıştır. İnsizyon yapılan sahadaki yara kenarından biyokimyasal inceleme için, 2x2x10 mm'lik eksize edilip saklanmıştır. Her deney hayvanının sırtında yaratılan 3 adet bistüri yarasında, ortadaki yaraya herhangi bir hemostatik ajan uygulanmazken, baş ve kuyruk kısımlarındaki yaralardan birine 40 mg kitozan granülleri (Celox®), diğerine ise 25 µl kurutulmuş folklorik bitki ekstresi (ABS) uygulanmıştır. Uygulamalardan sonra her 3 yara da suture edilmiştir.

4 ve 8 günlük iyileşme periodundan sonra her iki gruptaki sıçanlara aynı cerrahi prosedür uygulanmıştır. Gerekli asepti ve antisepsi şartları sağlandıktan sonra, deney hayvanları genel anesteziye alınmıştır. Genel anestezi işlemi 90mg/kg Ketamin (Ketalar 500 mg enjektabl 1 flakon, Pfizer

İlaçları Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) ve 10mg/kg Xylazine (Rompun® Bayer HealthCare, Leverkusen, Almanya) birlikte intraperitoneal kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu'na dahil hayvanlardan bir tanesi anesteziye bağlı komplikasyon sonucu ölmüştür ve deney çalışması toplam 23 hayvan ile tamamlanmıştır.

Deney hayvanlarından sakrifiye edildikleri gün, sırt derileri iyileşmekte olan 3 yara bölgesini de tam olarak içine alacak şekilde eksize edilmiştir. 3 yara sahasını ihtiva eden sırt derisi, yara bölgelerini birbirinden ayıracak şekilde 3 ayrı parçaya bölünmüştür Böylece bir hayvanın sırt derisinden ABS® uygulanmış – Kitozan granülleri (Celox®) uygulanmış – Hemostatik ajan uygulanmamış olmak üzere 3 adet iyileşmekte olan yara doku örneği elde edilmiştir. Bu üç doku örneğinden herbiri biyokimyasal değerlendirilme amacı ile saklanmıştır.

Alınan doku örneklerinde total protein Lowry (22), glutatyon (GSH) Ellman yöntemi (23), ve lipid peroksidasyon (LPO) Ledwozwy yöntemi (24) ile tayin edilmiştir. Tüm deney hayvanlarından, sakrifiye edilmeden hemen önce intrakardiyak 2 ml kan örneği alınmış ve bu antikoagülanlı kan örneği 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip, plazması protrombin zamanı tayini için kullanılmıştır. Deney hayvanlarından alınan sırt deri örnekleri serum fizyolojik ile temizlendikten sonra süzgeç kağıdı ile kurutularak nemli tartımları alındı. Bir makas yardımıyla küçük parçalara ayrıldıktan sonra %10 gramlık homojenat elde etmek üzere serum fizyolojik ile soğukdahomojenize edildi. Doku faktörü aktivitesi için homojenat kullanıldı. GSH, LPO ve protein tayinleri için %10 gramlık homojenatların 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmesi ile elde edilen süpernatantlar kullanıldı. Süpernatantlarda total protein total protein Lowry (22), glutatyon (GSH) Ellman yöntemi (23), ve lipid peroksidasyon (LPO) Ledwozwy yöntemi (24) ile tayin edildi. Alınan numunelerde protrombin zamanı çalışması; "Trinity Biotech" (Bray, Co. Wicklow, Ireland) firması tarafından üretilmiş tromboplastin reaktif ile Amelung Amax 200 cihazında koagülometrik olarak" yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 16.0 (Statistical Package for the Social Sciences) Software programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel ölçütler (Ortalama, Standart sapma, frekans) kullanıldı. Kate-

Tablo 1: Başlangıçta (0.gün) cerrahi işlem sırasında alınan ve herhangi bir ajan uygulanmamış doku örneklerinde incelenen parametrelerin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu (n:11) Ort.±S.S	Varfarin Grubu (n:12) Ort.±S.S	p
GSH (mg/gP)	7,18±1,94	4,9±1,58	0,005 ^a
LPO (nmolMDA/mgP)	3,41±1,53	2,52±1,04	NS ^b

Değerler Ort±S.S olarak verilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

NS: Anlamlı değil, Ort: Ortalama, S.S: Standart sapma, GSH: İndirgenmiş Glutasyon, LPO: Lipid Peroksidasyon, P: Protein, ^a: Student "t" test, ^b: Mann Whitney U test

Tablo 2: 4. Gün ve 8. Günde alınan kan örneklerinde PT karşılaştırması

	Kontrol Grubu (n:11) Ort.±S.S	Varfarin Grubu (n:12) Ort.±S.S	p ^a
PT(sn)			
4. gün	11,14±3,00	16,07±2,40	0,014
8. gün	10,62±3,21	26,25±5,61	0,0001
p ^a	NS	0,005	

Değerler Ort±S.S olarak verilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Ort: Ortalama, S.S: Standart sapma, PT: Protrombin zamanı, sn: saniye, a: Student "t" test

gorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Parametrik varsayımların sağlanıp sağlanmadığını test etmek için Kolmogorov- Smirnov testi yapıldı. Niceliksel verilerin, iki bağımsız grubun parametrik test varsayımların sağlanmaması halinde karşılaştırmasında Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. Niceliksel verilerin, iki bağımsız grubun parametrik test varsayımların sağlanması halinde karşılaştırmasında Student t Testi kullanılmıştır. İkili ölçümler için bağımlı gruplarda (tekrarlayan ölçümlerde) Wilcoxon Signed Rank test kullanılmıştır. Niceliksel verilerin, üç ve daha fazla bağımsız grubun parametrik test varsayımların sağlanması halinde karşılaştırmasında Kruskal Wallis Testleri kullanılmıştır. Niceliksel verilerin, üç ve daha fazla bağımsız grubun parametrik test varsayımların sağlanması halinde karşılaştırmasında ve ANOVA varyans analizi uygulanmıştır.

BULGULAR

A-Hemostatik ajan uygulamadan önce cerrahi işlem sırasında alınan doku örneklerinde incelenen parametrelerin karşılaştırılması

Başlangıçta (0.gün) cerrahi işlem sırasında alınan doku örneklerinde GSH değerlerinin varfarin grubunda kontrole göre anlamlı derecede azaldığı (p=0.005) bulunmuş, LPO değerlerinde ise anlamlı derecede fark bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo1).

B-Hemostatik ajan uygulandıktan sonra incelenen parametrelerin karşılaştırılması

B1-Kan Örneklerinin Karşılaştırılması

PT Karşılaştırması

Hemostatik ajan uygulanmaya başlandıktan sonra, deney hayvanlarının sakrifiye edildikleri 4. gün ve 8. günlerde alınan kan örneklerinde PT zamanı tayin edilmiştir. 8. gün sonunda 4. güne göre kontrol grubunda PT değişmezken (p=0,788); varfarin grubunda anlamlı derecede uzamıştır (p=0,005). Kontrol ve varfarin grubunun 4. gün ve 8. günlerdeki PT değerleri ayrı ayrı karşılaştırıldığında da yine varfarin grubunda PT'nin kontrol grubuna göre anlamlı derecede uzadığı saptanmıştır (p=0,014, p=0,0001) (Tablo 2).

B2-Doku örneklerinin karşılaştırılması

4 Gün Sonra

GSH değerlerinin karşılaştırılması:

Hemostatik ajan uygulanmayan ve hemostatik ajan uygulanmış bölgelerde GSH değerleri kontrol grubunda ve varfarin grubunda anlamlı olarak değişmemiştir. Kontrol ve varfarin grupları karşılaştırıldığında; ABS, kitozan ve Hemos-

Tablo 3: Cerrahi işlemden 4 gün sonra alınan doku örneklerinde incelenen parametrelerin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu (n:11) Ort.±S.S	Varfarin Grubu (n:12) Ort.±S.S	p
GSH (mg/gP)			
ABS	16,03±2,88	9,08±2,15	0,001 ^c
Kitozan	17,45±4,06	10,26±3,21	0,009 ^c
HAU	13,9±5,01	8,64±1,58	0,036 ^c
	p^a=NS	p^a=NS	
LPO (nmolMDA/mgP)			
ABS	0,96±0,8	0,67±0,29	NS ^d
Kitozan	0,15±0,06 ^a	0,66±0,29	0,006 ^d
HAU	0,49±0,25	0,74±0,34	NS ^d
	p^b=0,009	p^b=NS	

Değerler Ort±S.S olarak verilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir. NS: Anlamlı değil

Ort: Ortalama, S.S: Standart sapma, P: Protein, GSH: İndirgenmiş Glutatyon, LPO: Lipid Peroksidasyon, H.A.U.: Hemostatik Ajan Uygulanmamış, ABS: Ankaferd Blood Stopper,

^a: ANOVA, ^b: Kruskal Wallis test, ^c: Student t test, ^d: Mann Whitney U test

Kontrol grubunda; ^a: ABS (p=0,009) ve HAU (p=0,009)'a göre anlamlı derecede düşük

Tablo 4: Cerrahi işlemden 8 gün sonra alınan doku örneklerinde incelenen parametrelerin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu (n:11) Ort.±S.S	Varfarin Grubu (n:12) Ort.±S.S	p
GSH (mg/gP)			
ABS	16,83±8,15	8,49±3,10	0,041 ^c
Kitozan	16,39±7,38	9,3±3,31	NS ^c
HAU	10,02±4,31	8,27±2,80	NS ^c
	p^a=NS	p^a=NS	
LPO (nmolMDA/mgP)			
ABS	0,38±0,22	0,67±0,41	NS ^d
Kitozan	0,42±0,16	0,65±0,17	0,030 ^d
HAU	0,54±0,28	0,78±0,37	NS ^d
	p^b=NS	p^b=NS	

Değerler Ort±S.S olarak verilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir. NS: Anlamlı değil

Ort: Ortalama, S.S: Standart sapma, P: Protein, SH: İndirgenmiş Glutatyon, LPO: Lipid Peroksidasyon, H.A.U.: Hemostatik Ajan Uygulanmamış, ABS: Ankaferd Blood Stopper,

^a: ANOVA, ^b: Kruskal Wallis test, ^c: Student t test, ^d: Mann Whitney U test

atik Ajan Uygulanmamış (HAU) bölgeler için varfarin grubunda GSH değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür (sırası ile p=0,001, p=0,009, p=0,036) (Tablo 3).

LPO değerlerinin karşılaştırılması:

LPO değerleri 4. gün sonunda kontrol grubunda anlamlı olarak değişirken (p=0,009), varfarin grubunda anlamlı olarak değişmemiştir. Kontrol grubunda kitozan uygulanan bölgelerde LPO değeri hem ABS uygulanan hem de HAU bölgelere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,009).

Kontrol ve varfarin grupları karşılaştırıldığında; ABS ve HAU bölgelerde LPO değerlerinde istatistiksel açıdan fark saptanmamıştır. Ancak varfarin verilen grupta kitozan uygulanan bölgede kontrol grubuna göre LPO değerleri anlamlı derecede artmıştır (p=0,006) (Tablo 3).

8 Gün Sonra

GSH değerlerinin karşılaştırılması:

Grup içi incelemelerde kontrol grubunda veya varfarin grubunda tüm uygulamalar için GSH değerleri arasındaki anlamlı fark bulunmamıştır. Gruplar arasında ise sadece ABS uygulanan fark bulunmuştur. ABS uygulanan varfarin grubunun GSH değeri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür (p=0,041) (Tablo 4).

LPO değerlerinin karşılaştırılması:

Grup içi incelemelerde kontrol grubunda veya varfarin grubunda tüm uygulamalar için LPO değerlerinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

Kitozan uygulanan bölgede varfarin grubunda kontrol grubuna göre LPO değeri anlamlı derecede artmıştır (p=0,030) (Tablo 4).

Tablo 5: Doku örneklerinde incelenen GSH (mg/gP) değerinin 0, 4. ve 8. gün karşılaştırmaları

	0.Gün Ort.±S.S.	4. Gün Ort.±S.S.	8. Gün Ort.±S.S.
ABS	*	16,03±2,88	16,83±8,15
Kontrol grubu			
Kitozan	*	17,45±4,06	16,39±7,38
HAU	7,18±1,94 ⁰	13,9±5,01	10,02±4,31
ABS	*	9,08±2,148	8,49±3,10
Varfarin Grubu			
Kitozan	*	10,26±3,211	9,3±3,31
HAU	4,9±1,58 ^Δ	8,64±1,578	8,27±2,80

Değerler Ort±S.S olarak verilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Ort: Ortalama, S.S: Standart sapma, P: Protein, GSH: İndirgenmiş glutatyon, HAU: Hemostatik Ajan Uygulanmamış, ABS: Ankaferd Blood Stopper

*0. günde doku örneği, ABS ve kitozan uygulanmadan önce herhangi bir hemostatik ajan uygulanmayacak sahadan alınmıştır.

Wilcoxon Signed Rank test

Kontrol grubunda; ⁰: HAU 4. güne (p=0,048); ABS 4. güne (p=0,043); ABS 8. güne (p=0,043); Kitozan 4. güne (p=0,042); Kitozan 8. güne (p=0,045) göre anlamlı derecede düşük.

Varfarin grubunda; ^Δ: HAU 4. güne (p=0,027); HAU 8. güne (p=0,045); ABS 4. güne (p=0,027); ABS 8. güne (p=0,027); Kitozan 4. güne (p=0,027); Kitozan 8. güne (p=0,042) göre anlamlı derecede düşük.

Tablo 6: Doku örneklerinde incelenen LPO (nmol MDA/mgP) değerinin 0, 4. ve 8. gün karşılaştırmaları

	0.Gün Ort.±S.S.	4. Gün Ort.±S.S.	8. Gün Ort.±S.S.
ABS	*	0,96±0,8	0,38±0,22
Kontrol grubu			
Kitozan	*	0,15±0,06 ^a	0,42±0,16
HAU	3,41±1,53 ⁰	0,49±0,25	0,54±0,28
ABS	*	0,67±0,29	0,67±0,41
Varfarin Grubu			
Kitozan	*	0,66±0,29	0,65±0,17
HAU	2,52±1,04 ^Δ	0,74±0,34	0,78±0,37

Değerler Ort±S.S olarak verilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Ort: Ortalama, S.S: Standart sapma, P: Protein, LPO: Lipid peroksidasyon, HAU: Hemostatik Ajan Uygulanmamış, ABS: Ankaferd Blood Stopper

*0. günde doku örneği, ABS ve kitozan uygulanmadan önce herhangi bir hemostatik ajan uygulanmayacak sahadan alınmıştır.

Wilcoxon Signed Rank test

Kontrol grubunda; ⁰: HAU 4. güne (p=0,041); HAU 8. güne (p=0,041); ABS 4. güne (p=0,041); ABS 8. güne (p=0,026); Kitozan 4. güne (p=0,42); Kitozan 8. güne (p=0,026) göre anlamlı derecede yüksek.

Varfarin grubunda; ^Δ: HAU 4. güne (p=0,045); HAU 8. güne (p=0,042); ABS 4. güne (p=0,026); ABS 8. güne (p=0,024); Kitozan 4. güne (p=0,026); Kitozan 8. güne (p=0,026) göre anlamlı derecede yüksek.

Doku örneklerinde incelenen GSH değerinin 0, 4. ve 8. gün karşılaştırmaları

Kontrol grubunda; 0. gündeki GSH değerleri tüm bölgeler için 4. günde anlamlı derecede artmıştır. GSH değerindeki bu artış ABS ve kitozan için 8. günde korunmuş, HAU bölgesinde ise biraz azalmıştır (Tablo 5).

Varfarin grubunda; 0. günde tespit edilen GSH değerleri 4. günde tüm bölgeler için 4. günde anlamlı derecede artmış, GSH değerindeki bu artış 8. günde de korunmuştur (Tablo 5).

Doku örneklerinde incelenen LPO değerinin 0, 4. ve 8. gün karşılaştırmaları

Kontrol ve varfarin grubunda 4. ve 8. günlerde tüm bölgelerde LPO değerleri 0. güne göre anlamlı derecede azalmıştır (Tablo 6).

Kontrol grubunda; ABS ve HAU bölgelerde 4. gün ve 8. günlerdeki LPO değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken, kitozan uygulanan bölgede 8. günde 4. güne göre artış görülmüştür (p=0,018) (Tablo 6).

TARTIŞMA

Kanama eğiliminde olan hastalarda ve kanama beklenen cerrahi işlemler sırasında ve/veya sonrasında hemostaz sağlanması güçleşmektedir. Oral cerrahi işlemlerinde, anatomileriyle değindiğimiz bu mekanizmaya yardımcı olmak ve gereksiz kan kaybını önlemek amacıyla çeşitli yöntem ve ilaçlar uzun yıllardan beri kullanılmaktadır.

Cerrahi işlemlerde lokal hemostatik ajanlar uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Oral cerrahi girişimlerinde lokal hemostatikler de, kanamayı kontrol altına almak, kemik içi kavileri doldurarak oluşacak pıhtının organize olmasına yardımcı olan bir matriks yapı teşkil etmek ve sekonder kanama riskini ortadan kaldırmak amacıyla rutin olarak uygulanmaktadır (2).

Bizim çalışmamızın da amacı; kanama durdurucu özelliği olan farklı yapıdaki iki lokal hemostatik ajanın kısa dönem yumuşak doku iyileşmesindeki etkinliğini, kontrol grubu ve sistemik olarak varfarin verilmiş deney grubu hayvan modelleri üzerinde araştırmak ve birbirlerine kıyasla değerlendirmektir.

Blinder ve ark. çeşitli nedenlerle oral antikoagülan ilaç kullanan 150 kişilik bir hasta grubunda yaptıkları çalışmada, oral antikoagülan kullanımına ara verilmeden dış çekimlerini gerçekleştirmişler ve kanama kontrolünü üç farklı protokolle sağlayıp değerlendirmişlerdir. Buna göre ilk gruptaki hastalar jelatin sünger ve sütürasyon, ikinci gruptaki hastalara jelatin sünger, sütürasyon ve traneksamik asitli ağız gargarası ve üçüncü gruptaki hastalara ise fibrin yapıştırıcı, jelatin sünger ve sütürasyon uygulanmış, 150 hastanın sadece %8.6'sında postoperatif kanama olmuştur. Bu sonuçlara göre araştırmacılar, antikoagülan tedavi altında bulunan hastalarda dış çekimi sonrasında oluşan kanamanın kontrol altına alınmasında antikoagülan tedavinin kesilmesine gerek olmadığını çekim boşluğunun içine jelatin köpük uygulanması ve sütürasyonun yeterli olduğunu bildirmişlerdir (25).

Morimoto'nun 270 hasta üzerindeki çalışmasında sadece varfarin kullanan, varfarin ile birlikte antikoagülan da kullanan ve sadece antikoagülan kullanan deney grupları oluşturulmuş, toplam 306 sahadan 517 dış çekimi yapılmıştır. Hastaların INR değerleri 1,5 ile 3,7 arasında kaydedilmiştir. Antikoagülan terapi azaltılmamış ya da bırakılmamış olarak dış çekimleri gerçekleştirilmiş, yara bölgelerinin oksidize selüloz ile hemostazi sağlanıp suture edilmiştir. INR

değerleri 1,5 ve 2,49 arasında değişen 9 hastada postoperatif kanama kaydedilmiş, varfarin veya antikoagülan kullanan hastalarda INR<3,0 iken oral cerrahi işlemlerde hemostazın güvenle sağlanabileceğini belirtmiştir (26).

Bizim çalışmamızda da kullanılan lokal hemostatik ajanların klinik etkinlikleri ve lokal hemostatik özellikleri yeterli seviyede bulunmuş olup, intraoperatif ve postoperatif kanama kontrolünde çok başarılı bulunmuştur. Bu açıdan değerlendirildiğinde çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar daha önceki çalışmalarla benzerlik ifade etmektedir. Yukarıdaki çalışmaya benzer olarak, biz de iki lokal hemostatik ajan arasında hemostaz kontrolü açısından klinik gözlemlerde aralarında bir üstünlük tespit etmedik. Bu açıdan değerlendirildiğinde çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar daha önceki çalışmalarla benzerlik taşımaktadır (25,26).

Haasch ve ark. yaptıkları çalışmalarında, sıçan tibialarında oluşturulan deneysel kemik kavilerine mikrofibriler yapıda kollajen ve selülozik asetat yapıda iki farklı lokal hemostatik ajan uygulamışlar ve sonuçları 7., 14., 28., 90. ve 120. günlerde histolojik olarak değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak her iki hemostatik ajanın da hemostaz sağlanmasında etkili olduklarını ancak selülozik yapıda olan ajanın doku uyumluluğunu kabul edilebilir sınırların dışında bulmuşlar ve sadece uygulama sonrası yaradan uzaklaştırılabilecek açık yaralarda kullanımını önermişlerdir (27).

Bizim çalışmamızda da, her ne kadar üstün hemostatik etki sağlasa bile, granül formundaki kitozan uygulanmış bölgelerde hemostaz sağlandıktan sonra kitozanın çok iyi uzaklaştırılmış olması gerekmektedir. Klinik gözlemlerde kitozan granüllerinin doku uyumluluğunun iyi olmadığı ve makroskopik olarak klinik açıdan değerlendirildiğinde yara bölgesindeki epitelizasyonu engellediği görülmüştür.

Tomizawa yaptığı araştırmada üç farklı hemostatik ajani (jelatin köpük, kollajen fibrin, oksidize selüloz) birbirlerine oranla klinik faydaları ve istenmeyen doku reaksiyonları geliştirmeleri açısından değerlendirmiş ve kollajen esaslı hemostatiklerin daha güvenilir olduğunu bildirmiştir (28). Bizim çalışmamızda da, kitozan uygulanmış alanlarda klinik olarak epitelizasyon tam anlamıyla sağlanmadığı için istenmeyen doku reaksiyonlarıyla karşılaşılması söz konusu olmuştur.

Elg, varfarin ile heparin ve düşük molekül ağırlıklı trombin inhibitörleri melagatran ve inogatran'ın arteriyel tromboz modeli yaratılmış sıçanlardaki doza bağlı gelişen antitrombotik etkilerini karşılaştırmıştır. Suda çözülmüş varfarin

3ml/kg dozunda günde 1 kez oral gavaj yöntemiyle işlem- den 4 gün önceden verilmeye başlandığında ve son doz deney sabahı verildiğinde, varfarin için antitrombotik etki- nin doz ikiye çıkarıldığında %23'den %81'e yükseldiğini tes- pit etmiştir (29).

Elg'in çalışmasından farklı olarak biz deney hayvanları- na varfarini işlemden önceki 3 gün boyunca günde 1 kez 0,1 mg/kg dozda intraperitoneal yolla uyguladık. Hayvanların Elg'in çalışmasında verilen varfarinin bir kısmını çeşitli nedenlerle metabolize edememe ihtimaline karşılık, kendi çalışmamızda daha kontrollü gözükten bu uygulama yolu ile deney hayvanlarının verilen varfarin dozundan tam olarak etkilendiklerini düşünüyoruz. Çalışmamızda varfarin verilen hayvanların ne kadar etkilendiğini görmek amacı ile sakrifi- ye edildikleri gün alınan kan örneklerinde PT tayin ettik. Sonuç olarak 4. günde ve 8. günde, daha önceden hedefle- diğimiz artışa ulaşabildik. Fakat dozun değişmediği bu ortamda 4. günden, 8. güne görülen bu artış, düzenli olarak varfarin kullanan bir insan için düşünüldüğünde iyi bir örnek olmamaktadır. Varfarin kullanan hastaların model- lenmesi için yapılan sıçan deneylerinde, aynı insanlardaki gibi sürekli artmadan sadece belirli bir aralıkta seyreden PT değerlerine ulaşılabilir varfarin rejimi bilgileri için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Çipil ve ark.yaptıkları çalışmada, varfarin tedavisi altın- daki sıçanlarda medikal bitki ekstresi ABS'ın hemostatik etkisini in vivo olarak incelemiştir. Bilateral olarak yapılan arka bacak amputasyonlarından önce 4 gün boyunca oral yoldan 2 mg/kg varfarin tedavisi uygulanmış sıçanlara, amputasyon sonrası bir bacağa topikal 4 ml ABS uygulama- sı yapılmış ve kanama süresi ile miktarı hemostatik etkinin ölçülmesi açısından değerlendirilmiştir. Sonuçta kanama zamanı ve miktarında %31,9 ila %53,8 arasında bir azalma hesaplanmış ve ABS'nin in vivo hemostatik etkilerinin klinik olarak primer hemostaz sorunu olan hastalarda terapötik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (30).

Xiaohong ve ark., kitozan sünger tamponlar ve kollajen sünger tamponların biyoyoumluluk, adezyon kabiliyeti ve hemostatik yetkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında, tav- şanların servikal ven yaralanmalarında deneylerini gerçek- leştirmişlerdir. Bu iki ajan arasında hemostaz başarısında kayda değer bir fark görünmezken, kitozan süngerlerin çev- re dokulara çok sıkı adezyon sağladığını belirtmişlerdir. Kol- lajen süngerlerin ise kolayca dokudan ayrılabilirdiğini söyle- mişlerdir. Koşulların kuru olmadığı durumlarda ise adezyon

kabiliyeti açısından bir fark görülmediğini aktarmışlardır. Bu materyallerin tavşan dokularına implante edildiği durumda ise, kitozan süngerlerin kollajen süngerlere göre çok daha yavaş rezorbsiyonuna rağmen dokunun tepkisinin kollajen süngerlere göre çok daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir (31).

Biz çalışmamızda, kitozan granüllerinin takibini yaptığ- ımız 8 günlük periyotta makroskopik olarak klinik açıdan değerlendirildiğinde yeterli rezorbsiyona uğramadığını gördük. Kısa dönemde daha iyi bir yara iyileşmesi için kito- zan granüllerinin uygulandığı yara bölgesinden çok iyi uzaklaştırılması gerektiği kanısındayız.

Köksal çalışmasında şiddetli femoral arter kanamalı sıçan modelinde hem hipotermik koşullarda hem de varfa- rin tedavisi altındaki sıçanlarda, bir hemostatik ajan olan Celox®'un hemostatik etkinliğinin araştırılması, ayrıca Celox®'un hemostatik etkinliğinde trombositlerin rolünün ortaya çıkarılmasını amaçlamıştır. Deneylerde 200-350 gram ağırlığında 68 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanmış olup, ilk grupta normotermi + bası, 2. grupta nor- motermi + Celox®, 3. Grupta hipotermi + bası, 4. grupta hipotermi + Celox®, 5. grupta normotermi + varfarin + bası, 6. grupta normotermi + varfarin + Celox® uygulandı. Ayrıca sadece bası ve Celox® uygulanan iki grupta kanama oluşturu- lması öncesi ve sonrası alınan kanlarda ADP ile uyarılan trombosit agregasyonları değerlendirilmiştir. Varfarin teda- visini gören sıçanlara 3 gün boyunca oral yoldan gavaj ile var- farin (0.06 mg/kg) verilmiş ve son dozunu aldığı günün sabahı son dozdan 30 dakika sonra deneye başlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan Celox®, sadece normotermide değil aynı zamanda hipotermide ve bir oral antikoagülan ajan olan varfarin kullanımında da etkili kanama kontrolü sağla- maktaki ve belirgin olarak hemostaz süresini kısaltmaktadır görüşüne ulaşmış ve bulgulara göre Celox®'un kanama kontrolündeki etkinliğinde trombosit agregasyonunun rolü olmadığı düşünülmektedir (32).

Bizim çalışmamızdan farklı olarak Çipil ve ark. (30) ve Köksal (32) dahil birçok çalışmada cerrahi işlem sonrasında deney hayvanlarının canlı tutulmasına gerek duyulmamış- tır. Çalışmamızda varfarin dozunun çok dikkatli ayarlanma- sı, cerrahi işlem ardından varfarin uygulanmış hayvanları canlı tutmak, yaratılan kanama diyatezi ve varfarin uygula- nan hayvan dokularında çalışmamızca da ispatlanmış olan iyileşme gücünü nedenleriyle en gerekli kılınan noktadır. Varfarin için uygulamış olduğumuz intraperitoneal yol ile 0.1

mg/kg miktarın, bizim gibi deney hayvanının cerrahi işlem sonrasında yaşatılması gereken çalışmalar için örnek olarak alınabilecek bir doz olduğu kanısındayız.

Kitozan esaslı hemostatik ajan Celox® ve folklorik bitki ekstresinden elde edilen hemostatik ajan ABS'in diğer hemostatik ajanlarla kıyaslandığı ve karşılaştırıldığı birçok çalışma sayılabilmesine rağmen, birbirleriyle karşılaştırıldıkları çalışma sayısı yok denecek kadar azdır.

Huri ve ark. yaptıkları çalışmada, ABS'yi diğer hemostatik ajanlarla (Glubran 2, Celox® ve Floseal) karşılaştırmıştır. 40 adet Wistar cinsi sıçanda yapılan araştırmada, eşit sayıda gruplara ayrılan deneklerin parsiyel nefrektomi sonrası eksizyon bölgelerine hemostatik ajanlar uygulanıp, bir grup da kontrol için hemostatik ajan uygulanmadan bırakılmıştır. Sıcak iskemi zamanı ve kanama zamanı kaydedilmiştir. Sıcak iskemi zamanı karşılaştırıldığında ABS grubunda anlamlı derecede düşük, kanama zamanı değeri ise kontrol grubuna göre düşük, diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Fibrozis, adezyon ve kalsifikasyon diğer gruplarla kıyasla ABS grubunda izlenmemiş ve ABS'in sıcak iskemi zamanı ve kanama zamanı değerlerinin diğer lisanslı hemostatik ajanlar kadar etkin olduğu ve histopatolojik olarak da daha iyi bulgular göz önüne serdiği belirtilmiştir (33).

Arpacı, Ankaferd Blood Stopper® ve kitozan (Celox®)'ın 24 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan üzerinde uygulanan diş çekimi yaralarındaki kısa dönem yumuşak ve sert doku iyileşmesini karşılaştırmıştır. 24 denekte bilateral olarak yapılan diş çekimleri sonucu toplam 48 deney sahası oluşturulmuş ve bu deney bölgeleri kullanılan ilaçlar, kontrol için bırakılan bölgeler ve farklı inceleme zamanları baz alınarak gruplar oluşturulmuştur. Yara sahalarına 1 ml ABS, diş çekim soketini dolduracak kadar Celox® ya da sade tamponla kompres uygulanmış, 2., 7. ve 21. günlerde histolojik inceleme için deney hayvanları sakrifiye edilmiştir. Çalışma sonucunda, inflamasyon değerleri ABS uygulanan çekim soketlerinde daha düşük bulunmuştur. Nekroz değerleri ABS için 2. günden itibaren Celox®'a ve kontrol grubuna göre yüksek, Celox®'un nekroz değeri ise 2. günden itibaren artan bir düşüş grafiği çizmiştir. Bu değer Celox® grubunda granülasyon dokusundan fakir ve daha kaliteli bir iyileşme olarak yorumlanmıştır. Fibrozis değerleri Celox® grubunda diğer iki gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ve bu da Celox® grubunda geç ama daha iyi bir iyileşme olarak tanımlanmıştır. Epitel rejenerasyonu Celox® grubunda en yüksek, ABS grubunda ise en düşük olarak bulunmuştur.

Yeni kemik oluşum değerlerinde ise 21. gün itibari ile ABS grubunda daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan deney, Celox®'un kaliteli bir iyileşme yaratırken ABS'in hızlı bir iyileşme yarattığı olarak özetlenmiş, bu materyallerin etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması için konunun farklı yönlerden ele alınmasının gerekliliğinden bahsedilmiştir (34).

Lokal hemostatik ajanların yara iyileşmesine etkilerini GSH ve LPO açısından inceleyen çalışmamız literatürde bir ilktir. Öte yandan çalışmamızda incelediğimiz parametrelerle ilgili şimdiye kadar yapılmış farklı araştırmalar bulunmaktadır. GSH doku ve hücreleri oksidatif hasardan koruyan antioksidan sistemin önemli bir parçası ve organizmada süregelen hastalıklarda yıkımdan sorumlu olan oksidatif stresin önlenmesinde önemli bir belirteçdir (35). Anandan ve ark. (36) kitozanın HCl-etanol ile ülser oluşturulan sıçanlarda GSH dahil mukozal antioksidan savunma sistemlerini iyileştirip antiülserojenik etki gösterdiğini bildirmiştir. Koryagin ve ark. (37) oral yolla uygulanan kitozan ve kitozan oligomerlerinin normal ve oksidatif stres modeli olarak iyonize radyasyona maruz bırakılmış sıçanlarda incelemişler ve kitozan uygulamasının iyileşme sürecinde LPO'yu azaltarak olumlu etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak Celox oral yolla değil lokal olarak uygulanmıştır. Cerrahi işlemden 4 gün sonra kontrol grubunda kitozan uygulanan bölgelerde LPO değeri hem ABS uygulanan hem de HAU bölgelere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Lee ve ark. (38) ABS içeriğindeki T. Vulgaris'in in vitro lipid peroksidasyonu önleyerek antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmamızda ise ABS uygulanan bölgelerde LPO da anlamlı azalma bulunmamıştır. Literatürde çalışmamıza benzer Ankaferd Blood Stopper'in in vivo antioksidan etkisi ile çalışmalar bulunmadığından bu konuda yapılacak araştırmalara ihtiyaç vardır.

Literatürdeki insan çalışmalarının hemen hepsi lokal hemostatik ajanları klinik işlerliğinin araştırılmasına yöneliktir. Yapılan hayvan çalışmalarında ise çoğunlukla ilgili materyallerin sebep oldukları doku reaksiyonları histolojik olarak incelenmiştir. Bizim çalışmamızın amacı ise, farklı yapıdaki lokal hemostatik ilaçların kanama durdurucu özelliklerinin erken dönem yumuşak doku iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması ve birbirlerine kıyasla değerlendirilmesidir.

Bu amaç doğrultusunda, kullandığımız iki farklı yapıdaki

lokal hemostatik ajan, kanama durdurucu özelliklerinin yanı sıra GSH ve LPO gibi doku parametrelerine etkileri açısından ele alınmıştır. Çalışmamızın araştırılan GSH ve LPO gibi dokuda iyileşme potansiyelini ve kalitesini gösteren biyokimyasal testlerin ABS uygulanmış dokularda incelenmesi açısından bir ilk olduğunu düşünüyoruz.

SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmamızda kullanılan lokal hemostatik ajanların intraoperatif ve postoperatif kanama kontrolünde

etkili olduğu ve oral cerrahi işlemlerinde güvenle kullanılabilirliği; varfarin ve lokal hemostatik ajan uygulamasının antioksidan etkiyi zayıflattığı; ABS'nin özellikle makroskopik olarak klinik gözlemler açısından iyileşme potansiyeline olumlu bir etkisinin olduğu, Kitozan uygulamasının erken dönemde oksidan göstergeye etkisinin ABS uygulamasına ve HAU doku örneklerine kıyasla daha olumlu olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu materyallerin etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması ve potansiyel yararlarının geliştirilmesi için konunun farklı yönleriyle de ele alınması gerektiği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Doron J. Aframian, DMD, PhD, a Rajesh V. Lalla, BDS, PhD,b and Douglas E. Peterson, DMD, PhD. Management of dental patients taking common hemostasisaltering Medications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103(suppl 1):S45.e1-S45.e11
- D. Blinder, Y. Manor, U. Martinowitz, S. Taicher. Dental extractions in patients maintained on oral anticoagulant therapy: Comparison of INR value with occurrence of postoperative Bleeding. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2001; 30: 518-521.
- Devani P, Lavery KM, Howell CJ. Dental extractions in patients on warfarin: is alteration of anticoagulant regime necessary? *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1998;36:107-111.
- S. Salam, H. Yusuf, A. Milosevic. Bleeding after dental extractions in patients taking warfarin. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2007; 45: 463-466.
- Cawson R, Spector R, Skelly A. *Basic Pharmacology And Clinical Drug Use İn Dentistry.* 6th Ed., Edinburgh: Churchill Livingstone Inc.; 1995.p.115-118.
- Karslı Gürel ED. Warfarin Ve Heparin Kullanımının Diş Çekimine Bağlı Oluşan Kanama Üzerine Etkilerinin Klinik Ve Laboratuvar Değerlerle Karşılaştırılması. Adana. T.C. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi; 2006.
- Gacar N, Komsuoğlu B, Utkan T. Kalp- Damar Hastalıkları Farmakolojisi.1. Baskı, Kocaeli: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti; 2005. p.223- 254.
- Mann K. The challenge of regulating anticoagulant drugs: focus on warfarin. *Am Heart J.* 2005; 149:536-542.
- Tasdelen Fisgin N, Tanriverdi Cayci Y, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, Tulek N. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper®. *Fitoterapia.* 2009;80:48-50.
- Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res.* 2008; 36:163-70.
- Köksal Ö. Hipotermi Ve Warfarin Uygulanan Şiddetli Femoral Arter Kanamalı Sıçan Modelinde Chitosan Linear Polymer (Celox®)'in Hemostatik Etkinliğinin Araştırılması. Bursa. T. C. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı; 2009.
- Malette WG, Quigley H, Gaines RD. Chitosan: A new hemostatic. *Ann Thorac Surg.* 1983; 36:55
- Klokkeuld PR, Fukayama H, Sung EC, Bertolami CN. The Effect of Chitosan (poly-N-Acetyl Glucosamine) on Lingual Hemostasis in Heparinized Rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57:49-52
- İseri S, Gedik İ, Erzik C, Uslu B, Arbak S, Gedik N, Yegen B Ç. Oxytocin amelionates skin damage and oxidant gastric injury in rats with thermal trauma. *Burns.* 2008; 34(3):361- 369.
- İynem HA. Prostat Kanseri ve Antiandrojenik Tedavinin, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkisi. İstanbul. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, 2000.
- Kemerli GD. Diabetik Hastalarda Lipid Peroksidasyonu Eritrosit Membranındaki Protein Oksidasyonu ve Na⁺-K⁺ ATPaz Aktivitesi. İstanbul. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi; 2000.
- Beutler E. *Glutathione in Red Cell Metabolism : A manual of Biochemical methods,* 2nd ed., Grune and Tratten.1975; p.112-114.
- Beutler E. Nutritional and metabolic aspects of glutathione. *Annu Rev Nutr,* 1989; 9:287-302.
- Gönül O. Oral Cerrahi İşlemlerinde Kullanılan Lokal Hemostatik Ajanların Tükürük Ve Doku Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. İstanbul T.C. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi; 2009.
- Tuskan K. Seröz Otitli Çocuklarda Kan ve Seröz Otit Sıvılarında Glutasyon ve Süperoksit Dismutaz Seviyelerinin Ölçümü ve Bu Seviyelerin Odiyogramda Tespit Edilen İsitme Kaybı ile Karşılaştırılması. İstanbul. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi; 2002.
- Gupta A, Singh RL, Roghubir R: Antioxidant status during cutaneous wound healing in immunocompromised rats. *Mol Cell Biochem* 2002; 241:1-7.
- Lowry OH, Rosebrough AL, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with Folin-Phenol reagents. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- Beutler, E. Glutathione in red blood cell metabolism. In: *A manual of biochemical methods.* New York : Grune & Stratton, 1975. p.112-114.

24. Ledwozwy AJ, Michalak A, Stepien A, Kadziolka A. The relationship plasma triglycerides, cholesterol, total lipids, and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 1986;55:275-284.
25. Blinder D, Manor Y, Martinowitz U, Taicher S. Dental extractions in patients maintained on continued oral anticoagulant Comparison of local hemostatic modalities. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88:137-40.
26. Morimoto Y, Niwa H, Minematsu K. Hemostatic Management of Tooth Extractions in Patients on Oral Antithrombotic Therapy *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2008;66(1):51-57
27. Haasch GC, Gerstein H, Austin PB. Effects of two hemostatic agents on osseous healing. *Journal of Endodontics*. 1989;15(7):310-314.
28. Tomizawa Y. J. Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. *Artif Organs*. 2005;8(3):137-42.
29. Elg M, Gustafsson D, Carlsson S. Antithrombotic effects and bleeding time of thrombin inhibitors and varfarin in the rat. *Thrombosis Research*. 1999;94:187-197.
30. Cıvil HS, Koşar A, Kaya A, Uz B, Haznedaroğlu İC, Göker H, Özdemir G, Köroğlu M, Kirazlı Ş, Fırat HC. In vivo hemostatic effect of the medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper® in rats pretreated with varfarin, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2009; 15(3):270-276.
31. Wang X, Yan Y, Zhang R. A comparison of chitosan and collagen sponges as hemostatic dressing. *Journal Of Bioactive And Compatible Polymers*. 2006; 21: 39.
32. Köksal Ö. Hipotermi Ve Varfarin Uygulanan Şiddetli Femoral Arter Kanamalı Sıçan Modelinde Chitosan Linear Polymer (Celox®)'in Hemostatik Etkinliğinin Araştırılması. Bursa. T. C. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı; 2009.
33. Huri E, Akgül T, Yücel O, Astarıcı M, Üstün H, Germiyanoglu C. The second step in vitro trial of Ankaferd Blood Stopper®: Comparison with the other hemostatic agents; Glubran2, Floseal and Celox®. *Eau 5th south eastern european meeting (seem)/ european urology supplements* 2009;8:607-655.
34. Arpacı E. Sıçanlarda diş çekimi sonrasında uygulanan lokal hemostatik ajan Ankaferd'in doku iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması olarak incelenmesi. İstanbul. T.C. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi; 2010.
35. Dalton T, Chen Y, Schneider S, Nebeet D, Shertzer H. Genetically altered mice to evaluate glutathione homeostasis in health and disease. *Free Radical Biology & Medicine* 2004; 37(10):1511-1526.
36. Anandan R, Nair PG, Mathew S. Anti-ulcerogenic effect of chitin and chitosan on mucosal antioxidant defence system in HCl-ethanol-induced ulcer in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2004;56:265-269.
37. S. Koryagin, E. A. Erofeeva, N. O. Yakimovich, E. A. Aleksandrova, L. A. Smirnova and A. V. Mal'kov .Analysis of antioxidant properties of chitosan and its oligomers. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2006;142(4):461-463.
38. Lee SJ , Umamo K , Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties *Food Chemistry*. 2005; 91:131-137.