



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ**

**POVIDON İYODÜR, HİDROJEN PEROKSİT VE KLORHEKSİDİNİN
SIÇAN FEMURU KIRIK MODELİNDE KEMİK İYİLEŞMESİNE
ETKİLERİ**

Dr. Hakan Özbay

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2019



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ**

**POVIDON İYODÜR, HİDROJEN PEROKSİT VE KLOORHEKSİDİNİN
SIÇAN FEMURU KIRIK MODELİNDE KEMİK İYİLEŞMESİNE
ETKİLERİ**

Dr. Hakan Özbay

Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Akif Güleç

Uzm. Dr. Serdar Yüksel

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2019

TEŞEKKÜR

Ortopedi ve travmatoloji ihtisasım süresince, ahlaklı bir cerrah ve yönetici olmanın sırlarını hiç bıkmadan öğretmeye çalışan, cerrahi yöntemden ziyade temel prensipleri kavramamı sağlayan, etik anlayışını ve davranış şeklini benimseten, bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan hiç çekinmeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. M. Akif Güleç'e;

İhtisasım süresince, cerrahi deneyimlerini, bilgi birikimini ve desteklerini esirgemeyen, davranış şeklimin oluşmasında fazlaca katkısı bulunan, bilginin diyetinin öğretmek olduğunu öğrendiğim ve daha birçok şey öğreneceğim Dr. Oktay Adanır, Dr. Ender Alagöz ve Dr. Serdar Yüksel abilerime,

Kıdemlim, ustam, abim Dr. Erdal Eren'e,

Her birinden ayrı tecrübeler edindiğim kliniğimizin tüm diğer uzmanlarına,

Can dostum ve kıdemlim Dr. Abdurrahman Acar ve kardeşim Dr. M. Fatih Daşçı'ya,

Başta sevgili babaannem, annem, babam ve kardeşim olmak üzere dahil olmaktan hep gurur duyduğum tüm Özbay Ailesi'ne,

Çıkar, zaman ve yer gözetmeden daima destekçim olmuş ve olacak, sevgili dostlarım Mehmet H. Tüylüce, Kadir Cemoğlu ve Erdem N. Ayaş'a teşekkür ederim.

Son olarak;

Katlanılmaz günlerimi çekilebilir kılan, yol arkadaşım ve müstakbel eşim Dr. Y. Şebnem Aydın'a minnetle,

Dr. Hakan Özbay

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KEMİK DOKUSU	3
2.1.1. Yapı.....	3
2.1.1.1. Makroskopik yapı	3
2.1.1.1.1. Kemik şekilleri	3
2.1.1.1.2. Kortikal ve kansellöz kemik.....	4
2.1.1.2. Mikroskopik yapı	4
2.1.1.2.1. Mineralize ve mineralize olmayan kemik matrisi	4
2.1.1.2.2. Örgümsü ve lamellar kemik	4
2.1.2. Kompozisyon	5
2.1.3. Damarsal beslenme ve innervasyon	6
2.2. KIRIK İYİLEŞMESİ	6
2.2.1. Kırık iyileşmesinin evreleri.....	7
2.2.1.1. Enflamasyon ve onarım evresi	7
2.2.1.2. Yeniden şekillenme evresi:	7
2.2.2. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler	8
2.2.2.1. Sistemik faktörler	8
2.2.2.2. Lokal faktörler.....	8
Yaralanma durumundan ve diğer durumlardan bağımsız lokal faktörler: ...	8
2.2.3. Kırık iyileşmesinde moleküler biyoloji.....	10
2.3. ANTİSEPTİK SOLÜSYONLAR	13
2.3.1. Povidon iyodür	14

2.3.2.Klorheksidin glukonat.....	15
2.3.3.Hidrojen peroksit.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
3.1. ÇALIŞMA PLANI.....	18
3.2. CERRAHİ TEKNİK.....	20
3.2.1.Anestezi.....	20
3.2.2. Antiseptik irrigasyon solüsyonlarının hazırlanması.....	20
3.2.3. Cerrahi teknik.....	21
3.3. RADYOLOJİK İNCELEME.....	30
3.4. BİYOMEKANİK İNCELEME.....	32
3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME.....	35
3.6. HİSTOMORFOMETRİK İNCELEME.....	36
3.7. İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME.....	36
3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM.....	37
4.BULGULAR.....	38
4.1. RADYOLOJİK BULGULAR.....	38
4.1.1.Kallus Hacmi ve Kemik Hacmi.....	38
4.1.2. Kemik Mineral Yoğunluğu (BMD).....	38
4.2.BİYOMEKANİK BULGULAR.....	39
4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	40
4.3.1. Kırık iyileşme skorları.....	40
4.3.2. İnflamasyon skorları.....	41
4.4. HİSTOMORFOMETRİK BULGULAR.....	44
4.5. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR.....	45
5.TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇLAR.....	58
7. KAYNAKÇA.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	71
EKLER.....	76
EK 1. Etik kurul onay formu.....	76
EK 2. Tıpta Uzmanlık Eğitim Komisyonu Proje Bütçe Onay Formu.....	78

KISALTMALAR

Ark	: Arkadaşları
BMD	: Kemik mineral yoğunluğu
BMP	: Kemik morfojenik protein
Ca	: Kalsiyum
CD34	: Yüzey farklılaşma antijeni
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonukleik asit
FGF-2	: Fibroblast büyüme faktörü-2
Fmak	: Maksimum kırılma kuvveti
G	: gram
H+E	: Hematoksilen + Eozin
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1	: İnterlökin-1
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
IL-6	: İnterlökin-6
kDa	: Kilo dalton
kg	: Kilogram
kHz	: Kilo hertz
kN	: Kilo newton
M-CSF	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
mBT	: Mikro bilgisayarlı tomografi
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
Mpa	: Megapaskal
MRSA	: Metisilin dirençli Stafilokokkus aureus
MT	: Masson-Trikrom
N	: Newton
NF-κB	: Nükleer faktör kappa beta
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
σbend	: Bükülme mukavemeti
RANKL	: NF- κ B ligand reseptör aktivatörü

TGF- β 3 : Transforme edici büyüme faktörü- β 3
TNF- α : Tümör nekrozis faktör α
VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü



TABLolar LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 3.1: Deney hayvanlarının gruplara göre dağılımı	19
Tablo 3.2: Kırık iyileşmesinde histolojik iyileşme skalası	35
Tablo 4.1: mBT ile değerlendirilen parametrelerin gruplara göre istatistiksel dağılımı	38
Tablo 4.2: Histopatolojik bulguların gruplara göre istatistiksel dağılımı	41
Tablo 4.3: İmmunohistokimyasal inceleme BMP-4 işaretlemesinin gruplara göre istatistiksel dağılımı	46
Tablo 4.4: İmmunohistokimyasal değerlendirmede BMP-7 işaretlemesinin gruplara göre istatistiksel dağılımı	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No:

Şekil 2.1: Kırık onarımının evrelerinin ve bunların moleküler yollarla ilişkisinin şematik görünümü.....	12
Şekil 3.1: Cerrahi bölgenin tıraş edilmiş görünümü	22
Şekil 3.2: Femurun açığa çıkarılması sonrası lateralden görünümü	22
Şekil 3.3: Eksplore edilen femurun diyafiz bölgesinden mikro kesici yardımıyla osteotomize edilmesi.....	23
Şekil 3.4: Femurun osteotomize edildikten sonraki görünümü	23
Şekil 3.5: K-telinin antegrad gönderildikten sonraki görünümü.....	24
Şekil 3.6: K-telinin retrograd gönderilmesi sonrası redüksiyonun sağlanması ile kırık hattının görünümü	24
Şekil 3.7: Diz bölgesinde dışarıda kalan K-telinin kesilerek uzaklaştırılması.....	25
Şekil 3.8: Redüksiyon ve tespit sonrası kırık hattına %0,9 izotonik sodyum klorür uygulanması	25
Şekil 3.9: Redüksiyon ve tespit sonrası %3'lük hidrojen peroksitin kırık hattına uygulanması	26
Şekil 3.10: Kırık hattına %3'lük hidrojen peroksit uygulandıktan sonra yara yerinde bekletilmesi	27
Şekil 3.11: Redüksiyon ve tespit sonrası kırık hattına %1'lik povidon iyodür uygulanması	27
Şekil 3.12: %1'lik povidon iyodür uygulanan sahada sıvının bekletilmesi	28
Şekil 3.13: Cerrahi sonrası fasyanın suture edilmiş görünümü.....	28
Şekil 3.14: Cerrahi sonrası analjezi uygulanması	29
Şekil 3.15: Redüksiyon ve tespit sonrası sağ femur kontrol radyografi görüntüsü ...	30
Şekil 3.16: Radyolojik inceleme için kullanılan mikro bilgisayarlı tomografi cihazı	30
Şekil 3.17: Kontrol grubu femurunda, 4. haftada yapılmış mBT aksiyel kesitte kırık hattına ait görüntü	31
Şekil 3.18: Kontrol grubu femurunda, 4. haftada yapılmış mBT' de kırık hattının üç boyutlu rekonstrükte edilmiş görünümü	32
Şekil 3.19: Biyomekanik analiz için kullanılan test cihazı	33

Şekil 3.20: Üç nokta eğme testi için test cihazına yerleştirilmiş sağ femur kemiği görünümü	34
Şekil 4.1: Fmak(N) değerinin gruplara göre dağılımı.....	39
Şekil 4.2: σbend [Mpa] değerinin gruplara göre dağılımı.....	40
Şekil 4.3: İnflamasyon skoru değerlerinin gruplara göre dağılımı	41
Şekil 4.4: Histopatolojik incelemede, Salin grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alтта) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X).....	42
Şekil 4.5: Histopatolojik incelemede, KHG grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alтта) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X).....	42
Şekil 4.6: Histopatolojik incelemede, PVP-I grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alтта) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X).....	43
Şekil 4.7: Histopatolojik incelemede, HPO grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alтта) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X).....	43
Şekil 4.8: CAr/Ct. Ar yüzde değerlerinin gruplara göre dağılımı.....	44
Şekil 4.9: İmmunohistokimyasal incelemede BMP-4 işaretlemeye KHG grubunun kırık iyileşmesinin 4. haftasındaki mikroskopik görüntüsü. Total büyütme 10X.....	46

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda; yıkama solüsyonunun içeriğini değiştirerek, günlük pratikte sık kullanılan üç farklı antiseptik ajanın (hidrojen peroksit, klorheksidin ve povidon iyodür) kırık iyileşmesi üzerine etkilerini, sıçan femuru açık kırık modelinde radyolojik, biyomekanik, histopatolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal açıdan değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Deneysel hayvan çalışmamızda toplam 48 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan, kontrol (Salin), klorheksidin (KHG), hidrojen peroksit (HPO) ve povidon iyodür (PVP-I) olarak dört gruba ayrıldı. Sıçan femuru açık kırık modeli oluşturularak kanal içi tespit sağlandı. Solüsyonlar, kırık hattına belirlenen konsantrasyon ve sürede uygulanarak, kırık kaynamasının 28. gününde tüm denekler sakrifiye edildi. Tüm deneklerin femurları çıkarılarak mikro bilgisayarlı tomografi ile radyolojik inceleme yapıldı. Sonra gruplar kendi içinde rastgele eşit sayıda ikiye ayrılarak bir gruba biyomekanik; diğer gruba ise histopatolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal incelemeler yapıldı. İstatistiksel analizlerde SPSS 22.0 programı kullanıldı.

Bulgular: Radyolojik incelemede, PVP-I grubunda BMD (kemik mineral yoğunluğu) değeri diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Histopatolojik incelemede, inflamasyon skoru, KHG grubunda diğer gruplara göre; PVP-I grubunda Salin ve HPO gruplarına göre anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Histomorfometrik açıdan, total kallus alanı/korteks alanı değerleri, HPO grubunda diğer gruplara; PVP-I grubunda Salin ve KHG gruplarına göre anlamlı olarak düşüktü ($p<0.05$). İmmunohistokimyasal değerlendirmede, BMP-4 (kemik morfojenik protein-4) işaretlemesinde; HPO grubunda osteblast ve kondroblast değerleri diğer gruplara; KHG grubunda kondroblast değeri Salin ve PVP-I grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). BMP-7 (kemik morfojenik protein-7) işaretlemesinde; KHG grubunda fibroblast değeri diğer gruplardan anlamlı olarak düşük, osteoplast değeri ise daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$).

Sonuç: Üç farklı antiseptik ajanın kaynamanın 4. haftasındaki etkilerinin incelendiği çalışmamızda; antibakteriyel etkinliğini azaltmayarak ve yumuşak doku

toksitesini en aza indirgeyerek; kırık iyileşmesini olumsuz etkilemeden antiseptik özelliklerinden faydalanabileceğimiz bir yıkama sıvısı elde etmeyi amaçlamıştık. %0,05'lik klorheksidin solüsyonunda, kırık iyileşmesine etkileri açısından normal saline (%0,9 izotonik sodyum klorür) en yakın sonuçları elde ettik. Ortopedik enfeksiyonların komplikasyonlarının azaltılmasında yıkama solüsyonu olarak %0,05'lik klorheksidin kullanılmasının basit, uygulanabilir, ulaşılabilir ve maliyet etkin bir çözüm olabileceği görüşündeyiz.

Anahtar kelimeler: Enfeksiyon, femur, kırık iyileşmesi



ABSTRACT

Aim: In this study, we aimed to evaluate the radiological, biomechanical, histopathological, histomorphometric and immunohistochemical effect of different antiseptic agents (hydrogen peroxide, chlorhexidine and povidone iodine) used frequently in daily practice, on fracture healing, by changing ingredients of solution.

Materials and Methods: In our animal experimental study, forty-eight Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: control(Saline), hydrogen peroxide (HPO), povidone iodine (PVP-I) and chlorhexidine (KHG). Rat femur open fracture model was established and intramedullary fixation was applied. Solutions were applied to fracture region in determined concentration and time; and all subjects were sacrificed on day 28 of fracture healing. Femurs were removed and radiological investigation were made by micro-computed tomography device. Then, all groups were divided into two random groups in equal numbers. One of groups was evaluated biomechanically and the other histopathologically, histomorfometric and immunohistochemically. SPSS 22.0 program was used in statistical analyzes.

Results: In radiological evaluation; BMD (bone mineral density) value of PVP-I group was significantly lower than other groups($p<0.05$). In histopathological evaluation, inflammation score of KHG group was significantly lower than other groups; and in PVP-I group, it was lower than saline and HPO groups($p<0.05$). In histomorphometric evaluation, total callus area/cortex area value was lower in HPO group compared to other groups; and significantly lower in PVP-I group compared to saline and KHG groups. In immunohistochemical BMP-4 (bone morphogenic protein-4) localization; osteoblast and chondroblast values of HPO group were significantly lower than other groups, and chondroblast value in KHG group was lower than saline and PVP-I groups($p<0.05$). In BMP-7 (bone morphogenic protein-7) localization fibroblast value in KHG group was significantly lower and osteoblast value was higher than other groups($p<0.05$).

Conclusion: In this study that we investigated the effect of three different antiseptic agents on the fourth week of fracture healing, we aimed to obtain an irrigation solution which doesn't have negative effect on fracture healing,

minimizing cytotoxicity and maximizing antibacterial efficiency. We obtained similar results in chlorhexidine %0.05 solution compared to normal saline (isotonic sodium chloride %0.9) in terms of fracture healing. We think that chlorhexidine %0.05 use as irrigation solution is a simple, applicable, accessible and cost effective to diminish the complications of orthopedic infections.

Key words: Infection, Femur, Fracture healing



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Açık kırıklar, belki de tamamlanmamış amputasyon olarak tanımlanabilecek ortopedik cerrahi acillerdendir. Tscherne, açık kırık tedavisinin dört temel ilkesini hayatı kurtarmak, ekstremitayı kurtarmak, enfeksiyondan kaçınmak ve fonksiyonel kaybı engellemek olarak tanımlamıştır. Hastanın değerlendirilmesi, kırığın sınıflandırılması, antibiyotik tedavisi, debridman ve irrigasyon, kırık stabilizasyonu, yara yönetimi ve iyileşmeyi artırıcı destek prosedürler açık kırık tedavi yönetiminin prensipleridir (1).

Açık kırık tedavisinin uygun veya zamanında yapılmadığı durumlarda; enfeksiyon, kaynamama, sepsis, osteomyelit, amputasyon gibi hem ekstremitayı hem de hastanın hayatını tehlikeye atacak durumlar ortaya çıkabilmektedir. Bu komplikasyonlardan kaçınmak veya risklerini azaltmak için debridman ve irrigasyon aşaması belki de en önemli aşamadır. Yara debridmanı, tüm yabancı materyalin ve devaskularize dokuların uzaklaştırılması ve bakteriyel yükün azaltılması sağlanarak; enfeksiyon ve sebep olduğu komplikasyonlar azaltılmaktadır. Yara ve kırık iyileşmesinin optimize edilebilmesi için normal salin veya çeşitli solüsyonlarla yapılacak açık kırık irrigasyonu, bakteriyel yükün azaltılmasında önemli rol teşkil eder (2).

Irrigasyon solüsyonlarının içeriğinin antiseptikler veya antibiyotikler eklenerek değiştirilmesi ve bu solüsyonların yumuşak doku toksisitesi veya bakteriyel yükteki azalmaya etkileri hakkında literatürde birçok çalışma mevcut olmakla birlikte ortak bir görüş birliği bulunmamaktadır. Ayrıca bu solüsyonların kırık iyileşmesine etkileri ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Ortopedik enfeksiyonlardan kaçınmak adına maliyeti yüksek, uygulanabilirliği ve ulaşılabilirliği az birçok yöntem çalışılmış veya uygulanmış olsa da tedavinin ilk basamaklarından olan irrigasyon aşamasında yapılacak içerik değişikliği daha basit, ulaşılabilir, uygulanabilir ve maliyet etkindir.

Bu tez çalışmasındaki amacımız; günlük pratikte en sık kullanılan antiseptik ajanlardan povidon iyodür, hidrojen peroksit ve klorheksidin solüsyonlarının yumuşak doku toksisitesi en az ve bakteriyel yükü azaltmakta en etkin

konsantrasyonları tespit edilerek bu konsantrasyonlarda kırık iyileşmesine etkilerini biyomekanik, radyolojik, histomorfometrik, histopatolojik ve immunohistokimyasal açıdan incelemektir. Böylece sıçan femur açık (osteotomi) kırık modelinde; bu üç irrigasyon solüsyonundan hangisinin günlük pratikte en sık kullanılan normal salin solüsyonuna kırık iyileşmesi açısından en yakın olduğunu tespit ederek aynı zamanda antiseptik özelliklerinden de faydalanabilmeyi amaçladık. Sonuç olarak; ortopedi ve travmatolojinin en problemlili konularından birisi olan enfeksiyonun önlenmesi açısından daha basit ve maliyet etkin bir yöntem olarak irrigasyon içeriğinin değiştirilmesi, kırık iyileşmesini etkilemeden bakteriyel yükün daha etkin azaltılmasını sağlayabilir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KEMİK DOKUSU

Omurgalıların hareketlilik, beceriklilik ve dayanıklılıklarını; vücudun iskelet yapısını oluşturan kemik dokusunun, sert ve dayanıklı olduğu kadar hafif oluşu sağlar. Kemik dokusu; endokrin, genetiksel, damarsal ve travma kaynaklı etkilere bağlı makroskopik veya mikroskobik değişiklikler gösterebilen dinamik bir dokudur. Spesifik mekanik çevrelere göre mikro yapısını değiştirebilecek, adaptasyon sağlayabilen davranış biçimi kemiğin önemli özelliklerindedir. Hareketli bir organizmada, düşük ağırlığıyla, yüksek kuvvetlere bu şekilde karşı koyabilir (1).

Kemik dokunun kendine has damarsal yapısı ve kemik matriksini üreten ve rezorbe eden çeşitli özel tip kemik hücreleri vardır. Diğer kas ve iskelet dokularında olduğu gibi kemik mezenkimal hücreler, ekstrasellüler matriks içerir ancak kemik matriksin mineralize olması özelliğiyle diğer dokulardan ayrılır. Çeşitli farklılaşmış hücre grupları; matriks lakünasının içindeki ve kemik yüzeylerdeki doku katmanlarının oluşmasında görevlidir (3).

2.1.1. Yapı

2.1.1.1. Makroskopik yapı

2.1.1.1.1. Kemik şekilleri

Kemik doku şekil olarak, uzun, kısa ve yassı kemikler olarak üçe ayrılır. Humerus, tibia ve femur gibi uzun kemikler, yapısal farklılıklar gösteren epifiz, metafiz ve diyafiz olarak üç bölgeye ayrılır. Diyafiz, kalın kortikal kemik yapısıyla, süngerimsi kemiği çevreler ve ortasında kanal içeren tübüler şekildedir. Bu kortikal kemiğin iç kısmı endosteal, dış kısmı eklem yüzü haricinde periostal yüzey olarak adlandırılır. Periostal yüzey, periost zarı ile örtülüdür. Periostun iç yüzeyinde yer alan kambiyum tabakası, dış yüzeyin kollajen lif yapısının aksine elastik liflerden oluşur ve osteoblast hücre içeriği nedeniyle yeni kemik oluşumunda görev alır. Epifiz ve metafiz ise; süngerimsi kemikten oluşur ve ince kortikal kemikle çevrilidir. Vertebra korpusu, karpal ve tarsal kemikler gibi kısa kemikler ise, ince kortikal

kemik ve çoğunlukla süngerimsi kemikten oluşur ve her yönde nispeten eşit boyuttadır. Skapula, iliak kanatlar gibi yassı kemikler ise bir yönde diğer iki yöne göre daha kısadır (4,5).

2.1.1.1.2. Kortikal ve kansellöz kemik

Kesik kemik yüzey incelendiğinde, dışta kortikal veya sıkı içte kansellöz veya trabeküler kemik şekli görülür. Dayanıklılığı daha fazla olan bu kortikal kemik, kansellöz kemiği kompakt lamellar şeklinde sarar ve erişkin iskeletin yaklaşık %80'ini oluşturur. Kansellöz kemik ise kortikal kemiğe göre daha esnek, biyolojik olarak daha aktif ve yeniden şekillenme kapasitesi daha yüksektir. Yoğunluk ve organizasyon farklılıkları nedeniyle kortikal ve kansellöz kemik farklı mekanik özellikler gösterir. Ayrıca, kortikal kemikte bulunan Haversian sistemi ve osteonlar trabeküler kemikte bulunmaz (6).

2.1.1.2. Mikroskopik yapı

2.1.1.2.1. Mineralize ve mineralize olmayan kemik matriks

İskelet büyümesi ve kemik şekillenmesi sırasında mineralize kemik matrikse osteoblastlar tarafından mineralize olmayan organik matriks yani osteoid eklenir. Normal kemik çok az miktarda mineralize olmamış kemik matriks içermektedir. Çünkü osteoid oluştuktan sonra hemen mineralize olur. Kemik matriksin mineralizasyon bozukluğu durumunda kırık veya iskelet deformiteleri gelişebilir. Mineralizasyon bozukluğu durumunda çocuklarda daha çok iskelet deformitelerine neden olurken; yetişkinlerde kırık gelişimi daha sık görülür (7).

2.1.1.2.2. Örgümsü ve lamellar kemik

Mineralize kemik, örgümsü (olgunlaşmamış veya primer) ve lamellar (olgunlaşmış) kemik olmak üzere ikiye ayrılır. Örgümsü kemik, embriyolojik iskeleti oluşturur ve gelişim süreci boyunca ve kırık iyileşmesi sırasında öncül kemik dokusunu oluşturarak sürekli olarak lamellar kemik ile yer değiştirir. Örgümsü kemik, düzensiz kollajen yapıları fibril dizilimi, daha hızlı rezorpsiyon ve düzensiz matriks mineralizasyonu ile lamellar kemikten ayrılır. Lamellar kemik birim hacmine göre dört kat daha fazla osteosit içerir ve bunlar dağılım, ölçüt ve oryantasyon

açısından farklıdır. Lamellar kemik; kollajen fibril çapları daha küçük, paralel tabakalar halinde ve birbirine sıkıca tutunmuş haliyle matrikse düzenli ve eşit dağılır. Sonuç olarak; kollajen fibril oryantasyon bozukluğu, yüksek hücre ve su içeriği ve düzensiz mineralizasyon nedeniyle örgümsü kemik lamellar kemikten farklıdır (7).

2.1.2.Kompozisyon

Olgunlaşmış kemik dokunun yaklaşık olarak %93'ünü katı bileşenler; %7'sini ise su oluşturur. Bu katı kısmın ise %70'ini organik olmayan maddeler ve geriye kalan kısmını da organik maddeler oluşturur. Kemik dokusu; organik matriks ve içerisinde bulunan osteoblast hücreleri, osteoklast hücreleri ve kalsiyum mineral tuzlarından oluşur. Ayrıca ekstrasellüler matrikste bol miktarda mezenkimal hücre içermektedir (8). Organik matriks, glikozaminoglikan ve kollajen fibrillerden oluşmaktadır. Kalsiyum mineral tuzları vasıtasıyla sertleşmemiş (kalsifiye olmamış) halde bekleyen dokuya osteoid denir. Organik matriksin üretimi, osteoprogenitör hücre ailesinden farklılaşan osteoblastlar tarafından gerçekleştirilir (9). Osteositler, osteoblastların ürettikleri matriks ile çevrelenmesinden oluşur ve mineralize matrikse gömülü halde bulunurlar ve olgunlaşmış kemik yapısının %90'lık kısmından fazlasını oluştururlar. Aynı zamanda kemik dokunun mineral dengesinde de yine osteositler görev almaktadır. Tek hücreli, büyük sentetik organeller içeren osteoblast hücreleri, kemik yüzeyinde bulunur ve uyarıldıklarında matriks üretirler. Birden fazla çekirdek içeren dev hücreler olan osteoklast hücreleri ise, hematopoietik progenitör hücre ailesinden kaynaklanarak, kemik dokuda rezorpsiyonu ve tekrardan şekillenme görevini yerine getirirler (9).

Kemik matriksi, organik makromoleküller, inorganik mineral ve matriks sıvısından oluşur. %90'ından fazlası tip 1 kollajen olan organik matriks, kemiğe elastik ve deformasyon özelliklerini sağlar. Matrikste ayrıca yeni kemik oluşumunu sağlayan uyarıcı sitokin ve büyüme faktörleri de bulunmaktadır. Kemik matriksin mineralizasyonu, kemik sertlik ve dayanıklılığını artırmakla beraber mineral dengesinde de yer almaktadır. Mineralize matriks, çeşitli kalsiyum fosfat türleri içerir. Olgunlaşmış kemikte, inorganik matriks kristal hidroksiapatit şeklindedir (10).

2.1.3.Damarsal beslenme ve innervasyon

Kemiklerde damarsal beslenme başlıca besleyici arterler, periostal arterler, epifizyel ve metafizer arterlerden kaynaklanır. Besleyici arterler diyafiz korteksini delerek medüller kanala ilerler. Haversian ve volkman kanalları bu damarların kemiğin iç yüzünde yaklaşık %60'lık alanını beslenmesini sağlar. Periostal arterler ise dışta kalan %30'luk kısmı beslerler. Geriye kalan kısmın beslenmesi ise metafizoepifizer arterlerden sağlanır. Kortekste kan akış yönü sentrifugaldır. Periosttaki sinirler kemik dokuya geçebilmekte ve Haversian-Volkman kanallarında damarlara eşlik etmektedir (11).

2.2. KIRIK İYİLEŞMESİ

Kırık, dışarıdan ya da içeriden gelen, fiziksel dayanıklılık sınırlarını geçen mekanik yüklenmelerle kemik anatomik bütünlüğün bozulmasıdır. Uygulanan kuvvetin şiddeti, kemik ve yumuşak doku hasarının boyutu ile ölçülen yaralanmanın şiddetini belirler (12). Kırık iyileşmesinin diğer doku iyileşmelerinden farklı özelliği, iyileşme sırasında nedbeleşme gelişmeden oluşan kaliteli kemik tamir dokusudur.

Kırık iyileşmesi, kemiğin kırık öncesi durumu sağlanana dek birbiriyle bağlantılı, farklı ve karmaşık olaylardan oluşmaktadır. Kırık iyileşmesi; enflamasyon, yumuşak kallus, sert kallus ve yeniden şekillenme olmak üzere dört ayrı fazda incelenir. Kırık oluştuğundan hemen sonra enflamasyon ve onu izleyen onarım fazları başlar. Onarım sürecinde kaybolan veya zarar gören hücreler ve matriks yerine kondaktan sonra uzun bir yeniden şekillenme evresi başlar.

Kırık iyileşmesi, primer veya direkt iyileşme ve sekonder veya indirekt iyileşme olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Primer kemik iyileşmesi sadece mutlak stabilite sağlanırsa oluşabilecek osteonal kemik remodelizasyonunun sonucuyken; sekonder kemik iyileşmesi ise kallus oluşumu ile sonuçlanan daha esnek tespitlerle gerçekleşen göreceli stabilite ile sağlanır (13).

2.2.1.Kırık iyileşmesinin evreleri

2.2.1.1.Enflamasyon ve onarım evresi

Kırık sonrası kemiğin kendisinden ve çevre yumuşak dokularda damarların yırtılması ile hematom oluşur. Bu hematom, hematopoietik kökenli hücre salgılanmasını sağlayarak büyüme faktörlerinin, trombositlerin, makrofaj hücrelerinin ve enflamatuar hücrelerin aktive olması sağlanır. Sonrasında kırık uçlarında, yırtık damarların tromboze olması sonucu nekroz görülür. Ayrıca bu evrede, enflamatuar hücreler aracılığıyla ortama salınan çok sayıda sitokin mevcuttur. Bu sitokinlerden en önemlileri, interlökin 1 β (IL-1 β), IL-6, TNF- α 'dır. Bu sitokinler enflamasyonun sınırlandırılmasında görev alırlar. Periost, kemik iliği, dolaşım sistemi ve çevre yumuşak dokulardan köken alan multipotent mezenkimal kaynaklı kök hücrelerin aktive olması ile süreç sonlanır (14).

Mekanik duruma bağlı olmakla beraber mezenkimal hücrelerin kondroblastlara ve osteoblastlara dönüşümü gerçekleşir. Mekanik instabilite, kondrosite farklılaşmayı ve enkondral kemik oluşumuna neden olurken, stabilite durumunda intramembranöz kemikleşme sağlanır. Enkondral kemikleşme süreci neticesinde yumuşak kallus sert kallusa yerini bırakır. İnstabilite durumunda, kallus oluşum süreci boyunca oluşan tip 2 kollajen ve bunu izleyen tip 1 kollajen oluşumları görülür. Bu nedenle kırık iyileşme süresince, kırık tedavi metodunun önemi fazladır (15).

2.2.1.2.Yeniden şekillenme evresi:

Yeniden şekillenme evresi onarım evresinin sonuna doğru başlar ve kırık iyileşmesi sağlandıktan uzun süre sonra bile devam eder. Bu evre, kırık hattında örgümsü kemik ile tam köprüleşme oluşmasıyla başlar. Sert kallusun osteoblastik hücre oluşumu ve osteoklastik hücrelerce kemik yıkımı arasındaki denge hakimdir. Bu evre de görev alan temel hücre osteoklastlardır ve bu hücreler mineralize kemik dokuyu yıkar (16). Bu evrede baskın olan iki önemli sitokin ise; makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) ve NF- κ B ligand reseptör aktivatörü (RANKL)'dür. Primer kemik iyileşmesinde ise farklı olarak, kallus oluşumu gözlenmez. Stabilitenin sağlanmış olduğu bu kırık iyileşmesi tipinde temas eden kısımlarda lamellar kemik

dokusu osteon adlı birimlerin uzaması ile oluşur. Osteoblast aktivasyonu sonrası, osteositler oluşur ve Havers kanal yapıları ve Volkman kanallıkları vasküler yapılarla doğru orantılı olarak ortaya çıkar.

Yeniden şekillenme evresi, medüller kanalın restorasyonu dahil kemik hasarlanma öncesi morfolojisine tam dönüş sağlanması ile sonlanır (17).

2.2.2. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler sistemik ve lokal faktörler olmak üzere iki grupta incelenebilir.

2.2.2.1. Sistemik faktörler

Yaş, aktivite düzeyi, beslenme durumu, hormonal faktörler, hastalıklar (diyabet, anemi, nöropatiler, vs.), vitamin eksiklikleri, ilaçlar (steroid olmayan antiinflamatuar ilaçlar, antikoagulanlar, vs.), nikotin ve alkol kullanımı, sistemik büyüme faktörleri, çevresel ısı ve santral sinir sistemi travması kırık iyileşmesini etkileyen sistemik faktörlerdendir.

2.2.2.2. Lokal faktörler

Yaralanma durumundan ve diğer durumlardan bağımsız lokal faktörler:

- Kemiğin tipi (sıkı kemik, süngerimsi kemik)
- Tümör ve diğer patolojik durumlar
- Sinirsel uyarımın kaybı
- Radyasyon maruziyeti

• Enfeksiyon

Kas ve iskelet travmaları tedavisi sırasında veya sonrasında en korkulan ve problemleri komplikasyonlardan birisi iyileşmeyi geciktiren, kalıcı fonksiyonel kayba neden olan ve hatta ekstremitenin amputasyonu ile sonuçlanabilen fiksasyon sonrası enfeksiyon durumudur. Ortopedik pratikte sık karşılaşılan ve sağlıklı bireylerde bile gerçekleşebilecek komplikasyonlardan birisidir (18). Özellikle travma sonrasında yumuşak dokuda ciddi kaybı olan veya damarsal beslenmesi zarar görmüş hastalar enfeksiyon için büyük risk taşırlar. Bu durumda yumuşak doku ve damar hasarı

konak savunmayı ve antibiyotik etkisini azaltacaktır (19). Kırık fiksasyonu sonrası enfeksiyon gelişiminin tedavisi, etkilenen hastaların uzun iyileşme periyodları ve sosyoekonomik nedenlerle önemli yer tutar. Kırık sonrasında kemikte gelişen enfeksiyon veya enfeksiyon zemininde ortaya çıkan kırık durumlarında metabolizmanın enerji sarfiyatı büyük oranda enfeksiyonu sınırlandırmak adına artar. Enfeksiyon durumunda kemiğin damarsal beslenmesi de trombotik değişiklikler nedeniyle azalmaktadır. Hatta normal yumuşak doku da bu durumdan etkilenerek nekrotik değişiklikler görülebilmektedir. Bu durumların ortak sonucu kırık iyileşmesinin gecikmesi veya inhibe olmasıdır. Özellikle fiksasyon amaçlı kullanılan implantlar ve bu implantlar üzerinde oluşan biyofilm tabaka bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar için ciddi önem taşırlar. Kırık tipine bağlı olarak değişmekle beraber internal fiksasyon sonrası enfeksiyon riski %0,4 ve %16,1 arasındadır (20,21).

Kırık fiksasyonu sonrası gelişebilecek komplikasyonlardan osteomyelit, tedavisi en problemlisi ve kırık kaynamasını önemli ölçüde azaltan veya inhibe eden faktörlerin en önemlilerinden birisidir. En çok izole eden mikroorganizma Stafilokokus aureus olsa da; gram negatif basil ve anaerobik organizmalar sık nedenlerindedir. Malnutrisyon, diyabet gibi hastaya bağlı faktörler etkili olsa da sağlıklı hastalarda da gelişebilmektedir. Ortopedik cerrahide önemli yer tutan, gerek travma veya cerrahi sonrası gelişmiş enfeksiyon gerekse de bunların sonucu olarak osteomyelit; ekonomik yükü fazla, kırık iyileşmesini azaltıcı veya inhibe edici, cerrah veya hasta için bu uzun iyileşme döneminde problemlisi bir sürece zemin hazırlayacaktır (22).

b) Yaralanmaya bağlı faktörler:

- **Açık kırıklar:**

Açık kırıklar enfeksiyonla, yara iyileşme problemleriyle, kırık iyileşmesinin bozulmasıyla sonuçlanabilen ve yeniden operasyonlara ihtiyaç duyulabilen durumlara yol açabilmektedir. Açık kırıklar ortopedik cerrahi acillerdendir. Yaralanmanın mekanizmasına bağlı olarak açık kırıklarda enfeksiyon görülme oranı %50' yi bulmaktadır. Enfeksiyonlarla başa çıkabilmek için verilen mücadele, artmış sağlık masraflarına ve hastanın hayat kalitesinde ciddi azalmalara yol açmaktadır (23).

Kırığın gerçekleştiği bölgedeki cilt altı yağlı doku, fasya, kas gibi yumuşak dokuların kırıkla birlikte parçalanması ya da ezilmesi önemli miktarlarda nekrotik yumuşak doku debrisini oluşturur. Gerek kırık gerekse bu hasarlanma, pıhtı ve kırık hematomunun oluşmasını zorlaştırır ve onarım dokusu oluşumunu yavaşlatarak kırık bölgesine kan desteğini keser. Bu durum kırık iyileşmesinde yavaşlama veya durmaya yol açmaktadır (23).

Enfeksiyonu engellemek adına açık kırık tedavisinde tüm kontamine dokuların uzaklaştırılması, yara ve kırık iyileşmesine ciddi katkıda bulunur. Nekrotik doku ve debrisin dikkatli ve özenli debridmanı ve irrigasyonu açık kırıkların ilk müdahalesinde esastır. Bu nedenlerle açık kırık tedavisinde enfeksiyonu engelleyerek kırık iyileşmesini sağlamak için ilk basamak olan yara debridmanı ve irrigasyonu ilk ve en önemli basamağı oluşturmaktadır (24).

- Parçalı kırıklar
- Yaralanma hızı
- Kırığın tipi ve bulunduğu yerleşimi
- Kırık hattına yumuşak doku girmesi

c) Tedaviye bağlı lokal faktörler ise, cerrahi esnasındaki travmanın seviyesi, uygulanan implanta bağlı değişen kan akımı, içerden veya dışarıdan uygulanan stabilitesi, kemiğe etki eden yüklerin süre ve yönleri, parçalar arası temasın derecesidir.

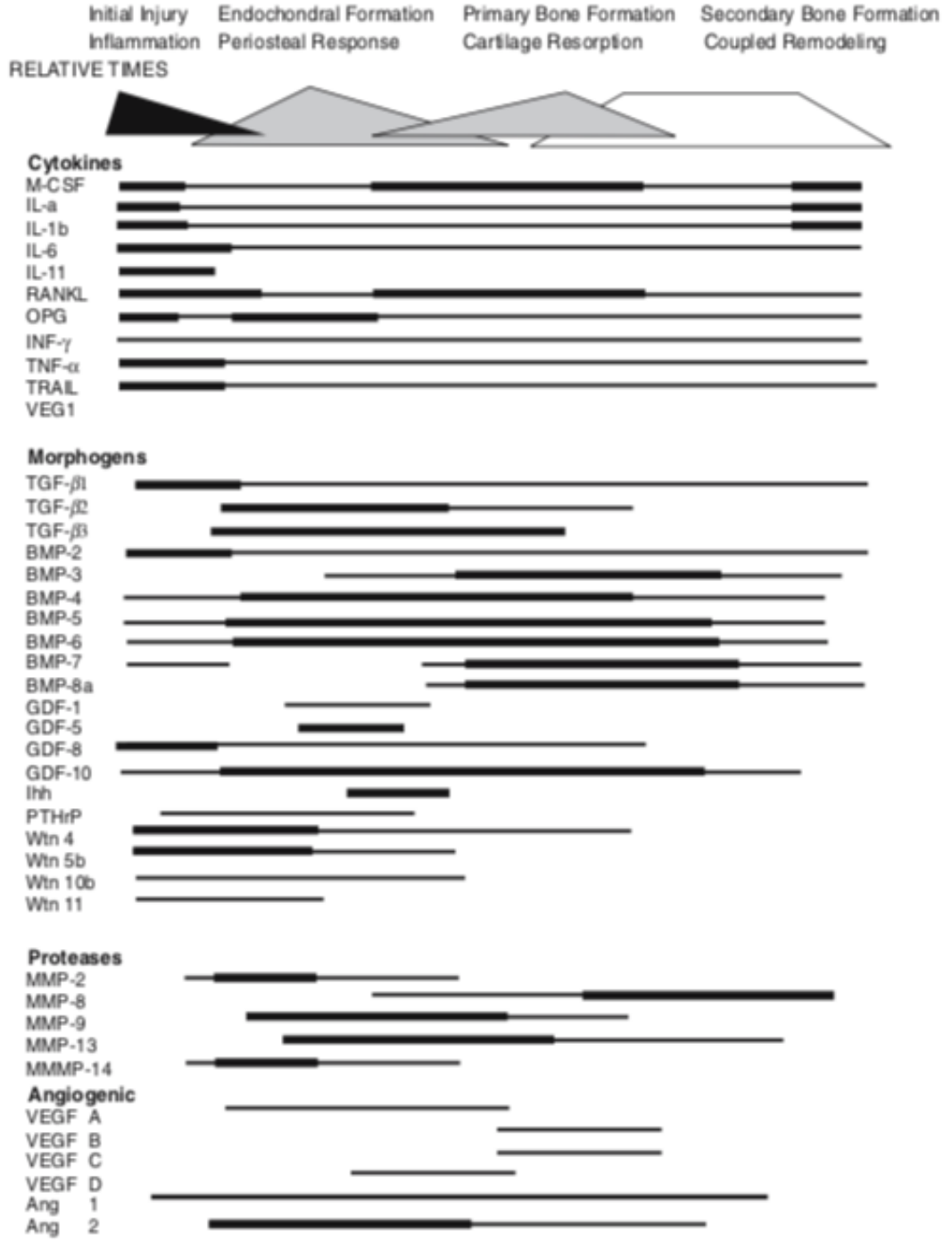
2.2.3. Kırık iyileşmesinde moleküler biyoloji

Kırık iyileşmesinin moleküler ve hücresel olayların kompleks, düzenlenmiş bir sonucu olduğu son yıllarda giderek daha iyi anlaşılmaktadır (25). İyileşmeyle sonuçlanan düzende ana adımlar; mezenkimal öncül hücrelerin kemotaksisi, farklılaşması ve proliferasyonu, ekstrasüller matriks yapımı, mineralizasyon ve yeniden şekillenmedir. Endotel hücreleri, trombositler, mezenkimal öncül hücreler, kondrositler, fibroblastlar, osteoklastlar ve osteoblastlar bu sürecin farklı dönemlerinde görev alırlar (26). Embriyonik kemik oluşumuyla kırık iyileşmesi arasında, büyüme faktörlerinin rolü, otokrin, parakrin ve endokrin olayların itici gücü gibi durumlar açısından benzerlikler bulunmaktadır.

Başarılı bir kırık iyileşmenin spesifik büyüme faktörleri tarafından yönetimi son yıllarda sık araştırılan konulardandır. Bu multipotent polipeptitlerden BMP (kemik morfojenik protein) üzerine son yıllarda fazlaca çalışılmıştır (27). BMP' ler TGF- β süper ailesinin bir üyesidir. Embriyoloji, büyüme, hemostaz ve tamirde, farklı dokularda önemli rollerde yer alan sitokinlerdir. Hayvanlarda kemik rejenerasyonu sırasında BMP ekspresyonu bugünlerde daha iyi anlaşılabilmiştir ve bu moleküllerin osteojenik kapasitesi belirgindir. BMP'nin yirmiden farklı izoformu tanımlanmıştır. Bunlardan BMP-2, 4 ve 7'nin özellikle iskelet sisteminde önemli rolleri bulunmaktadır. BMP'ler fonksiyonel ve yapısal olarak birbiriyle ilişkilidir. Bununla birlikte kırık iyileşmesi sürecinde her birinin farklı rolleri bulunmaktadır (Şekil 2.1). Günümüzde kırık iyileşmesinin immünohistokimyasal değerlendirilmesinde kullanılan önemli işaretlerdendir (28).

Ayrıca, hematopoez ve osteoblast öncül hücrelerin yer almış olduğu stromal çevrenin birbiriyle olan sıkı ilişkisi tanımlanmıştır. İnsan kemik iliğinden aspire edilen materyalde CD34⁺ hücrelerin osteoblast öncül hücrelere sahip olduğu bilinmekle beraber hücre kültürü çalışmalarında morfolojik ve fonksiyonel olarak normal osteoblastlara dönüştüğü keşfedilmiştir (29).

STAGES OF FRACTURE REPAIR



Şekil 2.1: Kırık onarımının evrelerinin ve bunların moleküler yollarla ilişkisinin şematik görünümü. (Şekil, Gerstengeld L.C., Edgar C.M., Kakar S., Jacobsen K.A., Einhorn T.A. Oteogenic Growth Factors and Cytokines and Their Role in Bone Repair. Engineering of Functional Skeletal Tissues. 2007; (3)2: 17-46 isimli kaynaktan alıntıdır.)

2.3.ANTİSEPTİK SOLÜSYONLAR

Açık kırıkların bakımında temel prensipler, dikkatli bir cerrahi debridman ve yara irrigasyonu ile devitalize dokuların, yabancı maddelerin ve enfeksiyona neden olabilecek bakterilerin uzaklaştırılması, tetanoz ve antibiyotik profilaksisi ve kırığın stabilizasyonunu içerir. Bunlardan irrigasyon ve debridmanın enfeksiyon prevalansını azaltmada en etkili prosedürler olduğu düşünülmektedir. Kontamine dokunun ve yabancı maddenin uzaklaştırılması enfeksiyonu engellemek, yara yeri enfeksiyonlarını azaltmak ve kırık iyileşmesini başlatmak için esastır. Bu önemine rağmen enfeksiyonun önlenmesinde özellikle irrigasyon ile ilgili bilimsel çalışma yetersizliği mevcuttur. İrrigasyon sıvısının yeterli miktarı, yıkama sistemleri veya irrigasyon solüsyonuna eklenecek maddelerle ilgili tartışmalar mevcuttur (30).

Yara debridmanında irrigasyon solüsyonunun tipi ve etkisi tartışmalıdır. Deneysel çalışmalarda antiseptikler, antibiyotikler ve sürfaktanlar irrigasyon solüsyonunda kullanılmış olsa da hiçbirinin normal salin dışında yaygın kullanımı kabul görmemiştir. Antibiyotikler (özellikle basitrasin) hayvan çalışmalarındaki yetersizlik ve insan çalışmalarının yokluğuna rağmen açık kırıklarda en sık kullanılan irrigasyon solüsyonu tiplerinden biridir. Bazı çalışmalar, antibiyotikli solüsyonlarla irrigasyonun alerjik reaksiyonlar, artmış maliyet, antibiyotik direnci gelişmesi ve yetersiz kanıt varlığını göstermiştir (31,32,33). Kontamine kas ve iskelet travması olan bazı hayvan deneyi çalışmalarında ise antibiyotikli solüsyonla yapılan irrigasyonun antiseptik solüsyonlarla yapılan irrigasyona üstünlüğünün olmadığı gösterilmiştir (34,35,36).

Antiseptiklerin kullanımı ile ilgili bazı hayvan ve insan çalışmaları mevcuttur. En sık kullanılan antiseptikler povidon iyodür ve klorheksidin glukonattır. Bu antiseptikler bakterilerin geniş bir kısmına, mantar ve virüslere etki ederek yara patojenlerini etkisiz kılar. Bakteriyel yükü azaltarak hasta bağışıklık sistemini yükten kurtardığı düşünülmektedir. En büyük dezavantajlarından birisi ise hücre fonksiyonuna zarar vererek yara iyileşmesinde gecikmeye yol açmalarıdır. Yüksek konsantrasyonlarda povidon iyodür, sodyum hipoklorid ve hidrojen peroksidin *in vitro* çalışmalarda insan fibroblastlarının %100'üne yakını öldürdüğü gösterilmiştir. Yine bazı çalışmalarda dilüe edilen bu antiseptik solüsyonların

fibroblastlarda hiç hasara yol açmadığı da gösterilmiştir. Bazı tavşan çalışmaları da tüm antiseptiklerin mikro dolaşıma ve endotel bütünlüğüne negatif etkisi olduğunu göstermiştir. İnsan çalışmalarında yalnızca povidon iyodür çalışılmış olup, povidon iyodürün proflaktik kullanımının yara yeri enfeksiyonunda önemli bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. 1980’de yapılan bir çalışmada %5’lik povidon iyodür solüsyonunun yara iyileşmesinde güçlü negatif etkisi ve %1’lik solüsyonun güvenli olduğu gösterilmiş olup çocuk appendisit hastalarında yara yeri enfeksiyonlarını azalttığı gösterilmiştir (37,38,39).

2.3.1. Povidon iyodür

Povidon iyodür, polivinil piriidin(taşıyıcı molekül) ve triiyodin(bakterisidal) iyonlarının birleşiminden oluşan stabil kimyasal komplekstir. Cilt, mukoz membran ve yaralar için kullanılabilen geniş spektrumlu antiseptik maddedir. Dokuyla temas ettiğinde taşıyıcı molekül tarafından iyodinin yavaş salınımı gerçekleşir. İlk olarak 1956 yılında tanıtılmıştır. 1980’lerde ise tumörosidal etkisi gösterilmiştir. Povidon iyodür metisilin dirençli Stafilokokus aureus(MRSA)’u da içeren geniş spektrumlu patojenlere karşı bakterisidaldir. Etkisini hücre membranına etki ederek gösterir. Deneysel çalışmalarda, povidon iyodür solüsyonunun MRSA’ ya karşı en etkin olduğu dilüsyon %0,5-4 arasında bulunmuştur. Kültüre edilmiş tavuk tibia osteoblastlarında yapılmış bir çalışmada %5’lik povidon iyodürün sitotoksisite etkisi gösterilmiş ama %0,5’lik dilüsyonlarda bu etkisinin en aza indirildiği gösterilmiştir. Sağlıklı dokuya ve granülasyon dokusuna olan toksik etkisinin yanında bu solüsyon cildi kurutur ve rengini değiştirebilir. Yara çevresi bölgelerde lokal irritasyona da neden olabilir (40).

Povidon iyodür irrigasyonu cerrahi sonrası gelişebilecek enfeksiyonu engellemek için kullanılabilir. Antiseptik etkisi non spesifik. Eklem dokusu üzerinde düşük konsantrasyonlardaki etkisi belirsizdir. Klorheksidine göre daha kısa süre koruyucu etkisi vardır. Daha önceki çalışmalarda bakterisidal, myobakterisidal ve virusidal etkilerinin yanında mantarlara ve fungal sporları öldürmek için daha fazla kontakt sürelerine ihtiyaç duyarlar. Önerilen dilüsyonlarda sporisidal değildir (41).

Povidon iyodür, povidonun iyodini taşımaya nedeniyle iyodofor olarak rol alır. Kompleksten ayrıldıktan sonra serbest iyodun hızlıca mikroorganizmaların hücre duvarını penetre eder, öldürücü etkilerini protein ve nükleik asit yapısını ve sentezini bozarak gösterir. Etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, iyodun bakterinin vital hücreler mekanizmalarını ve yapılarını inhibe eder; bakteri hücre membranında aminoasitleri oksidize eder. Ek olarak serbest iyodun solunum zincirindeki sitozolik enzimlerin fonksiyonunu bozar ve denatüre eder. Povidon iyodür; piyasada tek başına solüsyon olarak bulunabildiği gibi (%10 ve %1'lik dilüe formu); iyonik deterjanla kombine halde de bulunabilir. Kombine formunun yara iyileşmesine negatif etkileri gösterilmiş olup, kullanımı önerilmemektedir (42).

Yaygın görülmesi de metabolik asidoz, akut böbrek yetmezliği, hipertiroidizm ve toksik reaksiyonlar bildirilmiştir. Bu nedenlerle; iyodun içeren maddelere alerjik reaksiyon öyküsü olan hastalarda, tiroid hastalıklarında, renal yetmezlik hastalarında kullanımı önerilmemektedir (43).

2.3.2.Klorheksidin glukonat

Klorheksidin glukonat (KHG), fiziksel olarak bakterileri ortamdan uzaklaştırarak bir sıvının mekanik özelliklerini ve konakçı hücreye hasar vermeden aktif kimyasal antimikrobiyel özellikleri kombine eden bir antiseptiktir. KHG, 1950'lerde sentezlenmiştir. KHG, klorheksidin glukonat formu olan biguanid bileşiktir. Pozitif yüklüdür ve negatif yüklü mikrobiyel hücre yüzeyiyle reaksiyona girer. Böylece hücre membranının bütünlüğünü bozar. Sonrasında hücre içine penetre olarak; intraselüler komponentlerin boşalmasına neden olur. Gram pozitif bakteriler daha negatif yüklü olduklarından; bu ajana daha hassastır. Memeli dokulara düşük toksisite göstererek ve prokaryotik hücre membranlarına etki eden, gram pozitif ve gram negatif bakteri ve mantarlara geniş spektrumlu etkisiyle hızlı tanınan bir antiseptiktir (44). Bu nedenlerle KHG, özellikle mesane irrigasyon sıvısı ve periodontal durulama sıvısında cerrahi sabun olarak günlük pratikte geniş yer edinmiştir. İlginç olarak; düşük toksisiteli ve etkili bir antiseptik olan ve modern pratikte kullanımı geniş alanlara yayılmış olan KHG; açık kırıklarda irrigasyon sıvısı olarak kullanılmak üzere uygun bir hayvan çalışmasıyla veya klinik çalışmayla değerlendirilmemiştir. Bu kanıt yetersizliğine rağmen ortopedik cerrahların bir

kısmı, açık kırıkların cerrahi irrigasyonu sırasında KHG'i sıkça kullanmış ve salin solüsyonundan daha etkili olduğunu düşünmüştür (45,46). Bu amaçla kullanım için hangi KHG konsantrasyonunun uygun olduğuyla ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Direnç gelişiminin olmaması da KHG solüsyonunun avantajlarından birisidir. Ayrıca diğer antiseptik solüsyonlardan farklı olarak KHG, kan gibi vücut sıvılarının varlığında etkisini kaybetmemektedir. Aynı zamanda, katı ya da yumuşak dokulardan yavaş salınımı; antimikrobial etkisinin uygulama sonrası uygun zaman dilimine etki etmesini sağlar (47,48,49).

2.3.3.Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2) özellikle %3' lük sıvı solüsyon olarak kullanılan kuvvetli bir antiseptik olarak bilinir ve güçlü okside edici bir ajandır. Hidrojen peroksit, su ve oksijene ayrışır. Bu ayrışma, medikal ve dental prosedürler sonrası medikal araçlar gibi organik maddelerde bulunan, katalaz enzimi tarafından sağlanır. Bu organik madde, eğer rutin enstrüman temizliği sırasında uzaklaştırılmazsa, antiseptik solüsyonun kullanılabilir ömrünü önemli derecede kısaltabilir. Bununla birlikte hidrojen peroksit solüsyonları metale karşı korosiftir ve anstabil davranış gösterir. Metale karşı olan korosif özelliğini azaltmak ve dezenfeksiyon-sterilizasyon maddesi olarak kullanımını artırmak amacıyla uygun konsantrasyonun bulunması için çalışmalar mevcuttur (50).

Hidrojen peroksitin biyosidal etkilerinden, Fenton reaksiyonunda serbest hidroksil radikallerinin üretimi sorumludur. Serbest radikaller, membran lipitlerine ve proteinlere oksidatif hasar verir. Böylece, DNA oksidasyonu indüklenir. Hidrojen peroksit, antimikrobial etkilerini yüksek direnç gösteren bakteriyel sporlar ve protozoal kistler üzerinde de gösterir. Kısacası, hidrojen peroksit, serbest radikaller oluşturarak etki eden, DNA, protein ve membran lipitlerin oksidasyonuna neden olan oksidatif biyosittir.

%3'lük hidrojen peroksit solüsyonunun antiseptik amaçla kullanımı günlük pratikte yer edinmişken; yara antiseptiği olarak kullanımı ve bunun yara iyileşmesine etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalar; hidrojen peroksit solüsyonunun sağlıklı hücrelere ve granülasyon dokusuna sitotoksik etkilerini gösterirken; diğer hayvan ve

insan çalışmaları yara iyileşmesine etkisinin olmadığını belirtirler. Hidrojen peroksitin bakteriyel yükü azaltmaya yönelik etkisiz kaldığını belirten çalışmalar da mevcuttur (51). Amerika Medikal Birliği (AMA), bu solüsyonun tam gücüyle kullanıldığında; debrisi kaldıran ve nekrotik dokuları uzaklaştıran kimyasal kprleyici ajan olduğundan bahsetmiştir. Hidrojen peroksitin tüm gle kullanımının ardından normal salin solüsyonuyla irrigasyonu önerilmiştir. Sinüs traktı olan yaralarda hidrojen peroksit kullanımı önerilmemektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ÇALIŞMA PLANI

Deneysel hayvan çalışmamızda 48 adet Sprague-Dawley cinsi genç-erişkin erkek sıçan kullanıldı. Bu çalışmanın hayvan deneyleri yerel etik kurul onayı; Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi (BADABEM)'nden (Toplantı tarihi:21.03.2018, Toplantı No:2018/2 Proje No:2018-11) alındı. Çalışmamız tüm süre boyunca ETS-123, Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Omurgalı Hayvanların Korunması için Avrupa Konseyi Standartları'na (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) uygun olarak BADABEM'de gerçekleştirildi. Çalışma planlanırken klinik öncesi hayvan çalışma ve araştırmaları ile ilgili standart prosedürler tasarlandı ve uygulandı (52).

Çalışmamız, ortalama ağırlığı 356 gram (330-372 gram); ortalama yaşı 9 hafta olan toplam 48 adet sıçan ile gerçekleştirildi. Çalışmamızda kullanılan sıçanların hepsinin sağlıklı ve erkek cinsiyette olması, Sprague Dawley cinsi olması, yaşlarının 8-10 hafta arasında olması, herhangi bir sistemik hastalığının olmaması ve daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış olması çalışmaya dahil etme kriterlerimizdir. Tüm sıçanlar, günlük olarak, çalışma boyunca 22°C sıcaklıklı ortamda 12 saat aydınlıkta ve 12 saat karanlıkta kalacak şekilde takip edildiler. Çalışmamız boyunca, cerrahi öncesi ve sonrası dönem ayırt edilmeksizin, limitsiz olacak şekilde standardize edilmiş kemirgen yemi ve şebeke suyu verildi. Deneyden çıkarılma kriterleri; uygun olmayan implant pozisyonu, oluşturulması istenen kırık lokalizasyonundan uzakta oluşan kırık hattı, takip süresince fiksasyon kaybı, enfeksiyon gelişmesi, çalışmada kullanılan sıçanların %20'den fazla kilo kaybı, yeterli ve düzenli su ve yem alamaması ve uyaranlara yanıt verememesi olarak belirlendi (53). Çalışmamızda kullanılan hiçbir sıçan, çalışmaya uygun olmayacak herhangi bir kriter olmadığından, çalışma dışı bırakılmamıştır. Cerrahi öncesi ve sonrası dönemde, çalışmaya dahil edilen hiçbir hayvan ölümüne rastlanmamıştır veya cerrahi prosedür ile ilgili komplikasyon yaşanmamıştır.

Tablo 3.1: Deneysel hayvanlarının gruplara göre dağılımı

	Grup Adı	Sıçan Sayısı
Kontrol (%0,9 izotonik sodyum klorür)	Salin	12
Klorheksidin (%0.05)	KHG	12
Povidon iyodür (%1)	PVP-I	12
Hidrojen peroksit (%3)	HPO	12

Biri kontrol grubu (salin grubu), diğer üçü çalışma grubu (povidon-iyodür, klorheksidin ve hidrojen peroksit grupları) olacak ve toplam 4 grup için, her bir grupta 12 sıçan rastgele seçilecek şekilde; toplam 48 sıçan çalışmaya dahil edildi (**Tablo 3.1**). Çalışmamızda, sıçan femuru açık (osteotomi) kırık modeli kullanılmıştır (**54**). Tüm sıçanlara cerrahi prosedür uygulandı ve cerrahi öncesi 48 saat boyunca cerrahi odada takip edildiler. Cerrahi prosedür tüm hayvanlar için aynı yöntemle ve aynı cerrah tarafından yapılacak şekilde planlandı ve uygulandı.

Tüm sıçanlar, cerrahi sonrası her kafeste bir sıçan kalacak şekilde 24 saat izlendiler. Tüm sıçanlar, bu 24 saat sonrasında her grup için bir kafes ve her kafeste 12 hayvan olacak şekilde her birinin boyutu 60x21x21 cm olan toplam 4 kafese yerleştirildi. Cerrahi sonrası tüm sıçanların ağrı kontrolü ve yara yeri pansumanı ve takibi düzenli olarak yapıldı. Cerrahi öncesi ve sonrası dönem için tüm hayvanların beslenme şartları ve ortamları aynı standartlarda olacak şekilde belirlendi. Tüm gruplardaki sıçanlar 4. hafta sonunda yüksek doz Ketamin HCl (Ketalar®, Pfizer, Türkiye) ve Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer, Türkiye) anestezisi ile servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edildi.

Sakrifikasyon sonrası tüm sıçanların cerrahi yapılan sağ femurları üzerindeki yumuşak dokular (kas, fasya, vb.), nazikçe ve kallus dokusuna zarar verilmeden, kalça ve diz eklemleri de korunacak şekilde temizlendi ve çıkarıldı. Histolojik, biyomekanik ve radyolojik değerlendirmeler için çıkarılan tüm kemikler %10'luk formaldehit sıvısı içerisinde korunacak ve her kaptaki bir kemik olacak şekilde gazlı bez ile sarılarak bu kaplara yerleştirildi.

Tüm kemikler önce radyolojik değerlendirme için mikro bilgisayarlı tomografi incelemesine; sonra bu dört gruptan her biri kendi içerisinde rastgele her grupta altı örnek içeren iki gruba ayrılarak, bir grup histolojik bir grup biyomekanik incelemeye gönderildi. İstatistiksel analizin anlamlılığının korunması açısından, radyolojik değerlendirme için n=12, histolojik ve biyomekanik değerlendirme için n=6 olarak belirlendi.

Mikro bilgisayarlı tomografi (mBT) değerlendirmesi için tüm 48 örnek dört grup halinde önce İstanbul Üniversitesi Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı (TETLAB)' na teslim edildi. Burada yapılan değerlendirmede; kemik mineral yoğunluğu, kemik hacmi, kallus hacmi ve kemik/kallus hacmi oranları açısından incelendi. Bu değerlendirmenin ardından, kendi içerisinde rastgele iki gruba ayrılan örneklerden ilk grup histopatolojik, histomorfometrik ve immunhistokimyasal değerlendirme için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar SUAM Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na; ikinci grup ise biyomekanik değerlendirme için Yıldız Teknik Üniversitesi Makine Mühendisliği Bölümü Makine Malzemesi ve İmalat Teknolojisi Anabilim Dalı'na teslim edildi.

3.2. CERRAHİ TEKNİK

3.2.1. Anestezi

Tüm sıçanlara genel anestezi uygulandı. Her bir sıçanın ağırlığı, elektronik tartı ile alınarak kaydedildi ve genel anestezi için gerekli olan dozlar belirlendi. İntraperitoneal 80mg/kg Ketamin HCl (Ketalar®, Pfizer, Türkiye) ve intraperitoneal 5mg/kg Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer, Türkiye) kullanılarak genel anestezi uygulandı. Tüm deneklerin anestezi ilaç uygulaması sonrası cerrahi işlem için hazır olması beklendi. Antibiyotik profilaksisi olarak tüm sıçanlara cerrahi öncesi tek doz subkutan 8mg/kg Gentamisin (Genta®, İ.E.Ulagay, Türkiye) uygulandı.

3.2.2. Antiseptik irrigasyon solüsyonlarının hazırlanması

Çalışmamızda kullanılacak antiseptik irrigasyon solüsyonları; kontrol grubu salin(KG) için %0,9 izotonik sodyum klorür (Medifleks®, Koçak, Türkiye), çalışma grupları olan povidon iyodür için %10 povidon iyodür (Batticon®, Adeka, Türkiye),

%3 hidrojen peroksit (%3 Dermosept®, Alg, Türkiye) ve klorheksidin glukonat grubu için %2 klorheksidin glukonat (Klorhex®, Drogan, Türkiye) olarak belirlendi. Antiseptik irrigasyon solüsyonlarının doku toksisitesi en az ve antiseptik özellikleri en etkin olacak şekilde optimal dozları belirlendi. Bu dozlar; hidrojen peroksit (HPO) grubu için %3, klorheksidin glukonat (KHG) grubu için %0,05 ve povidon iyodür (PVP-I) grubu için %1 olarak belirlendi ve irrigasyon solüsyonları hazırlandı.

Solüsyonların istenen yüzde (%) olması için yüzdeli çözeltileri seyreltme formülü kullanıldı.

$$S=V.C/K$$

S: Seyreltme için ana çözülden alınacak hacim, mL

C: Hazırlanmak istenen konsantrasyon, %

K: Seyreltmede kullanılacak ana çözelti konsantrasyonu, %

V: C konsantrasyonunda hazırlanmak istenen çözelti miktarı, mL

3.2.3. Cerrahi teknik

Çalışmamızda kullanılan sıçanlar ameliyat masasına alınarak, genel anestezi sonrasında, sağ kalça ve uyluk bölgeleri açığa çıkarıldı ve tıraş edildi (**Şekil 3.1**). %10 povidon iyodür (Batticon®, Adeka, Türkiye) kullanılarak cerrahi saha boyandı. Sağ uyluk lateralinden femur diyafizi palpe edilerek, üç santimetre longitudinal insizyonla girildi. Rektus femoris ve vastus lateralis arasındaki klivaj belirlendi ve bu klivajdan girildi. Femur diyafizi, damar-sinir yapılar korunacak şekilde S ekartörler kullanılarak periosta zarar verilmeyecek şekilde açığa çıkarıldı (**Şekil 3.2**).

Femur cismi açığa çıkarıldıktan sonra, mikromotor (Con-med Linvatec® marka Pro-6200 motor) ve mikrobiçak (Pro-2056 sagittal tutucuya takılan katalog numarası 4034-139 olan mikrobiçak) kullanılarak femur orta 1/3 diyafizden transvers osteotomi uygulandı (**Şekil 3.3**) ve açık kırık (osteotomi) modeli yapıldı (**Şekil 3.4**).



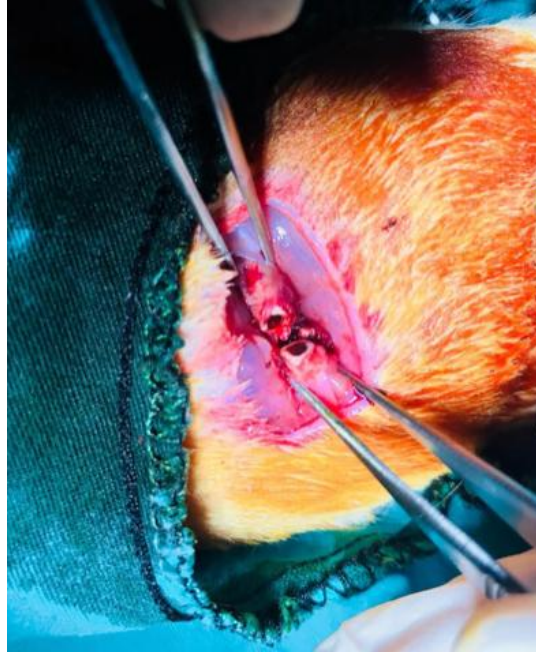
Şekil 3.1: Cerrahi bölgenin tıraş edilmiş görünümü



Şekil 3.2: Femurun açığa çıkarılması sonrası lateralden görünümü



Şekil 3.3: Eksplore edilen femurun diyafiz bölgesinden mikro kesici yardımıyla osteotomize edilmesi



Şekil 3.4: Femurun osteotomize edildikten sonraki görünümü

Elektrikli delici motor kullanılarak 1 adet 1,2 mm Kirschner teli (K-teli, TST®, İstanbul, Türkiye), distal fragmana antegrad olarak gönderildi ve diz ekleminden çıkarıldı (**Şekil 3.5**).



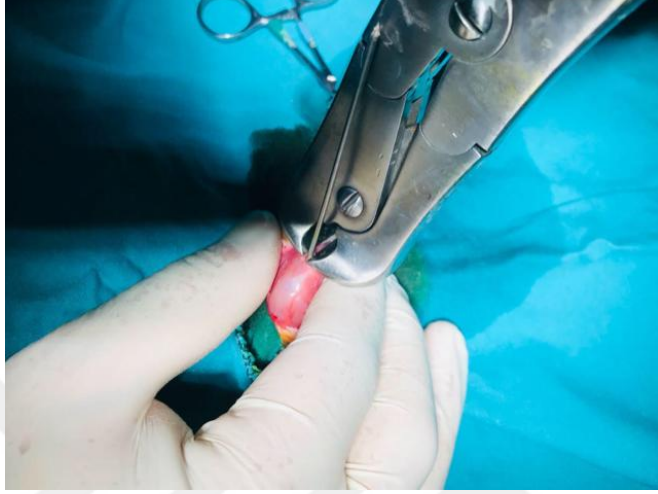
Şekil 3.5: K-telinin antegrad gönderildikten sonraki görünümü

Elektrikli delici motor yardımıyla, diz ekleminden çıkarılan K-teli, kırık hattında kayboluncaya kadar distale doğru alındı. Kırık hattına redüksiyon uygulanarak K-teli retrograd olarak intramedüller kanaldan proksimale doğru gönderildi. K-telinin fiksasyon sağlayacak şekilde proksimal femoral bölgede tutunduğu düşünüldüğünde; elektrikli delici motor çıkarıldı (**Şekil 3.6**).



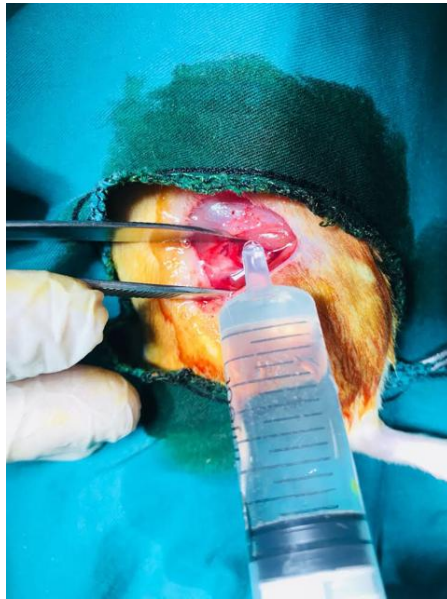
Şekil 3.6: K-telinin retrograd gönderilmesi sonrası redüksiyonun sağlanması ile kırık hattının görünümü

Diz ekleminde dışarıda kalan K-teli, tel kesici ile kesildi (**Şekil 3.7**). Kırık hattının sağlamlığı tekrar değerlendirildi ve distraksiyon olan veya sağlamlılığı şüpheli olan denekler için uygun şartlar tekrar sağlanana kadar çalışıldı. Tüm deneklerde uygun şartların sağlandığına emin olundu.



Şekil 3.7: Diz bölgesinde dışarıda kalan K-telinin kesilerek uzaklaştırılması

Kontrol grubu (KG) için, kırık uçları açığa çıkarılarak; 100 mL %0,9 izotonik sodyum irrigasyon solüsyonu ile tüm yumuşak doku ve kırık uçlarına temas ettiğinden emin olunana dek 20 mL'lik enjektör yardımıyla irrigate edildi (**Şekil 3.8**).

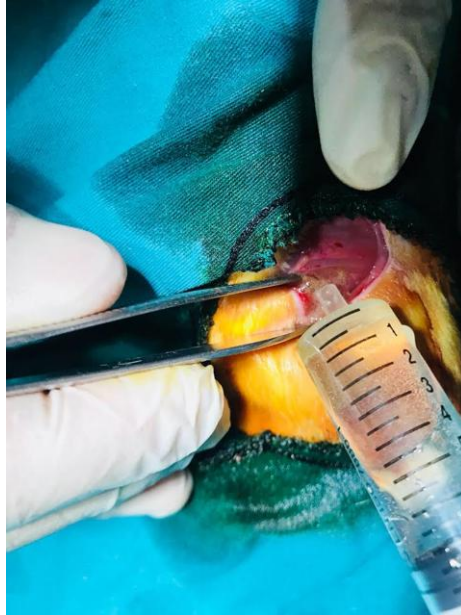


Şekil 3.8: Redüksiyon ve tespit sonrası kırık hattına %0,9 izotonik sodyum klorür uygulanması

HPO grubu için, kırık uçları açığa çıkarılarak, bu bölgeye hazırlanmış olan %3'lük hidrojen peroksit antiseptik irrigasyon solüsyonu uygulandı (**Şekil 3.9**) ve antibakteriyel özelliğinin maksimuma ulaştığı süre olan 2 dakika boyunca tüm doku ve kırık uçlarına temas ettiğinden emin olacak şekilde bekletildi (**Şekil 3.10**). Ardından bu bölge 100 mL %0,9 salin ile irrigate edildi (**55**).

PVP-I grubu için, kırık uçları açığa çıkarılarak, hazırlanmış olan %1'lik povidon iyodür solüsyonu, tüm doku ve kırık uçlarının temas ettiğinden emin olunarak, bu bölgeye uygulandı (**Şekil 3.11**) ve 2 dk bekletildi (**Şekil 3.12**). Ardından 100 mL %0,9 salin ile enjektör yardımıyla irrigate edildi (**56**).

KHG grubu için ise, kırık uçları açığa çıkarılarak, hazırlanmış olan %0,05'lik klorheksidin solüsyonu, tüm açık yara ve kırık hattının temas ettiğinden emin olunarak, bu bölgeye uygulandı. Antibakteriyel özelliğinin maksimuma ulaştığı süre olan 1 dk süre ile bekletildi. Ardından 100 mL %0,9 salin ile enjektör yardımıyla irrigate edildi (**57**).



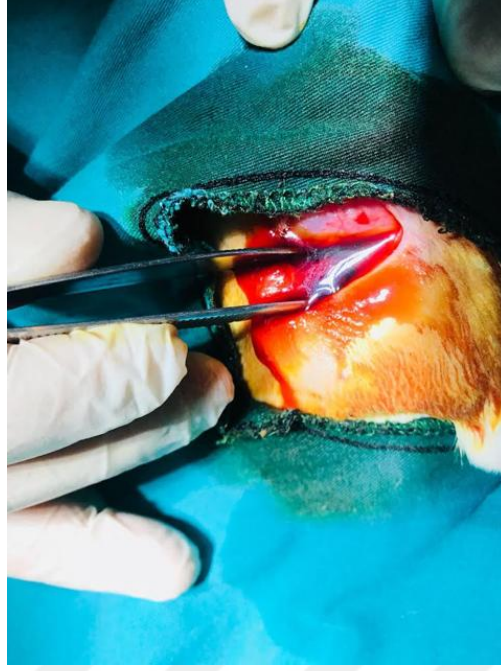
Şekil 3.9: Redüksiyon ve tespit sonrası %3'lük hidrojen peroksitin kırık hattına uygulanması



Şekil 3.10: Kırık hattına %3'lük hidrojen peroksit uygulandıktan sonra yara yerinde bekletilmesi



Şekil 3.11: Redüksiyon ve tespit sonrası kırık hattına %1'lik povidon iyodür uygulanması



Şekil 3.12: %1'lik povidon iyodür uygulanan sahada sıvının bekletilmesi

İşlem sonrası fasya ve cilt ayrı ayrı 3/0 Propilen® (Doğsan Trabzon, Türkiye) suture kullanılarak kapatıldı (**Şekil 3.13**).



Şekil 3.13: Cerrahi sonrası fasyanın suture edilmiş görünümü

Tüm deneklerin cerrahi işlemleri aynı gün tamamlandı. Deneklerin her biri için genel anestezi altında iken, röntgen grafisi tetkiki uygulanarak, yapılan fiksasyonun standardize edilmesi ve uygunluğu sağlandı (**Şekil 3.15**). Cerrahi işlem

sonrasında her hayvana cerrahi sonrası analjezi amacıyla ile 2 gün boyunca günde tek doz subkutan 3 mg/kg Kaprofen (Rimadyl®, Zoetis, Türkiye) uygulandı (**Şekil 3.14**). Denekler, cerrahi sonrası 24 saat boyunca tek başlarına olacak şekilde izole edilip kafeste takip edildiler.



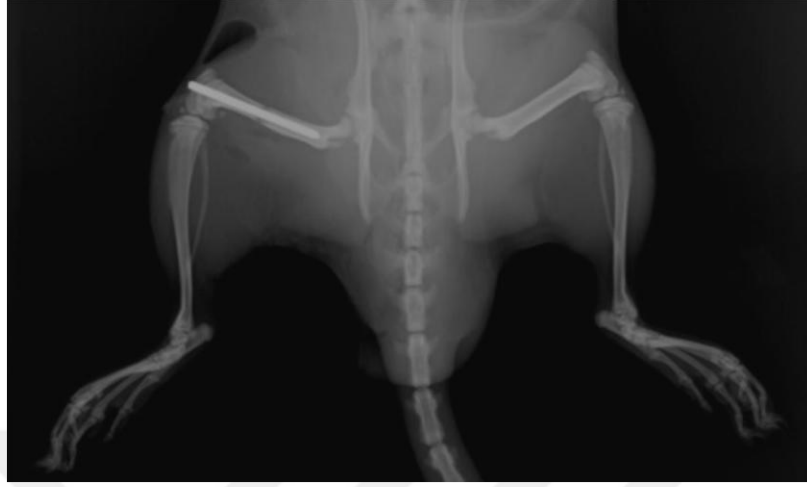
Şekil 3.14: Cerrahi sonrası analjezi uygulanması

2. günde tüm deneklerin yaşadığı ve hareketli oldukları gözlenerek, gruplarının olduğu kafeslere tekrar dahil edildiler. 3. gün takiplerinde analjezi için lüzum halinde 3 mg/kg Kaprofen (Rimadyl®, Zoetis, Türkiye) uygulamasına devam edildi.

Dördüncü haftaya kadar aynı standardize şartlarda takip edilen tüm gruplar bu haftanın sonunda sakrifikasyon amacıyla tekrar ameliyat masasına alındılar. Tüm gruplar, yüksek doz Ketamin HCl (Ketalar®, Pfizer, Türkiye) ve Ksilazin HCl (Rompun®, Bayer, Türkiye) anestezisi uygulanarak servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen deneklerin işlem yapılan sağ femurları, üzerindeki yumuşak dokular (cilt hariç) sıyrılmadan kalça ve diz eklemleri seviyesinden çıkarıldı.

Tüm kemiklerin kaynamış olduğu görülerek; intramedüller bölgedeki K-telleri, kallusa zarar vermeyecek şekilde, diz eklemindeki uç kısmından çekilerek

ıkarıldı. Elde edilen örnekler inceleme tarihine kadar gazlı beze sarılarak %10'luk formaldehit zeltisi içerisinde ayrı kaplara konularak oda sıcaklığında saklandı.



Şekil 3.15: Redüksiyon ve tespit sonrası sağ femur kontrol radyografi gruntüsü

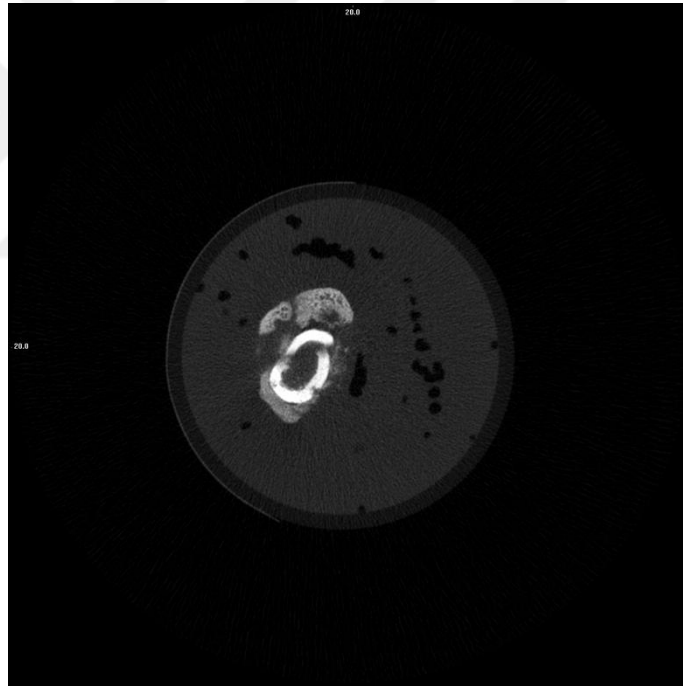
3.3. RADYOLOJİK İNCELEME

Elde edilen tüm örnekler, %10'luk tamponlu formol solüsyonunda saklanarak, mikro bilgisayarlı tomografi yoluyla radyolojik inceleme için İstanbul Üniversitesi Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Merkezi (TETLAB)'a transfer edilmiştir. Bu rnekler mikro bilgisayarlı tomografi (mBT) cihazı ile yeni oluşan kallus hacmi (mm^3) ve kemik mineral yoğunluğu (g/cm^3) göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir (**Şekil 3.16**).

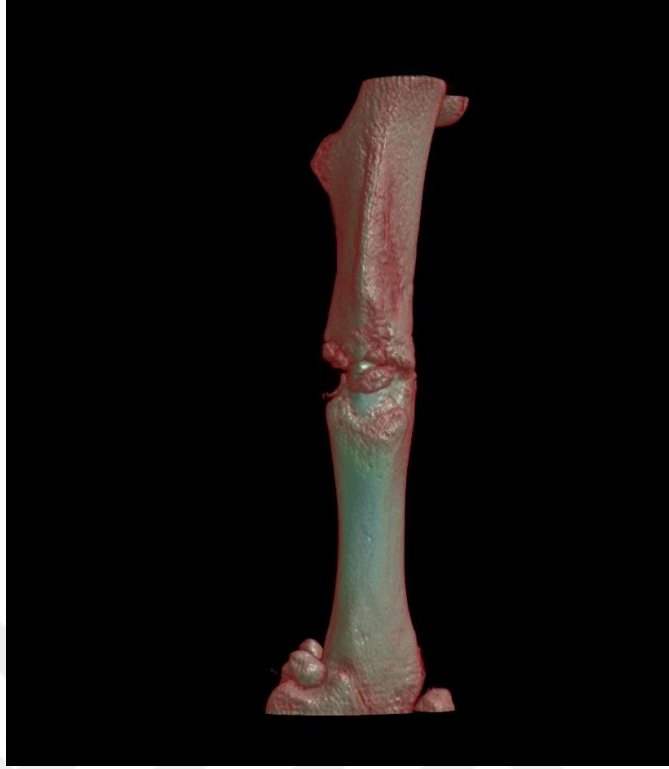


Şekil 3.16: Radyolojik inceleme için kullanılan mikro bilgisayarlı tomografi cihazı

Radyolojik incelemeler Bruker Micro-CT (SkyScan1174, ABD) isimli mBT cihazında yapılmıştır. Cihazın tarama alanı, tarama büyütmesine bağlı olarak 5-30 mm çapında ve 5-50 mm uzunluğunda değişebilir. Çalışmamızda her bir sağ femur örneği için önce bilgisayarlı tomografi skenogram görüntüleri elde edilmiş ardından da kırık hattının 7,5 mm üzeri ve 7,5 mm altı değerlendirme alanı olarak kabul edilip toplam 15 mm'lik inceleme alanında değerlendirme yapılmış ve kallus hacimleri hesaplanmıştır. Kemik mineral yoğunluğu (bone mineral density-BMD) analizleri 0,25 g/cm³ ve 0,75 g/cm³ lük kalsiyum hidroksiapatit kalibrasyon çubukları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir sağ femur kemiğinden ortalama 350 adet görüntü elde edildikten sonra incelemelerin analizleri cihazın kendi yazılımı olan Bruker CTAn isimli bilgisayar programında gerçekleştirilmiştir. Alınan görüntüler üç boyutlu (3D) olarak rekonstrükte edilebilmektedir.



Şekil 3.17: Kontrol grubu femurunda, 4. haftada yapılmış mBT aksiyel kesitte kırık hattına ait görüntü



Şekil 3.18: Kontrol grubu femurunda, 4. haftada yapılmış mBT' de kırık hattının üç boyutlu rekonstrükte edilmiş görünümü

3.4. BİYOMEKANİK İNCELEME

Biyomekanik inceleme için, bu dört grubun her birinden rastgele altı örnek alınarak; radyolojik incelemeyi takiben, Yıldız Teknik Üniversitesi Makine Mühendisliği Bölümü Makine Malzemesi ve İmalat Teknolojisi Anabilim Dalı'na teslim edildi ve burada tüm kemikler için biyomekanik testler uygulandı. %10'luk tamponlu formol solüsyonunda saklanarak transfer edilen örnekler, üzerlerinde bulunan yumuşak dokulardan cerrahi uygulamaları ve sakrifikasyonu yapan cerrah tarafından iyileşme dokularına zarar vermemeye özen gösterilerek dikkatli bir şekilde ayrıştırıldı.



Şekil 3.19: Biyomekanik analiz için kullanılan test cihazı

Kırık iyileşmesinin 4. hafta sonunda ulaştığı seviyenin tüm gruplarda kemik dokunun biyomekaniksel dayanıklılık açısından oluşturduğu etkileri belirlemek amacıyla üç nokta eğme testi uygulanmıştır. Biyomekanik testler, 100 kilonewton (kN) yük kapasitesine sahip bir test cihazı (Instron 5982, ABD) ile gerçekleştirilmiştir (**Şekil 3.19**). Cihazın örnekleme frekansı 1 kilohertz (kHz) ve kuvvet ölçüm doğruluğu $\pm \%0,5$ 'tir (**58**).



Şekil 3.20: Üç nokta eğme testi için test cihazına yerleştirilmiş sağ femur kemiği görünümü

Ölçüm cihazına yatay olarak ön yüzleri yukarıya bakacak pozisyonda yerleştirilmiş ve kuvvet, kırık hattına dik ekseninde ulaşacak şekilde uygulanmıştır. Destekler arasındaki mesafe her bir sağ femur kemiği için aynı olup 10 mm'dir. 5 milimetre/saniye (mm/s) lik bir hızla kırılma gerçekleşene kadar kemikler eğme işlemine tabi tutulmuştur. Kuvvet bilgileri, kullanılan test cihazıyla uyumlu çalışan bir bilgisayar programı aracılığıyla (Instron BlueHill 3, ABD) eş zamanlı olarak kaydedilmiştir. Kırılma kuvveti, kuvvet eğrisinin en yüksek noktası olarak belirlenmiştir (59).

Test aşaması tamamlandıktan sonra, nihai eğilme kuvveti (F_{mak}) ve bükülme mukavemeti (σ_{bend}) değerleri sırasıyla Newton (N) ve megapaskal (Mpa) cinsinden istatistiksel analiz için kaydedilmiştir.

3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Her gruptan geriye kalan altışar örnek Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar SUAM Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na teslim edilerek tüm cerrahi işlemleri gerçekleştiren aynı cerrah tarafından kas ve yumuşak dokulardan arındırıldı. %10'luk tamponlu formol solüsyonunda bir hafta süre ile fikse edildi. Fiksasyon sonrası %10'luk formik asit solüsyonunda 3 gün dekalsifiye edildikten sonra makroskopik olarak kasetlere alındı, sonra kapalı sistem doku takip cihazında alkol, aseton, ksilen, parafin aşamalarından geçerek dehidrate edildi ve sonrasında parafin bloklama yapıldı. 3-4 µm'lik longitudinal kesitler alınarak her bloğun birer preparatına hematoksilin-eozin (H+E) ve ikinci preparatına Masson trikrom (MT) boyamaları uygulandı. Boyalı lamalar otomatik kapama sisteminde lamelle kapatıldı. Histopatolojik inceleme için Olympus BX61 ışık mikroskobu ve fotoğraflama için Olympus DP72 kamera kullanıldı.

Hazırlanan preparatlar, histolojik iyileşme skalası (**Tablo 3.2**) ve inflamasyon skorlaması ile değerlendirildi.

Tablo 3.2: Kırık iyileşmesinde histolojik iyileşme skalası

Skor	Kırık Bölgesinin 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 immatür kemik
9	İmmatür kemik ve az miktarda matür kemik
10	Matür kemik

İnflamasyon skorlaması ışık mikroskobu altında lenfosit infiltrasyonuna göre değerlendirildi ve 0-3 arasında skorlandı. Değerlendirme ve skorlandırmalar aynı patolog tarafından gerçekleştirildi. İnflamasyon varlığı skalası:

- 0: İnflamasyon yok.
- 1: Hafif düzeyde inflamasyon var.
- 2: Orta düzeyde inflamasyon var.
- 3: Şiddetli düzeyde inflamasyon var.

3.6. HİSTOMORFOMETRİK İNCELEME

Kırık hattının seri kesitlerinin kantitatif incelenmesi için 3-4 µm'lik kesitler kullanılarak; iki alan ölçülmüş, bu alanların oranı yüzde (%) değeri olarak hesaplanmıştır. Bu iki alan; korteks alanı ve kemikleşen doku, kırıkta ve fibröz kallus alanıdır.

Total kallus alanı (CAr), kemik korteksinin dışında ve içinde tüm dokuları kapsayan toplam kallus alanı ölçümlerinin ortalama mm² cinsinden değeri olarak; korteks alanı (Ct.Ar) ise korteks ile doldurulmuş toplam alan olarak mm² cinsinden hesaplanmıştır. Ardından CAr/CtAr değeri yüzde (%) olarak belirlenmiştir (**60**).

3.7. İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

İmmunohistokimyasal incelemede, her preparat için artefaktın en az olduğu bir adet parafin blok seçildi. Bu bloklardan 3-4 mikron kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 60 derece sıcaklıktaki etüvde 60 dakika bekletildi. Etüvden alınan kesitler, oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra Ventana BenchMark XT modellenli cihazda multimer teknolojiye dayalı XT DAB V3 protokolüyle otomatik olarak boyandı. Boyama işlemi bittikten sonra cihazdan alınan kesitler 5-10 dakika sabunlu suda yıkandı. Kurutularak %96'lık alkol ve ksilenden geçirilen lamlar, Sakura Tissue Tek Film model otomatik film kapama cihazında kapatıldı.

Spesifik immün işaretlenmenin pozitifliği ve negatifliği mikroskop altında kontrol boyamalarla karşılaştırılarak değerlendirildi. Pozitif immün işaretlenme

gösteren beş bölge boyanma şiddeti açısından semi-kantitatif olarak değiştirilmiş H-SCORE ile analiz edildi.

Skorlama, 0-300 arasında olacak şekilde ortalamaları alınarak, iki araştırmacı tarafından beş bölge esas alınarak yapıldı (61).

3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov Simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde t test, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanılmıştır.

4.BULGULAR

4.1. RADYOLOJİK BULGULAR

4.1.1.Kallus Hacmi ve Kemik Hacmi

Radyolojik inceleme için örnekler, mikro bilgisayarlı tomografi cihazıyla, yeni oluşan kallus hacminin mm³ cinsinden ve kemik mineral yoğunluğunun g/cm³ cinsinden değerleri esas alınarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Salin, PVP-I, KHG ve HPO grubunda kallus hacmi anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Salin, PVP-I, KHG ve HPO grubunda kemik hacmi anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Kemik hacmi/Kallus hacmi değeri açısından bakıldığında, Salin ve KHG grubu diğer gruplara göre daha düşük değerler göstermiştir. Ama Salin, PVP-I, KHG ve HPO grubunda kemik/kallus hacmi anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

4.1.2. Kemik Mineral Yoğunluğu (BMD)

PVP-I grubunda BMD değeri Salin, KHG ve HPO grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü. Salin, KHG ve HPO grubunda BMD (mm) değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Tablo 4.1: mBT ile değerlendirilen parametrelerin gruplara göre istatistiksel dağılımı

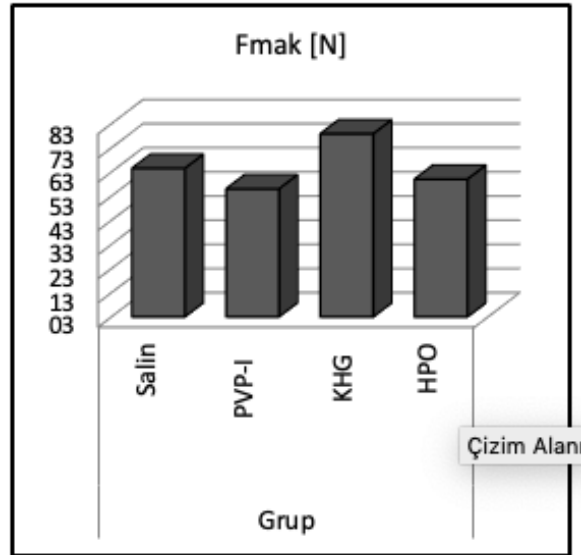
		Salin	PVP-I	KHG	HPO	<i>p</i>
Mikro CT						
BMD	Ort.±s.s.	3.7 ± 0.8 ²	2.5 ± 0.6	3.5 ± 0.6 ²	3.4 ± 0.6 ²	0.003 ^k
	Medyan	3.7	2.5	3.5	3.5	
Kallus Hacmi	Ort.±s.s.	79.9 ± 26.0	92.8 ± 46.9	86.0 ± 18.6	75.8 ± 27.8	0.466 ^k
	Medyan	75.5	81.3	88.1	69.8	
Kemik Hacmi	Ort.±s.s.	82.4 ± 22.4	76.3 ± 22.6	79.0 ± 14.9	81.2 ± 11.1	0.832 ^k
	Medyan	87.1	81.6	76.9	82.8	
Kemik/Kallus Hacmi	Ort.±s.s.	1.0 ± 0.4	1.1 ± 0.5	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.4	0.353 ^k
	Medyan	0.9	1.1	1.0	1.2	

^k Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² Batticon grubu ile fark $p < 0.05$

4.2.BİYOMEKANİK BULGULAR

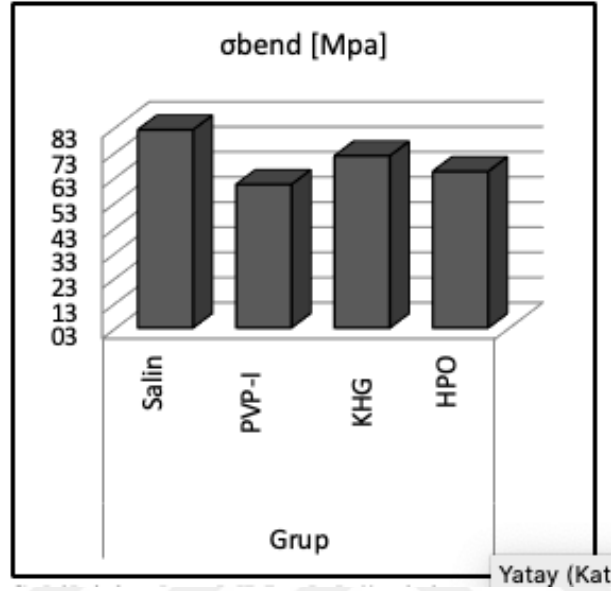
Kırık iyileşmesinin tüm gruplarda kemik dokunun biyomekaniksel dayanıklılık açısından oluşturduğu etkileri belirlemek amacıyla 4. haftada üç nokta eğme testi uygulanmış; nihai eğilme kuvveti (F_{mak}) ve bükülme mukavemeti (σ_{bend}) değerleri sırasıyla Newton (N) ve megapaskal (Mpa) cinsinden olacak şekilde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Nihai eğilme kuvveti- F_{mak} [N] değeri açısından bakıldığında KHG grubunda diğer gruplara göre daha yüksek değerler elde edilmesine rağmen, tüm gruplarda nihai eğilme kuvveti- F_{mak} [N] değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.



Şekil 4.1: F_{mak} (N) değerinin gruplara göre dağılımı

Salin ve KHG grubunda bükülme mukavemeti- öbend [Mpa] değeri diğer gruplardan daha yüksek değerlerde saptanmasına rağmen tüm gruplarda bükülme mukavemeti- öbend [Mpa] değeri açısından anlamlı ($p > 0.05$) farklılık saptanmamıştır.



Şekil 4.2: öbend [Mpa] değerinin gruplara göre dağılımı

4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

4.3.1. Kırık iyileşme skorları

Hematoksilen-eozin (H+E) ve Masson trikrom boyamaları uygulanan 3-4µm'lik kesitler, histolojik iyileşme skalasına göre skorlandırılmış, bu 1-10 arası değerler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Salin ve KHG grubunda diğer gruplara göre daha yüksek kırık iyileşme skorları saptanmasına rağmen tüm dört grupta kırık iyileşmesi skorları anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Tablo 4.2: Histopatolojik bulguların gruplara göre istatistiksel dağılımı

		Salin	PVP-I	KHG	HPO	p
Patoloji						
Kırık iyileşmesi	Ort.±s.s.	4.7 ± 1.0	4.3 ± 1.2	5.2 ± 0.8	3.3 ± 1.5	0.124 ^K
	Medyan	5.0	4.5	5.0	3.0	
İnflamasyon Skoru	Ort.±s.s.	1.7 ± 0.5 ²³	1.0 ± 0.6 ³	0.2 ± 0.4	2.0 ± 0.8 ²³	0.003 ^K
	Medyan	2.0	1.0	0.0	2.0	

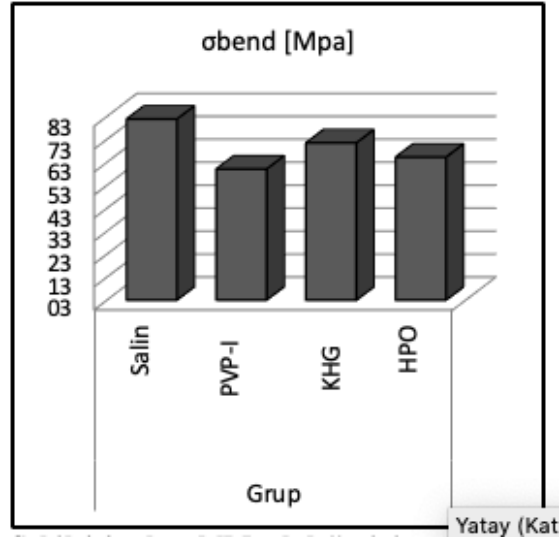
^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

² Batticon grubu ile fark p < 0.05 / ³ Klorheksidin grubu ile fark p < 0.05

4.3.2. İnflamasyon skorları

Işık mikroskobu altında lenfosit infiltrasyonuna göre değerlendirilen ve 0-3 değerleri arasında skorlanan inflamasyon skoru değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

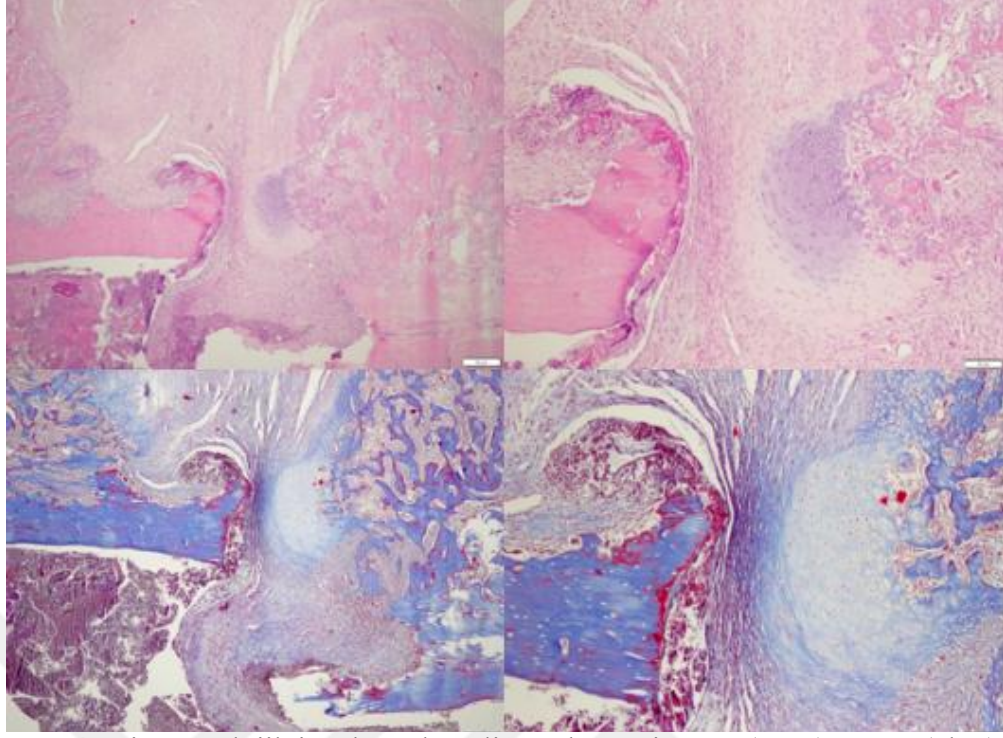
KHG grubunda inflamasyon skoru Salin, PVP-I ve HPO grubundan anlamlı (p < 0.05) olarak daha düşüktü. PVP-I grubunda inflamasyon skoru Salin ve HPO grubundan anlamlı (p < 0.05) olarak daha düşüktü. Salin ve HPO grubunda inflamasyon skoru anlamlı (p > 0.05) farklılık göstermemiştir.



Şekil 4.3: İnflamasyon skoru değerlerinin gruplara göre dağılımı

4X

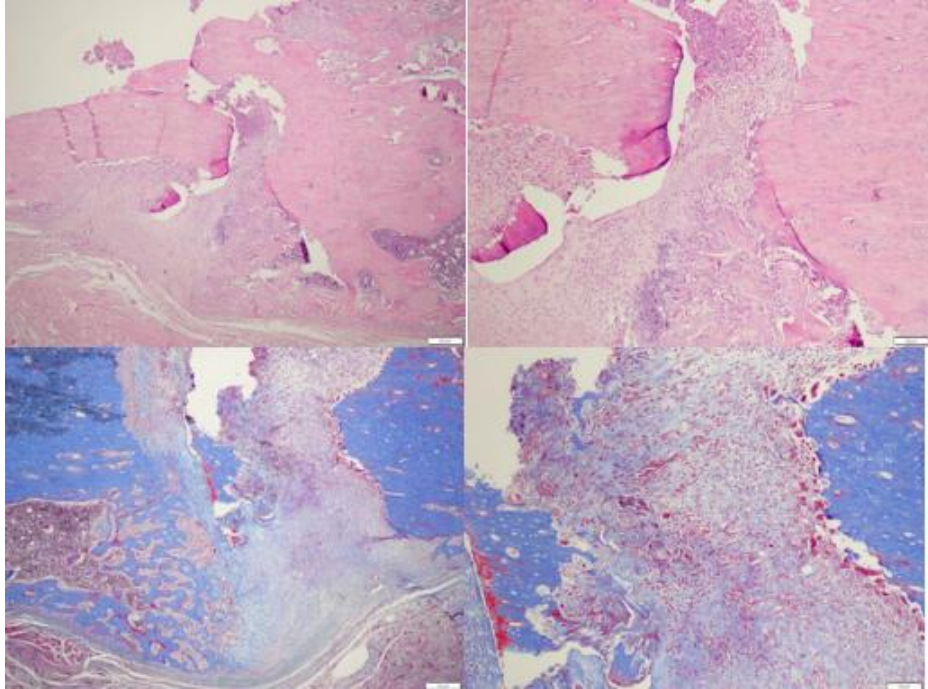
10X



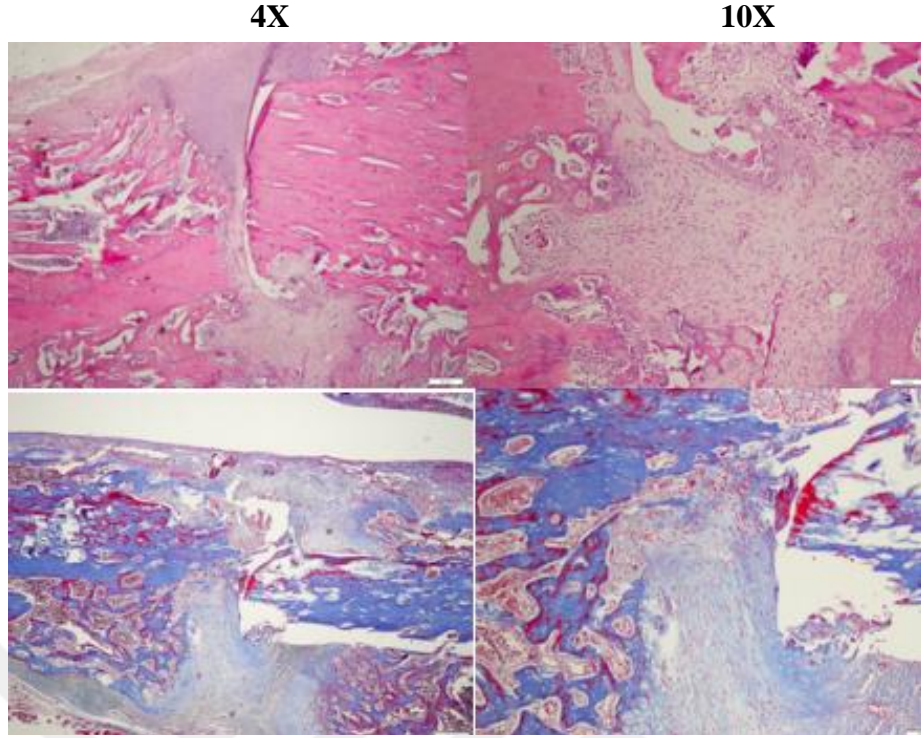
Şekil 4.4: Histopatolojik incelemede,Salin grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alтта) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X)

4X

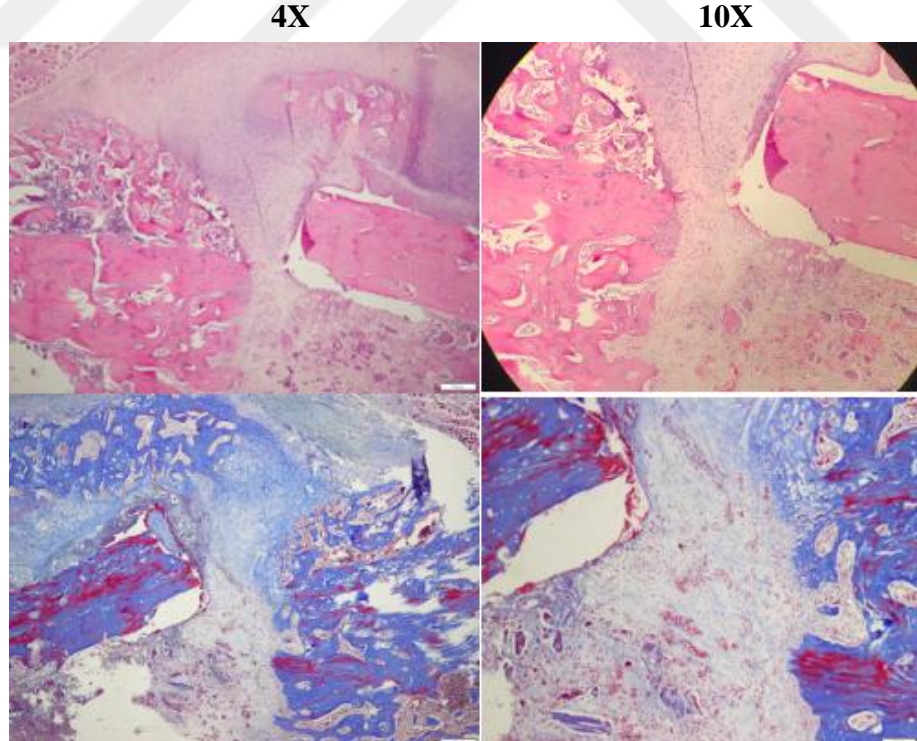
10X



Şekil 4.5: Histopatolojik incelemede, KHG grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alтта) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X)



Şekil 4.6: Histopatolojik incelemede, PVP-I grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alta) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X)

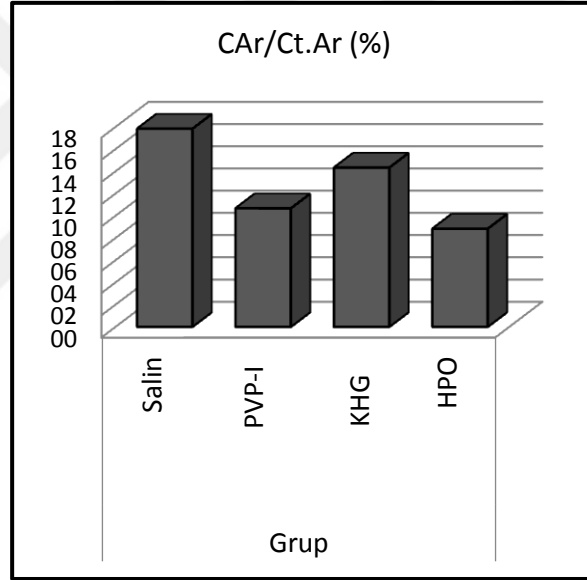


Şekil 4.7: Histopatolojik incelemede, HPO grubuna ait H+E (üstte) ve MT(alta) boyamalarında kırık iyileşmesinin 4. haftasına ait mikroskopik görüntüler.(Total büyütme 4X ve 10X)

4.4. HİSTOMORFOMETRİK BULGULAR

Histomorfometrik incelemede, kırık hattının seri kesitlerinin kantitatif incelenmesi için 3-4 μ m'lik kesitler kullanılarak total kallus alanı (CAr) ve korteks alanı (Ct.Ar) alanları mm² cinsinden ölçülmüş ve CAr/CtAr değeri yüzde olarak hesaplanmıştır. Bu değerler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

HPO grubunda CAr/CtAr yüzdesi Salin, PVP-I ve KHG grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü. PVP-I grubunda CAr/CtAr yüzdesi Salin ve KHG grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü. KHG grubunda CAr/CtAr yüzdesi Salin grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü.



Şekil 4.8: CAr/Ct. Ar yüzde değerlerinin gruplara göre dağılımı

Salin ve KHG grubunda mikrobilgisayarlı tomografi ölçümleri ile belirlenen kemik hacmi/kallus hacmi değeri diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştu. CAr/Ct.A yüzde değeri açısından bakıldığında Salin ve KHG grubundaki değerler diğer gruplara göre daha yüksek değerlerde saptanmıştı. Çalışmamızda histomorfometrik ve radyolojik olarak Salin ve KHG grubunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında paralel bulgular elde edilmiştir.

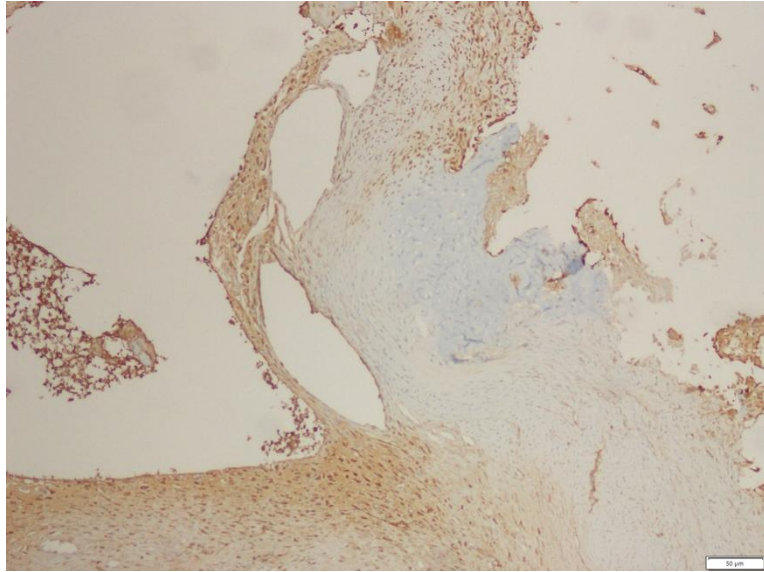
4.5. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Farklı irrigasyon solüsyonlarının sıçan femuru kırık iyileşmesine etkilerinin iyileşmenin 4. haftasında BMP-4 lokalizasyonuna ve immunoreaktivitesine etkisini incelemek adına yapılan immunohistokimyasal incelemede elde edilen 0-300 arasındaki H-SCORE değerleri arasındaki değerler istatistiksel açıdan analiz edilmiştir.

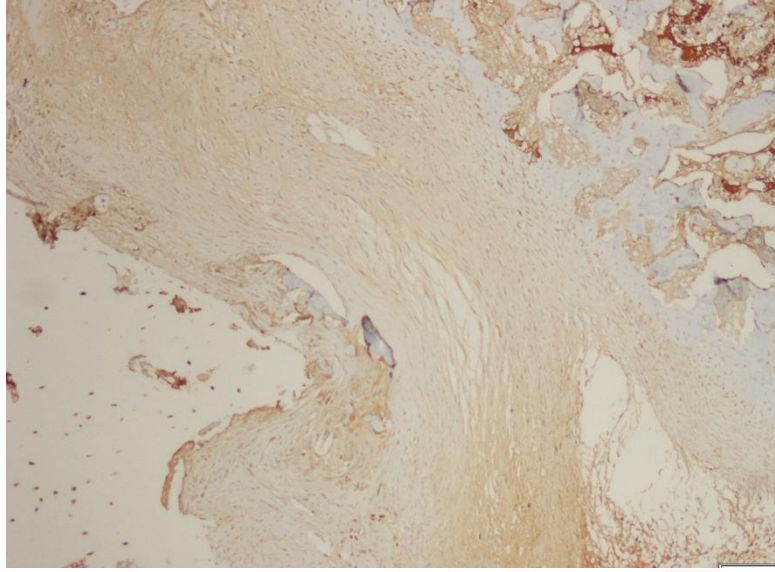
Salin, PVP-I, KHG ve HPO grubunda fibroblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

HPO grubunda kondroblast değeri Salin ve PVP-I grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü. KHG grubunda kondroblast değeri Salin ve PVP-I grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü. KHG ve HPO grubunda kondroblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Salin ve PVP-I grubunda kondroblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

HPO grubunda osteoblast değeri Salin ve KHG grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha düşüktü. Salin, PVP-I ve KHG grupları arasında osteoblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. KHG ve HPO grupları arasında osteoblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.



Şekil 4.: İmmunohistokimyasal incelemede BMP-7 işaretlemede PVP-I grubunun kırık iyileşmesinin 4. haftasındaki mikroskopik görüntüsü. Total büyütme 10X



Şekil 4.9: İmmunohistokimyasal incelemede BMP-4 işaretlemesinde KHG grubunun kırık iyileşmesinin 4. haftasındaki mikroskopik görüntüsü. Total büyütme 10X

Tablo 4.3: İmmunohistokimyasal inceleme BMP-4 işaretlemesinin gruplara göre istatistiksel dağılımı

		Salin	PVP-I	KHG	HPO	p
BMP-4 (H-Score)						
Fibroblast	Ort.±s.s.	180.0 ± 48.0	131.7 ± 39.1	94.7 ± 42.6	165.0 ± 66.9	0.064 ^K
	Medyan	177.5	135.0	77.5	160.0	
Kondroblast	Ort.±s.s.	209.2 ± 27.2 ³⁴	190.0 ± 18.9 ³⁴	176.7 ± 18.9	166.7 ± 18.3	0.008 ^K
	Medyan	200.0	190.0	182.5	172.5	
Osteoblast	Ort.±s.s.	165.0 ± 77.0 ⁴	143.3 ± 83.0	205.0 ± 40.2 ⁴	99.2 ± 57.1	0.032 ^K
	Medyan	170.0	120.0	192.5	67.5	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

³ Klorheksidin grubu ile fark p < 0.05 / ⁴ HPO grubu ile fark p < 0.05

Farklı irrigasyon solüsyonlarının sıçan femuru kırık iyileşmesine etkilerinin iyileşmenin 4. haftasında BMP-7 lokalizasyonuna ve immunoreaktivitesine etkisini incelemek adına yapılan immunohistokimyasal incelemede elde edilen 0-300 değerleri arasındaki H-SCORE değerleri istatistiksel açıdan analiz edilmiştir.

KHG grubunda fibroblast değeri Salin, PVP-I ve HPO grubundan anlamlı (p<0.05) olarak daha düşüktü. PVP-I grubunda fibroblast değeri Salin grubundan anlamlı (p <0.05) olarak daha düşüktü. Salin ve PVP-I grupları arasında fibroblast

değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. HPO ve PVP-I grupları arasında fibroblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Salin, PVP-I, KHG ve HPO grubunda kondroblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

KHG grubunda osteoblast değeri Salin, PVP-I ve HPO grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Salin ve PVP-I grubunda osteoblast değeri HPO grubundan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Salin ve PVP-I grupları arasında osteoblast değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Salin, PVP-I, KHG ve HPO grubunda CD34 (H-Score) değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Tablo 4.4: İmmunohistokimyasal değerlendirmede BMP-7 işaretlemesinin gruplara göre istatistiksel dağılımı

		Salin	PVP-I	KHG	HPO	<i>p</i>
BMP-7 (H-Score)						
Fibroblast	Ort.±s.s.	200.0 ± 50.1 ²³	130.0 ± 45.1 ³	78.3 ± 10.3	161.7 ± 69.0 ³	0.009 ^K
	Medyan	195.0	122.5	77.5	165.0	
Kondroblast	Ort.±s.s.	184.2 ± 32.6	178.3 ± 54.8	160.0 ± 20.7	155.0 ± 21.0	0.390 ^K
	Medyan	195.0	167.5	152.5	152.5	
Osteoblast	Ort.±s.s.	126.7 ± 38.4 ³	150.8 ± 63.7 ³	204.2 ± 40.3	79.2 ± 39.8 ¹²³	0.005 ^K
	Medyan	125.0	142.5	215.0	62.5	
CD34 (H-Score)	Ort.±s.s.	200.0 ± 62.3	149.2 ± 36.0	190.0 ± 69.6	142.5 ± 27.3	0.331 ^K
	Medyan	205.0	137.5	195.0	150.0	
CAr/Ct.Ar (%)	Ort.±s.s.	17.8 ± 3.3 ²³⁴	10.7 ± 1.2 ⁴	14.3 ± 1.2 ²⁴	8.8 ± 1.5	0.000 ^K
	Medyan	18.5	10.5	14.5	8.5	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

¹ Salin grubu ile fark $p < 0.05$ / ² Batticon grubu ile fark $p < 0.05$

³ Klorheksidin grubu ile fark $p < 0.05$ / ⁴ HPO grubu ile fark $p < 0.05$

5.TARTIŞMA

Günümüzde her geçen yıl daha fazla kırıkla karşılaşmakta olup, gerek travma faktörü ile gerekse de patolojik süreçlerle meydana gelen kırıkların sorunsuz iyileşmesi ortopedik travmatolojinin temel uğraşı alanlarından. Kırık iyileşmesi, gerek diğer dokulardan farklı bir iyileşme şekline sahip oluşu gerekse de iyileşmemenin gerçekleşmemesi sonucu meydana gelen katastrofik sonuçlar nedeniyle oldukça karmaşık ve bir o kadar kendine has olaylar zinciridir **(62)**. Kırık iyileşmesinde travma mekanizmasına, kırık tipine, hastaya ve tedavi şekline ve diğer birçok faktöre bağlı kırık iyileşmesinin farklı evrelerinde meydana gelen histolojik, mekanik ve moleküler değişiklikler, özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarla birçok yeni bilgi ortaya çıkmasına neden olmuştur. Günümüzde kırık iyileşmesi ile ilgili birçok bilgi açığa kavuşmuş olsa da bu karışık olaylar zinciri bilinmeyenleriyle ortopedik cerrahide hala merak konusudur **(63,64)**.

Kırık ve kırık hematomunun, çevreleyen yumuşak doku ve ciltte meydana gelen travmatik hasar ile dış çevreye maruziyeti sonucu ortaya çıkan hasar; yani açık kırık kavramı günümüz ortopedik travma pratiğinin en problemlili alanlarından birisidir. Genellikle yüksek enerjili travmayla meydana gelen ve sıklıkla yaşamı tehdit edici politravmayla ilişkili bu durum; takım yaklaşımını gerçekleştirebilecek merkezlerde tedavi edilmelidir. **(65)**. Ayrıca bu yaralanmalarda ciddi yumuşak doku ve kemik hasarına neden olmasının yanında nörovasküler hasara sebep olması, kirli içerik ve debrisle kontaminasyon gibi risk faktörleri ortaya çıkmaktadır. Bu nedenlerle amputasyonu da içeren ciddi komplikasyonlarla ilişkilidir. **(66)** Politravmanın yönetimindeki gelişmelerle, güçlü antibiyotiklerin bulunmasıyla, radikal debridman tekniklerinin ve kemik stabilizasyon yöntemlerinin iyileştirilmesiyle, erken yumuşak doku rekonstrüksiyonunun daha sık yapılmaya başlanmasıyla açık kırık tedavi sonuçlarında kayda değer gelişmeler kaydedilmiştir. Açık kırık yönetimi; "ortoplastik" yaklaşım gerektirir ve komplikasyonların en aza indirgenmesi amacıyla, bahsedilen tüm başlıklar altında hala yeni gelişmelere açık ortopedik travma uğraşı alanıdır **(67,68)**.

Ortopedik acillerden olan açık kırığın tedavisinde başarıyı belirleyen belki de en önemli aşama acil serviste kırığın ilk değerlendirmesi ve tedavinin yönetimidir. **(69)**. Enfeksiyon riskinin en aza indirgenmesi ilk aşamada etkili ve uygun bir debridman ve yıkamaya bağlıdır. Amaç, kontaminasyonu enfeksiyon gelişmeden önlemek ve bakteri kolonizasyonunu engellemektir. İrrigasyon yönteminin, içeriğinin ve miktarının bakteriyel yükteki azalmaya ve yumuşak doku iyileşmesine etkisi uzun yıllar araştırılmış olup literatürde avantajlarını ve dezavantajlarını gösteren birçok çalışma mevcuttur. **(70,71)**. Literatürde, farklı irrigasyon solüsyonlarının ve yöntemlerinin bakteriyel yük, yumuşak doku, kırık ve kemik doku üzerindeki olumlu veya olumsuz etkilerini inceleyen birçok çalışma mevcut olsa da içeriği değiştirilen irrigasyon solüsyonlarının deneysel hayvan açık kırık modellerinde kırık iyileşmesine etkisini inceleyen çok az sayıda çalışma mevcuttur **(72,73,74,75)**.

Biz çalışmamızda, açık kırık tedavisinde ilk basamak olan debridman ve yıkama aşamasında; irrigasyon sıvısının içeriğini değiştirip antiseptik solüsyonlar ekleyerek sıçan femuru açık kırık modelinde bu irrigasyon sıvılarının kırık iyileşmesine etkisini inceledik. Bu amaçla, üç farklı irrigasyon solüsyonunun kırık iyileşmesine radyolojik, histopatolojik, histomorfometrik, immunohistokimyasal ve biyomekanik açıdan etkilerini; standart sıçan femuru açık kırık modelinde araştırdık.

Deney modelini seçerken, insanlarda görülen kırıklarda ortaya çıkacak değişikliklerin mümkün olan en yakın senaryoyla araştırılması amaçlanmalıdır. Denek ve model seçiminin, kırık iyileşmesi üzerindeki önemli etkileri büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer moleküllerin araştırılması hususunda daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir **(76,77)**.

Deneyde kullanılacak hayvan olarak sıçan, fare, tavşan, köpek, koyun, domuz gibi farklı seçenekler mevcuttur **(78,79,80)**. Çalışmamızın amacına uygun kırık modelinin standardizasyonunun sağlanması, tekrar edilebilirliği, beslenme ve barınma ucuzluğu, denek elde edilebilirliği ve çalışmada kullanılacak antikorların ulaşılabilirliği düşünülerek çalışmamızda küçük deneklerden sağlıklı Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılması tercih edilmiştir. Deneysel çalışma amaçlı kırıklar, açık (osteotomi) ve kapalı (künt travma) tekniklerle oluşturulabilir **(81)**. Künt travma

ile oluşturulan kırıkların şekli ve parça sayısı standardize edilemediğinden, yüksek denek ölümü oranlarından, tespitin güvenilirliği düşük olduğundan, kontrol edilemeyen yumuşak doku hasarı oluşmasından ve çalışmamızın amacına hizmet edeceğinden dolayı çalışmamızda açık (osteotomi) kırık modeli tercih edilmiştir **(82)**. Kırığın tespit yöntemi olarak, kanal içi çivileme, eksternal fiksator veya plak-vida tespiti kullanılabilir **(83)**. Kırık iyileşmesi ve bu süreçte etkin olan biyolojik yöntemlerin araştırılmasında tercih edilen, deney sonunda telin çekilerek mekanik ve histolojik incelemenin daha kolay yapılmasına imkan sağlayan kanal içi çivileme tekniği çalışmamızın tespit yöntemi olarak belirlenmiştir **(84)**. Kırık şekli olarak, segmenter kırık modeli, kemik defekti modeli, stres kırığı modeli, osteokondral kırık modeli gibi birçok kırık modeli kullanılabilir **(85,86)**.

Ayrıca, Husodo ve ark.'nın, povidon iyodür ve hidrojen peroksitin kırık iyileşmesine etkilerinin histomorfometrik açıdan incelendiği güncel çalışmalarında sıçan femuru açık kırık modeli oluşturulmuş ve elde edilen sonuçların standardizasyonu başarıyla sağlanmıştır **(87)**. Çalışmamızda, yine elde edilecek verilerin standardizasyonunu sağlamak, redüksiyonun ve tespitin etkinliğini artırmak, uygulama kolaylığı ve tespit güvenilirliği amacıyla, sıçan femuru orta diyafiz açık (osteotomi) transvers kırık modeli oluşturularak kanal içi çivileme ile tespiti ve radyolojik olarak redüksiyonun kontrolü sağlanmıştır.

Kırık iyileşmesi ile ilgili deneysel çalışmalarda sonuçların hangi parametrelerle yorumlanacağı veya karşılaştırılacağı konusu son derece önemlidir. En sık kullanılan değerlendirme yöntemleri radyolojik, histolojik ve biyomekaniktir. Özellikle küçük deneklerde yapılan kırık iyileşmesi çalışmalarında standardizasyonun yakalanması adına hem histomorfometrik hem de biyomekanik değerlendirmeler yapılmalıdır **(88,89)**. Çalışmamızda radyolojik, histolojik, histomorfometrik, immunohistokimyasal ve biyomekanik incelemeler yapılmıştır.

Kırık iyileşmesinin radyolojik değerlendirmesinde, daha önce yapılan çalışmalarda birçok farklı yöntem kullanılmış olmakla birlikte; üç boyutlu mBT kullanımı bu yöntemler arasında bütün kallus volümünü ve trabeküler yapıyı değerlendirebildiği, küçük deneklerde kullanılabilen invaziv olmayan bir yöntem olduğu, kortikal kemiğin volumetrik yoğunluğuyla beraber kesitsel yapısını

gösterdiği için diğer yöntemlere üstünlük sağlar **(90,91)**. Çalışmamızda BMD ve kemik hacmi/kallus hacmi radyolojik üç boyutlu mBT ile değerlendirilmiş ve diğer radyolojik yöntemlere göre daha objektif sonuçlar elde edilerek analiz edilmiştir.

Kırık iyileşmesinin biyomekanik değerlendirmesinde kullanılan birçok yöntem var olmakla beraber bu yöntemlerden üç nokta eğilme testinin özellikle uzun kemiklerin biyomekanik açıdan değerlendirmesinde uygun ve uygulanması basit bir metod olduğunu gösteren güncel çalışmalar mevcuttur **(92)**. Çalışmamızda, üç nokta eğilme testi kullanılarak F_{mak} ve σ_{bend} değerleri elde edilmiştir. Bu değerlerde KHG ve Salin gruplarında benzer değerler elde edilmesine rağmen tüm gruplar arasında anlamlı fark gösterilememiştir.

Biyomekanik ve radyolojik sonuçların kantitatif histolojik sonuçlarla birleştirilmesi çalışmanın objektivitesi açısından oldukça önemlidir. Kırık iyileşmesinde objektif ve kantitatif değerler elde edilmesi istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde etmek için ayrıca önemlidir. Gerstenfeld ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kırık iyileşmesinin histomorfometrik incelemesinde bazı parametreler, kırık iyileşmesinin ölçütleri olarak belirlenmiştir **(93)**. Çalışmamızda mBT verileri ile korelasyon sağlayabilmek veya karşılaştırma yapabilmek adına bu histomorfometrik parametrelerden $CAr/CtAr$ yüzdesi saptanmış ve radyolojik sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Kallus ve kemik hacminin değerlendirildiği radyolojik ve histomorfometrik bulgular ışığında Salin ve KHG grubunda benzer ve olumlu değerler elde edilmesine rağmen diğer gruplarla arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kırık iyileşmesinin ve inflamasyonun histopatolojik puanlaması için literatürde farklı skorlama sistemleri kullanılmasına rağmen biz çalışmamızda Allen ve ark. tarafından belirlenen, sonuçlarımızı istatistiksel olarak daha objektif değerlendirebileceğimizi düşündüğümüz sistemi kullandık **(94)**. Bu skorlama sistemi ile kırık iyileşmesi için 1-10 arasında, inflamasyonu değerlendirmek için ise 0-3 arasında skorlama yapıldı ve istatistiksel veriler elde edildi.

Kırık iyileşmesi çalışmalarında immunohistokimyasal değerlendirmede, bu süreçte rol alan sitokinler, reseptörler, ekstrasellüler matriks komponentleri ve bunların sistemik ve lokal etkileri gösterilmiştir. Histolojik değerlendirme tekniklerinden birisi olan immunohistokimyasal değerlendirme, antijen-antikor

ilişkisinden faydalanılarak immün işaretleme ile kalitatif veya kantitatif olarak belirlenir **(95,96)**. Siwicka ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada farklı kırık iyileşme zamanlarında farklı immunohistokimyasal reseptörlerin işaretlendiği gösterilmiştir **(97)**. Ayrıca Haque ve ark., kemik yapım bölgesinde fibroblast, osteoblast gibi hücrelerde kemik morfojenik faktör (BMP), sinyal moleküllerini göstermişler ve semi-kantitatif değerlendirme sistemini kullanmışlardır. Literatürde birçok çalışmada, kalitatif, semi-kantitatif ve kantitatif analizler yapılmış, istatistiksel analiz yapabilmek adına semi-kantitatif veya kantitatif değerlendirmelerin yapılması önerilmektedir **(98)**. Ayrıca, Gerstenfeld ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada kırık iyileşmesinin farklı sürelerinde farklı immunohistokimyasal dağılımın olduğu gösterilmiştir **(99)**. Çalışmamızda kırık iyileşmesinin 4. haftasında yapılan immunohistokimyasal inceleme için BMP-4, BMP-7 ve CD34 işaretlemeleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar ise, istatistiksel açıdan objektif sonuçlar elde edebilmek adına semikantitatif olarak 0-300 arasında H-SCORE skorlama sistemi ile puanlanmıştır **(100)**.

Cerrahi irrigasyon konusunda belki de en tartışmalı ve açığa kavuşturulmamış olan konu irrigasyon solüsyonunun seçimidir. Normal salin solüsyonu yıllarca en geniş kullanım alanına sahip olan irrigasyon sıvısıdır **(101)**. Antibiyotikler, sürfaktanlar ve antiseptikler; enfeksiyonun önlenmesinde irrigasyon solüsyonu olarak yıllarca kombine edilmiş ve araştırılmıştır. Ne yazık ki, bu solüsyonların etkilerini tam olarak ortaya koyabilen çalışma literatürde pek az sayıdadır ve bu nedenle oluşturulmuş klinik bir rehber bulunmamaktadır **(102)**. Son yıllarda FDA, %0.05'lik klorheksidin ve ardından normal salin solüsyonları ile iki aşamalı yara debridman ve irrigasyon sistemini onaylamıştır. Gustumhaugen ve ark., güncel bir çalışmada hidrojen peroksitin mekanik debridmanla birlikte etkili bir biyofilm-debride edici ajan olarak kullanılabileceğini ortaya atmıştır **(103)**. Ruder ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada ise periprotetik eklem enfeksiyonu cerrahisinde enfeksiyonu engellemek için dilüe povidon iyodür irrigasyonunun güvenli ve ucuz bir yöntem olduğu gösterilmiştir **(104)**. Çalışmamızda, en sık kullanılan antiseptik solüsyonlar olan povidon iyodür, klorheksidin ve hidrojen peroksitin kırık iyileşmesine olan etkileri incelenmiştir **(105)**.

Antiseptik ajanların irrigasyon solüsyonu olarak kullanımında kısıtlayıcı belki de en önemli faktör lokal doku hasarına neden olmaları ve bu nedenle yara komplikasyonlarına neden olan sitotoksik özellikleridir. İdeal bir antiseptik solüsyon; minimal bakterisidal konsantrasyon (bakteriyel yükü %99,9 azaltmak için gereken konsantrasyon) kullanılarak minimal sitotoksositeye neden olur. Genellikle bu solüsyonlardaki aktif komponent konsantrasyonu bakterisidal aktivite düşünülerek sitotoksitesi en aza indirgenmelidir **(106)**. Çalışmamızda kullanılan irrigasyon solüsyonlarının konsantrasyonları sitotoksitesi en az olacak şekilde, minimal bakterisidal konsantrasyon belirlenerek, povidon iyodür için %1, klorheksidin için %0,05 ve hidrojen peroksit için %3 olarak saptanmıştır. Cerrahi alan enfeksiyonlarını engellemek veya açık kırıkların irrigasyonunda bakteriyel yükü azaltmak amacıyla literatürde daha önce gösterilmiş olan irrigasyon solüsyonlarının yara ile temas süresinin yara yeri komplikasyonları ve yumuşak doku toksisiteleriyle ilişkileri düşünülerek bu süre %1'lik povidon iyodür ve %3' lük hidrojen peroksit için 2 dakika, %0,05'lik klorheksidin için 1 dakika olarak belirlenmiştir **(107,108)**. Bu şekilde; çalışmamızda kullanılan antiseptik solüsyonların kırık iyileşmesine olan etkileri incelenirken, hücresel hasar en aza indirgenmiş; neden olabilecekleri lokal yumuşak doku hasarından kaçınılmış, bakterisidal etkileri korunmuştur. Çalışmamızda ayrıca bu antiseptik solüsyonların yara yeri komplikasyonları veya bakteriyel yüke etkileri incelenmemiş olup, postoperatif dönemde hiçbir denekte yara yeri enfeksiyonuna veya komplikasyona rastlanmamıştır. Ayrıca povidon iyodür, klorheksidin ve hidrojen peroksit kan veya diğer sıvıların varlığında antiseptik etkilerini kaybetmezler **(109)**.

Antiseptik solüsyonların bakteriyel yükü azaltmaktaki etkinliğini gösteren birçok çalışma mevcutken, bu solüsyonların belirli dozlarda neden olduğu yumuşak doku hasarının ötesinde osteoblastlara, fibroblastlara ve kondrositlere ve dolayısıyla yeni kemik formasyonuna olumlu ve olumsuz etkileri gösterilmiştir. Lineaweaver ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, yüksek doz povidon iyodür ve hidrojen peroksitin kültüre fibroblastların %100'e yakın bir kısmına toksik olduğu *in vitro* gösterilmiştir **(110)**. Çalışmamızda, sadece BMP-7 ekspresyonu incelendiğinde fibroblastlar üzerinde olumsuz etkisi gösterilmiş; hem BMP-4 hem BMP-7 ekspresyonunda kondroblastlar üzerinde olumsuz etkisine rastlanmamıştır. Docherty ve ark.'nın

yaptığı başka bir çalışmada ise povidon iyodürün *in vitro* neden olduğu güçlü sitotoksik etkinin, *in vivo* çok daha az olduğu gösterilmiştir (111). Ayrıca başka bir çalışmada çocuk apendisit vakalarında enfeksiyonu azaltmak amacıyla %1'lik povidon iyodür solüsyonunun güvenle kullanılabilceği saptanmıştır (56). Jiang ve ark.'nın yaptığı bir başka çalışmada ise povidon iyodürün mezenkimal kök hücre ve osteoblastlarda osteojenik farklılaşmayı artırdığı, bunu da ekstrasellüler matriksin birikimini sağlayarak gerçekleştirdiği düşünülmüştür (112). Ramchandani ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise düşük konsantrasyonda kullanılan povidon iyodürün BMP-2 ve OPN ekspresyonunu artırarak mezenkimal kök hücre farklılaşmasını ve yeni kemik yapımını artırdığı gösterilmiştir (113). Çalışmamızda ise histopatolojik olarak kırık iyileşmesine olumsuz etkisinin olmadığı görülmüş olmakla beraber immunohistokimyasal olarak BMP-4 ve BMP-7 ekspresyonu incelendiğinde osteoblast üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı ayrıca gösterilmiştir. Ayrıca dilue povidon iyodür solüsyonu ile irrigasyonun spinal cerrahide postoperatif enfeksiyonun önlenmesinde uygulanmasının güvenli, ucuz, hızlı ve basit olduğu; rutin ultraviyole ışığın, laminar akımın veya izolasyon kıyafetlerinin sağlanamadığı durumlarda güvenle kullanılabilceği gösterilmiştir (114). Çalışmamızda ayrıca %1'lik povidon iyodür solüsyonunun bu konsantrasyonda radyolojik incelemede kırık iyileşmesinin 4. haftasında kemik mineral yoğunluğuna olumsuz etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Hidrojen peroksitin düşük konsantrasyonda uygulanmasının yara iyileşmesini artırdığı, açık yaraların ve kırıkların debridman ve irrigasyonunda kullanılabilceği, kemik sementi ve trabeküler kemik arasındaki temasın artırılmasını sağladığı düşünülmektedir (115,116,117). %1,5-3,5 'lik hidrojen peroksit solüsyonunun anjiogenezi artırarak iskemik ülserlerde iyileşme sağladığı da gösterilmiş, bu etkisinin VEGF salan makrofajların uyarılması ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (118). Çalışmamızda CD34 ekspresyonu immunohistokimyasal incelemesinde hidrojen peroksitin diğer gruplarla arasında anlamlı fark saptanamamıştır. Öte yandan Röhner ve ark., septik eklem cerrahisinde hidrojen peroksit solüsyonunun insan kondrositleri üzerinde hücre ölümünü artırıcı etkisinin olduğunu, ardından uygulanan sodyum klorür solüsyonunun ise hücre yaşama kapasitesi üzerinde pozitif etkisinin olduğunu göstermiştir (119). Çalışmamızda; kırık iyileşmesinin 4.

haftasındaki BMP-4 ekspresyonu değerlendirildiğinde hidrojen peroksitin %3'lük solüsyonunun osteoblastlar ve kondroblastlar; BMP-7 ekspresyonu incelendiğinde osteoblast üzerindeki olumsuz etkisi gösterilmiştir. Ayrıca kallus hacmine olumsuz etkisi histomorfometrik olarak gösterilmiş olsa da radyolojik olarak paralel bulgulara rastlanmamıştır.

%0,05 konsantrasyonda klorheksidin solüsyonunun yara iyileşmesine negatif etkisinin olmadığı, bu konsantrasyonda bir doku modelinde %99,8 oranda bakteriyel kontaminasyonu elimine ettiği gösterilmiştir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda osteoartrit olmayan kırık dokuda olumsuz etkilerinin olmadığı görüşü de vardır. İlginç bir şekilde, klorheksidinin ortopedik cerrahide kullanımının kısıtlı olmasının nedeniyle ilgili literatürde çok az çalışma mevcuttur. Süreleri tanımlanmamış ve yüksek konsantrasyonda kullanımının açık ya da artroskopik cerrahide insan kırıkdağına toksik olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ama primer insan osteoblastları üzerindeki etkileri hala net değildir (120,121). Klorheksidinin ortopedik cerrahide kullanımının önündeki tek kısıtlayıcı faktörün kondroliz olduğu düşünülebilir. Vörös ve ark.'nin yaptıkları güncel bir çalışmada klorheksidinin osteoblastlar üzerinde toksik etkisi *in vitro* gösterilmiştir (122). Çalışmamızda ise klorheksidinin %0,05'lik solüsyonda immunohistokimyasal incelemede osteoblast üzerinde olumsuz etkisine rastlanmamıştır. Başka bir kontamine açık kırık modeli çalışmasında salin ve klorheksidin solüsyonları karşılaştırılmış; klorheksidinin tek başına kullanılması önerilmemiş, ardından salin solüsyonu ile lavaj yapılmasının en iyi seçenek olduğundan bahsedilmiştir (123). Biz de çalışmamızda, %0,05 klorheksidin solüsyonu 1 dakika uygulandıktan sonra salin solüsyonu ile lavaj uygulamıştık. Başka bir çalışmada ise, klorheksidinin %2'lik konsantrasyonunun osteoblast, fibroblast ve myoblast hücreleri üzerinde toksik etkileri *in vitro* gösterilmiş; *in vivo* çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda, kırık iyileşmesinin 4. haftasında immunohistokimyasal incelemede osteoblast, kondroblast ve fibroblast üzerindeki olumsuz etkisine rastlamadık. Sadece BMP-7 ekspresyonunda fibroblast incelemede diğer gruplardan daha düşük H-SCORE değerleri izlenmiştir (124).

Shiels ve ark.'nın yaptığı güncel bir sıçan modeli çalışmasında kırık fiksasyon aracı olarak klorheksidin kaplanmış kemik içi çivileme uygulanmış, bakteriyel yükü azaltmakta faydası gösterilmiştir. Ama daha fazla çalışmayla kemik kaynamasına etkisinin araştırılması gerektiğinden bahsedilmiştir (125). Çalışmamızda kırık iyileşme skoru incelendiğinde de olumsuz etkisine rastlanmamıştır. Histopatolojik incelemede; inflamasyon skoru diğer gruplardan çok daha düşük bulunmuştu. Farklı antiseptik solüsyonların yara yeri komplikasyonları ve bakteriyel yükü azaltmada karşılaştırıldıkları bazı çalışmalarda klorheksidin solüsyonlarının salin solüsyonuna yakın davranış gösterdiği ve diğer antiseptik solüsyonlara üstünlüğü gösterilmiştir (126,127,128,129,130). Çalışmamızda da kırık iyileşmesinin 4. haftasında tüm incelemelerde salin yani kontrol grubuna en yakın değerlere klorheksidin grubunda rastlanmıştır. Olumsuz etkisinin gösterilmemiş olmasının yanında klorheksidin solüsyonunun özellikle radyolojik, histomorfometrik ve biyomekanik açıdan diğer gruplara üstün olduğu düşünülmüştür.

Günümüz ortopedi ve travmatoloji pratiğinin belki de en problemlili konusu enfeksiyonla mücadeledir. Özellikle enfeksiyonun neden olduğu yüksek maliyetli, tekrarlayan operasyonlara sebep olabilecek, kaynamama, osteomyelit ve hatta amputasyonla sonuçlanabilecek, hastanın yaşam kalitesini ciddi oranda etkileyen ve ortopedik cerrahın günlük pratiğinde problemlere yol açabilecek bu durumlardan kaçınabilmek adına tedavinin ilk aşamalarında basit, hızlı, güvenli ve maliyeti düşük önlemlerden solüsyon içeriğinin değiştirilmesinin önemli ve etkili olacağını düşünmekteyiz. Gerek açık kırıkların tedavisinde irrigasyon aşamasında gerekse de kırıkların cerrahi tedavisinde intraoperatif yıkama aşamasında solüsyon seçiminin bakteriyel yükü azaltarak, kırık iyileşmesine etki etmeyerek ve ayrıca sitotoksik etkilerden kaçınarak enfeksiyonun neden olabileceği komplikasyonları azaltabileceği görüşündeyiz. Yıllarca birçok yüksek maliyetli, uygulaması güç ve ulaşılabilirliği az yöntemler denenmiş veya uygulanmış olsa da çalışmamızda daha basit, etkili, ucuz, uygulanabilirliği ve ulaşılabilirliliği fazla yöntemlerden irrigasyon solüsyonunun içeriğini değiştirerek en sık kullanılan antiseptik solüsyonların kırık iyileşmesine etkilerini inceledik. Bu solüsyonlardan %0,05' lik klorheksidin solüsyonunda kırık iyileşmesinin 4. haftasında hala en sık kullanılan normal salin solüsyonuna yakın bulgular elde ettik. Tüm bulgular ışığında açık kırıkların irrigasyon aşamasında veya

kırıklarının cerrahi tedavisi sırasında %0,05' lik klorheksidin solüsyonunun kırık iyileşmesi açısından güvenle kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamız deneysel hayvan çalışması olup klinik uygulanabilirlik açısından bu konuda yapılacak daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu unutulmamalıdır.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Farklı kırık tiplerinin araştırılmamış olması çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olup bunun nedenleri standardizasyonun kaybolması endişesi ve denek sayısının artırılmasının doğurduğu etik kaygılardır. Çalışmamızda kırık iyileşmesinin farklı haftalarında inceleme yapılmamış olup, yine daha önce belirtilen nedenlerden dolayı denek sayısı en az miktarda tutulmaya çalışılmıştır. Çalışmamızın kısıtlılıklarından birisi de, kullanılan solüsyonların farklı yüzdelerdeki oranlarının ve farklı temas sürelerinin değerlendirilememiş olmasıdır. Bunun nedeni de denek sayısının artırılmasının ortaya çıkardığı etik kaygılardır.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda üç farklı irrigasyon solüsyonunun (hidrojen peroksit, povidon iyodür ve klorheksidin) sıçan femuru açık kırık modelinde kırık iyileşmesi üzerine etkilerini radyolojik, histomorfometrik, histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyomekanik açıdan inceledik.
- Radyolojik, biyomekanik ve immunohistokimyasal bulgular ışığında klorheksidin solüsyonu değerlendirildiğinde normal salin solüsyonuna yakın sonuçlar elde ettik. Özellikle kırık iyileşmesinin 4. haftasında histopatolojik incelemede KHG grubunda inflamasyon skorundaki azalma dikkat çekicidir.
- Radyolojik incelemede PVP-I grubunda kemik mineral yoğunluğu analizindeki azalma ve HPO grubunda kallus hacmi/kemik hacmi yüzdesinin analiz edildiği histomorfometrik incelemedeki düşük değerler gösterilmiştir.
- Histomorfometrik ve biyomekanik değerlendirmelerin özellikle KHG grubunun normal salin grubuna yakın sonuçlar göstermesindeki paralelliği çalışmadaki amacımızı desteklemektedir.
- Yumuşak doku komplikasyonları ve bakteriyel yüke etkileri çalışmamızın amacından uzaklaşılacağı düşünülerek ve daha önce değinilen diğer nedenlerden dolayı ayrıca değerlendirilmemiş olsa da kırık iyileşmesi üzerinde etkileri incelenen bu farklı solüsyonlardan klorheksidin solüsyonunun kırık iyileşmesine olumsuz etkisinin olmadığını ve güvenle kullanılabileceğini düşünmekteyiz.
- Çalışmamız ayrıca bu solüsyonların kırık iyileşmesine etkisinin bu farklı parametrelerle değerlendirildiği ilk deneysel hayvan çalışması özelliği taşımaktadır. Bu nedenle de bu konuda yapılacak diğer araştırmalar için örnek çalışma olma özelliği taşımaktadır.
- Bu solüsyonların ayrıca değerlendirildiği ve kırık iyileşmesi üzerindeki olumlu veya olumsuz etkilerinin mekanizmasının aydınlatılması adına daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

- Etik kaygılar gereği denek sayısının düşük olmasından dolayı, farklı kırık tipleri, solüsyonların farklı yüzdeler veya sürelerdeki etkileri ve kırık iyileşmesinin farklı zamanlardaki değerlendirmesinin yapılamamış olması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır.
- Çalışmamız daha fazla denekle, farklı parametrelerle, farklı maddelerle ve farklı çalışmalarla desteklendiğinde; ortopedik cerrahları en çok meşgul eden enfeksiyonla mücadele konusunda basit, ucuz, kolay uygulanabilir ve rahat ulaşılabilir önlemler adına umut verici adımlar atılabilir.



7. KAYNAKÇA

1. Wood GW. Fractures and dislocations in adults Part XV; Chapter 53 general principles of fracture treatment; campbell's operative orthopaedics, twelfth ed, Philadelphia, 2014; 2577-2615.
2. Zalavras CG, Marcus RE, Levin LS, Patzakis MJ. Management of open fractures and subsequent complications. *J Bone Joint Surg* 2007; 89(4): 883-894.
3. Buckwalter AJ. Bone and Joint Healing. In: Bucholz R, Heckman J, Court- Brown C (Eds) Rockwood and Green's Fractures in Adults seven ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2013; Vol 1: 85-103.
4. Weiner S, Wagner HD. The material bone: structure-mechanical function relations. *Ann Rev Mater Sci* 1998; 28:271-98.
5. Ginebra MP, Planell JA, Ontanon M, Aparicio C. Structure and mechanical properties of cortical bone. In: Structural biological materials. New York: Pergamon Press; 2000. p. 33-71 [chapter 3].
6. Martin RB, Burr DB, Sharkey NA. Skeletal tissue mechanics. New York: Springer-Verlag; 1998.
7. Bostrom MPG, Boskey A, Kaufman JJ, Einhorn TA. Form and function of bone. In: Buckwalter JA, Einhorn T, Simon S, eds. Orthopedic Basic Science-Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System. Rosemont, IL: American Academy of Orthopedic Surgeons, 2000:319-370.
8. Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone* 2008; 42:606-615.
9. Lian JB, Stein GS. Osteoblast Biology. In Marcus R, Feldman D, Kelsey J (ed). Osteoporosis. Third Edition. San Diego, CA: Academic Press 2008; 93-150.
10. Gartner LP, Hiatt JL. Cartilage and bone. *Color Textbook of Histology*. Saunders, Saint Louis, 114-130, 1997.
11. White AA 3rd, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg Am* 1977;59(2):188-92.)
12. Sloan J, Holloway G. Fractured neck of femur: the cause of the fall. *Injury* 1981; 13:230-2.

13. Marsh DR, Li G. The biology of fracture healing: optimising outcome. *Br Med Bull* 1999; 55(4):856-869.
14. Mountziaris PM, Mikos AG. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2008; 14, 179-86.
15. Thompson DD. Introduction-Mechanisms of fracture healing and pharmacologic control. *J Musculoskel Neuron Interact*, 2003; 3, 295-6.
16. Puzas JE, O Keefe RJ, Schwarz EM, et al. Pharmacologic modulators of fracture healing: the role of cyclooxygenase inhibition. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2003; 3, 308-12.
17. Kumar G, Narayan B. The Biology of Fracture Healing in Long Bones. *Classic Papers in Orthopaedics*, 2014; 531-3
18. Darouiche RO. Treatment of infections associated with surgical implants. *N Engl J Med* 2004; 350:1422–9.
19. Thakore RV, Greenberg SE, Shi H, Foxx AM, Francois EL, Prablek MA, et al. Surgical site infection in orthopedic trauma: a case-control study evaluating risk factors and cost. *J Clin Orthop Trauma* 2015; 6:220–6.
20. Zimmerli W, Moser C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2011; 65: 158–68.
21. Zimmerli W, Sendi P. Pathogenesis of implant- associated infection: the role of the host. *Semin Immunopathol* 2011; 33: 295–306.
22. Lazzarini L, Mader JT, Cahoun JH: Osteomyelitis in long bones. *J Bone Joint Surg Am*. 2004;86-A:2305–2318.
23. Whitehouse JD, Friedman DN, Kirkland KB, Richardson WJ and Sexton DJ: The impact of surgical-site infections following orthopedic surgery at a community hospital and a university hospital: adverse quality of life, excess length of stay, and extra cost. *Infect Control Hosp Epidemiol* 23: 183- 189, 2002.
24. Ennis WJ, Valdes W, Salzman S, Fishman D and Meneses P: Trauma and wound care. In: Morison MJ, Ovington LG and Wilkie K (eds): *A Problem- Based Learning Approach*. Chapter 17. Mosby Elsevier Limited, London, pp291- 307, 2004.
25. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop* 1995;355(S): S7–S21.

26. Erlebacher A, Filvaroff EH, Gitelman SE, Derynck R. Toward a molecular understanding of skeletal development. *Cell* 1995; 80:371–8.
27. Wozney JM, Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clin Orthop* 1998; 346:26–37.
28. Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: From basic science to clinical applications. *J Bone Joint Surg* 2001;83-A(Suppl): S1–S6.
29. Wlodarski KH. Properties and origin of osteoblasts. *Clin Orthop Relat Res* 1990; 252–276.
30. Anglen JO. Wound irrigation in musculoskeletal injury. *J Am Acad Orthop Surg.* 2001; 9:219-26.
31. Sprung J, Schedewie HK, Kampine JP: Intraoperative anaphylactic shock after bacitracin irrigation. *Anesth Analg* 1990, 71:430-433.
32. Anglen JO: Comparison of Soap and Antibiotic Solutions for Irrigation of Lower-Limb Open Fracture Wounds. A Prospective, Randomized Study. *JBoneJointSurgAm*2005,87:1415-1422.
33. Anglen JO, Apostoles S, Christensen G, Gainor B: The efficacy of various irrigation solutions in removing slime-producing *Staphylococcus*. *J Orthop Trauma* 1994, 8:390-396.
34. Bhandari M, Adili A, Schemitsch EH: The Efficacy of Low-Pressure Lavage with Different Irrigating Solutions to Remove Adherent Bacteria from Bone. *JBone Joint Surg Am* 2001, 83:412.
35. Tsukayama D, Schmidt A: Open fractures. *Current Treatment Options in Infectious Disease* 2001, 3:301-307.
36. Harley BJ, Beaupre LA, Jones CA, Dulai SK, Weber DW: The Effect of Time to Definitive Treatment on the Rate of Nonunion and Infection in Open Fractures. *Journal of Orthopaedic Trauma* 2002,16:484-490.
37. Rogers DM, Blouin GS, O’Leary JP. Povidone-iodine wound irrigation and wound sepsis. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 157:426-30.
38. Chundamala J, Wright JG. The efficacy and risks of using povidone-iodine irrigation to prevent surgical site infection: an evidence-based review. *Can J Surg* 2007; 50:473–81.
39. Brennan SS, Leaper DJ. The effect of antiseptics on the healing wound: a study using the rabbit ear chamber. *Br J Surg* 1985; 72:780-2.

40. Haley CE, Marling-Cason M, Smith JW, et al. Bactericidal activity of antiseptics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1985; 21:991–2.
41. Balin AK, Pratt L (2002) Dilute povidone–iodine solutions inhibit human skin fibroblast growth. *Dermatol Surg* 28:210–214
42. Munoz-Price LS, Hota B, Stemer A, Weinstein RA. Prevention of bloodstream infections by use of daily chlorhexidine baths for patients at a long-term acute care hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30(11): 1031–5.
43. Timsit JF, Schwebel C, Bouadma L, Geffroy A, Garrouste-Orgeas M, Pease S, Herault MC, Haouche H, Calvino- Gunther S, Gestin B, Armand-Lefevre L, Leflon V, Chaplaen C, Benali A, Francais A, Adrie C, Zahar JR, Thuong M, Arrault X, Croize J, Lucet JC. Chlorhexidine impregnated sponges and less frequent dressing changes for prevention of catheter-related infections in critically ill patients. *JAMA* 2009; 301(12): 1231–41.
44. Douw, C. M., Bulstra, S. K., Vandenbroucke, J. et al. 1998. Clinical and pathological changes in the knee after the accidental chlorhexidine irrigation during arthroscopy: case reports and review of the literature. *J Bone Joint Surg* 80: 437–440.
45. Drosou, A., Falabella, A. and Kirsner, R. S. 2003. Antiseptics on wounds: an area of controversy. *Wounds* 15: 149–166.
46. Hirsch, T., Seipp, H. M. and Jacobson, F. et al. 2010. Antiseptics in Surgery *Eplasty* 10: 320–326.
47. Hitz Lindenmüller, I. and Lambrecht, J. T. 2011. Oral care. *Curr. Probl. Dermatol.* 40: 107–115.
48. Matthews, D. 2011. No difference between 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinse on reduction of gingivitis. *Evid Based Dent* 12: 8–94.
49. Berwick JE, Lessin ME (1990) Effects of a chlorhexidine gluconate oral rinse on the incidence of alveolar osteitis in mandibular third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 48:444– 448
50. Reth M 2002 Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. *Nature* 3:1129–1133 24.
51. Suda N, Morita I, Kuroda T, Murota S 1993 Participation of oxidative stress in the process of osteoclastic differentiation. *Biochim Biophys Acta* 1157:318– 323

52. de Vries RBM, Hooijmans CR, Langendam MW, van Luijk J, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, et al. A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. *Evid Based Preclin Med* 2015; 2(1): 1–9
53. An YH, Friedman RJ. *Animal models in Orthopedic Research*. CRC Press, New York. 1999:155-32.
54. Utvag SE, Rindal DB, Reikeras O. Effects of torsional rigidity on fracture healing: strength and mineralization in rat femora. *J Orthop Trauma*. 1999;13(3):212-9.
55. Gortzak Y, Kandel R, Deheshi B, Werier J, Turcotte RE, Ferguson PC, et al. The efficacy of chemical adjuvants on giant-cell tumour of bone. An in vitro study. *J Bone Joint Surg Br* 2010; 92:1475–9.
56. Viljanto J. Disinfection of surgical wounds without inhibition of normal wound healing. *Arch Surg* 1980; 115:253–6.
57. Taylor GJS, Leeming JP, Bannister GC: Effect of antiseptics, ultraviolet light and lavage on airborne bacteria in a model wound. *J Bone Joint Swg [Br]* 75:724-730, 19Y3.
58. Leppanen OV, Sievanen H, Jarvinen TL. Biomechanical testing in experimental bone interventions—may the power be with you. *J Biomech* 2008; 41: 1623–1631.
59. Jiang GZ, Matsumoto H, Hori M, Gunji A, Hakozaiki K, Akimoto Y, et al. Correlation among geometric, densitometric, and mechanical properties in mandible and femur of osteoporotic rats. *J Bone Miner Metab* 2008; 26: 130-137
60. Recker RR, Kimmel DB, Dempster D, et al. Issues in modern bone histomorphometry. *Bone*. 2011;49(5):955-64.
61. Karipcin FS, Ensari TA, Kayisli UA, Guzel E, Kallen CB, Seli E. The mRNA-binding protein HuR is regulated in the menstrual cycle and repressed in ectopic endometrium. *Reprod Sci* 2011; 18:145-155.
62. Granero-Molto F, et al. Regenerative effects of transplanted mesenchymal stem cells in fracture healing. *Stem Cells*. 2009;27(8):1887–98.
63. Lu C, Miclau T, Hu D, Hansen E, Tsui K, Puttlitz C, et al. Cellular basis for age-related changes in fracture repair. *J Orthop Res*. 2005; 23:1300–1307.

64. Naik AA, Xie C, Zuscik MJ, Kingsley P, Schwarz EM, Awad H, et al. Reduced COX-2 expression in aged mice is associated with impaired fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2009; 24:251–264.
65. British Orthopaedic Association and British Association of Plastic Surgeons. *The Early Management of Severe Tibial Fractures: The Need for Combined Plastic and Orthopaedic Management: A Report by the BOA/BAPS Working Party on Severe Tibial Injuries*, 1993; London.
66. Lu WH, Kolkman K, Seger M, et al. An evaluation of trauma team response in a major trauma hospital in 100 patients with predominantly minor injuries. *The Aust N Z J Surg.* 2000; 70:329–332.
67. Pape HC, Tornetta P 3rd, Tarkin I, et al. Timing of fracture fixation in multitrauma patients: The role of early total care and damage control surgery. *J Am Acad Orthop Surg.* 2009; 17:541–549.
68. Valenziano CP, Chattar-Cora D, O'Neill A, et al. Efficacy of primary wound cultures in long bone open extremity fractures: Are they of any value? *Arch Orthop Trauma Surg.* 2002; 122:259–261).
69. Crowley DJ, Kanakaris NK, Giannoudis PV. Irrigation of the wounds in open fractures. *J Bone Joint Surg Br.* 2007; 89:580–585.
70. Di Pasquale DJ, Bhandari M, Tov A, et al. The effect of high and low pressure pulsatile lavage on soft tissue and cortical blood flow: a canine segmental humerus fracture model. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2007; 127:879–884.
71. Draeger RW, Dahners LE. Traumatic wound debridement: A comparison of irrigation methods. *J Orthop Trauma.* 2006; 20:83–88.
72. Klein MB, Hunter S, Heimbach DM, et al. The Versajet water dissector: A new tool for tangential excision. *J Burn Care Rehabil.* 2005; 26:483–487.
73. Lee EW, Dirschl DR, Duff G, et al. High-pressure pulsatile lavage irrigation of fresh intraarticular fractures: Effectiveness at removing particulate matter from bone. *J Orthop Trauma.* 2002; 16:162–165.
74. Mosti G, Iabichella ML, Picerni P, et al. The debridement of hard to heal leg ulcers by means of a new device based on Fluidjet technology. *Int Wound J.* 2005; 2:307–314.

75. Rennekampff HO, Schaller HE, Wissler D, et al. Debridement of burn wounds with a water jet surgical tool. *Burns*. 2006; 32:64–69.
76. 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
77. 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
78. Manigraso MB, O'Connor JP. Characterization of a closed femur fracture model in mice. *J Orthop Trauma*. 2004; 18(10): 697-95.
79. Gilsanz V, Roe TF, Gibbens DT, et al. Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. *Am J Physiol*. 1988;255(4 Pt 1): E416-21.
80. Wang X, Mabrey JD, Agrawal CM. An interspecies comparison of bone fracture properties. *Biomed Mater Eng*. 1998; 8:1-9.
81. Park SH, O'Connor K, Sung R, et al. Comparison of healing process in open osteotomy model and closed fracture model. *J Orthop Trauma*. 1999;13(2):114-20
82. Aurégan JC, Coyle RM, Danoff JR, Burky RE, Akelina Y, Rosenwasser MP. The rat model of femur fracture for bone and mineral research: An improved description of expected comminution, quantity of soft callus and incidence of complications. *Bone Joint Res* 2013; 2(8):149-54.
83. Greiff J. A method for the production of an undisplaced reproducible tibial fracture in the rat. *Injury* 1978;9(4):278-81).
84. Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res*. 1984;2(1):97-101
85. Johnson KD, August A, Sciadini MF, et al. Evaluation of ground cortical autograft as a bone graft material in a new canine bilateral segmental long bone defect model. *J Orthop Trauma*. 1996;10(1):28-36.
86. Jazrawi LM, Majezka RJ, Klein ML, et al. Bone and cartilage formation in an experimental model of distraction osteogenesis. *J Orthop Trauma*. 1998; 12(2):111-6).
87. Husodo K, Kamal AF, Yusuf AA. Effect of povidone iodine and hydrogen peroxide on fracture healing: a histomorphometric study on rats. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2016; 24(2): 245-249.)

88. Allen MR, Burr DB. Techniques in histomorphometry. In: Burr DB, Allen MR: Basic and Applied Bone Biology. Academic Press, London. 2013:131-42.
89. Diamond TH, Clark WA, Kumar SV. Histomorphometric analysis of fracture healing cascade in acute osteoporotic vertebral body fractures. *Bone*. 2007;40(3): 775-780
90. Lindsey RW, Gugala Z, Milne E, et al. The efficacy of cylindrical titanium mesh cage for the reconstruction of a critical size canine segmental femoral diaphyseal defect. *J Orthop Res*. 2006;24(7):1438-53.
91. Ozcelik D, Hüthüt I, Kuran I, et al. Comparison of accuracy of three dimensional spiral computed tomography, standard radiography, and direct measurements in evaluating facial fracture healing in a rat model. *Ann Plast Surg*. 2004;53(5):473-80.
92. Prodingler PM, Foehr P, Bürklein D, Bissinger O, Pilge H, Kreutzer K, et al. Whole bone testing in small animals: systematic characterization of the mechanical properties of different rodent bones available for rat fracture models. *Eur J Med Res*. 2018 Feb 14;23(1):8.)
93. Gerstenfeld LC, Wronski TJ, Hollinger JO, et al. Application of histomorphometric methods to the study of bone repair. *J Bone Miner Res*. 2005;20(10):1715-22.
94. 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.)
95. Alhijazi AY, Neamah AD. Expression of VEGF and BMP7 in bone healing after topical systemic fluoride application (experimental study in rats.) *Int Res J Nat Sci*. 2014;2(1):52-68.
96. De Amorim FP, Ornelas SS, Diniz SF, et al. Imbalance of RANK, RANKL and OPG expression during tibial fracture repair in diabetic rats. *J Mol Histol*. 2008;39(4):401-08.
97. Siwicka KA, Kitoh H, Kawasumi M, et al. Spatial and temporal distribution of growth factor receptors in the callus: implications for improvement of distraction osteogenesis. *Nagoya J Med Sci*. 2011; 73:117-27)
98. Haque T, Mandu-Hrit M, Rauch F, et al. Immunohistochemical localization of bone morphogenic protein-signaling Smads during long bone distraction osteogenesis. *J Histochem Cytochem* 2006;54(4):407-15.
99. Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, et al. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem*. 2003 Apr 1;88(5):873-84.

100. McCarty KS, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS: Estrogen receptor analyses. correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 1985, 109:716–721.
101. Koyonos L, Zmistowski B, Della-Valle CJ, Parvizi J. Infection control rate of irrigation and debridement of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469:3043-8.
102. Edmiston CE, Bruden B, Rucinski MC, Henen C, Graham MB, Lewis BL. Reducing the risk of surgical site infections: does chlorhexidine gluconate provide a risk reduction benefit? *Am J Infect Control* 2013; 41:549-55.
103. Gustumhaugen E, Loënn-Stensrud J, Scheie AA, Lyngstadaas SP, Ekfeldt A, Taxt-Lamolle S. Effect of chemical and mechanical debridement techniques on bacterial re-growth on rough titanium surfaces: an in vitro study. *Clin Oral Implants Res* 2014; 25:707e13.
104. Ruder JA, Springer BD. Treatment of periprosthetic joint infection using antimicrobials: Dilute povidone-iodine lavage. *J Bone and Joint Infect*, 2017; 2(1):10-14.)
105. van Meurs SJ, Gawlitta D, Heemstra KA, Poolman RW, Vogely HC, Kruyt MC. Selection of an optimal antiseptic solution for intraoperative irrigation: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(4):285-291.
106. Russell AD. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. *J Appl Microbiol*. 2002;92 Suppl:121S-135S.
107. Jamsen E, Huhtala H, Puolakka T, et al. Risk factors for infection after knee arthroplasty. A register-based analysis of 43,149 cases. *J Bone Joint Surg Am* 2009; 91:38.
108. Cooper RA. Iodine revisited. *Int Wound J* 2007; 4:124–37.
109. Lim K-S, Kam PCA (2008) Chlorhexidine—pharmacology and clinical applications. *Anaesth Intensive Care* 36:502–512
110. Lineaweaver W, McMorris S, Soucy D, Howard R. Cellular and bacterial toxicities of topical antimicrobials. *Plast Reconstr Surg* 1985; 75:394–6.
111. Docherty JG, McGregor JR, Purdie CA, Galloway DJ, O’Dwyer PJ. Efficacy of tumoricidal agents in vitro and in vivo. *Br J Surg* 1995; 82:1050–2.

112. Jiang Y, Chen L, Zhang S, Tong T, Zhang W, Liu W, Xu G, Tuan RS, Heng BC, Crawford R, et al: Incorporation of bioactive polyvinylpyrrolidone-iodine within bilayered collagen scaffolds enhances the differentiation and subchondral osteogenesis of mesenchymal stem cells. *Acta Biomater* 9: 8089-8098, 2013.
113. Ramchandani D and Weber GF: Interactions between osteo- pontin and vascular endothelial growth factor: Implications for skeletal disorder *Bone*. 81:7-15,2015.
114. Cheng MT, Chang MC. Efficacy of dilute betadine solution irrigation in the prevention of postoperative infection of spinal surgery. 2005; 30(15):1689-93.
115. Schreml S, Landthaler M, Schaferling M, Babilas P. A new star on the H₂O₂ rizon of wound healing? *Exp Dermatol* 2011; 20:229–31.
116. Toth T, Brostrom H, Baverud V, Emanuelson U, Bagge E, Karlsson T, et al. Evaluation of LHP (1% hydrogen peroxide) cream versus petrolatum and untreated controls in open wounds in healthy horses: a randomized, blinded control study. *Acta Vet Scand* 2011; 53:45.
117. Loo AE, Wong YT, Ho R, Wasser M, Du T, Ng WT, et al. Effects of hydrogen peroxide on wound healing in mice in relation to oxidative damage. *PLoS One* 2012;7: e49215.
118. Cho M, Hunt TK, Hussain MZ. Hydrogen peroxide stimulates macrophage vascular endothelial growth factor release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:H2357–63.
119. Röhner E., Kolar P, et al. Toxicity of antiseptics against chondrocytes: What is the best fort he cartilage in septic joint surgery? 2011; 35:1719-23.
120. Best AJ, Nixon MF, Taylor GJS (2007) Brief exposure of 0.05% chlorhexidine does not impair non-osteoarthritic human cartilage metabolism. *J Hosp Infect* 67:67–71.
121. Bellen P (1987) Chondrolysis caused by chlorhexidine. *Acta Orthop Belg* 53:112–113.
122. Vörös P., Dobrint O., Perka C. Human osteoblast damage after antiseptic treatment. *J. Int. Orthop*. 2013.
123. Pean- Barwell J.G., Murray C.K., et al. Comparison of the antimicrobial effect of chlorhexidine and saline for irrigating a contaminated open fracture model. *J Orthop Trauma*. 2012; 26: 728-32.
124. Liu JX, Werner J, et al. Cytotoxicity evaluation of chlorhexidine gluconate on human fibroblasts, myoblasts and osteoblasts. *J Bone Joint Infect*. 2018; 3(4): 165-172.

125. Shiels SM, Bouchard M, et al. Chlorhexidine releasing implant coating on intramedullary nail reduces infection in a rat model. 2018; 35: 178-194.
126. Zywiell MG, Daley JA, Delanois RE, Naziri Q, Johnson AJ, Mont MA. Advance pre- operative chlorhexidine reduces the incidence of surgical site infections in knee arthroplasty. *Int Orthop* 2011; 35:1001-6.
127. Darouiche RO, Wall MJ, et al. Chlorhexidine-alcohol versus povidone iodine for surgical site antisepsis. *N Engl J Med* 2010; 362:18-26.
128. Molina ME, Nonweiller DE. Contaminated anterior cruciate ligament grafts: The efficacy of 3 sterilization agents. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, Vol 16, No 4 (May-June), 2000: pp 373–378
129. Salami, A. A.; Imosemi, I. O. & Owoeyoe, O. O. A comparison of the effect of chlorhexidine, tap water and normal saline on healing wounds. *Int. J. Morphol.*, 24(4):673-676, 2006.
130. Chlebicki MP, et al. Preoperative chlorhexidine shower or bath for prevention of surgical site infection: A meta-analysis. *American Journal of Infection Control* 41 (2013) 167-73)

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Hakan Özbay

Doğum yeri ve tarihi: Şahinbey- 14.10.1988

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: SBÜ Bağcılar Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi,

Merkez Mh. Dr. Sadık Ahmet Cd. No:6 34100 Bağcılar/İstanbul Tlf: 05071271696

E- mail: zbyhakan@gmail.com

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

2014 – Halen çalışmakta: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar SUAM Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği

2006-2013: İstanbul Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi (İngilizce)

2002-2006: Gaziantep Özel Sanko Okulları

1998-2001: Gaziantep Gazi Ortaokulu

1993- 1998: Gaziantep Hatice Büyükbeşe İlköğretim Okulu

III- Ünvanları

2013-2014: Pratisyen Hekim (Ceylanpınar, Şanlıurfa, Türkiye)

2014 – Halen çalışmakta: Araştırma Görevlisi – Asistan Doktor

IV- Yurt dışı eğitimsel aktiviteler

University of Pittsburgh Orthopedic Surgery Department- Sports Medicine Clinic-

Dr. Freddie Fu-Clinical Fellowship (26 Ağustos-16 Ekim 2018)

V- Bilimsel İlgi Alanları

Bilimsel yazılar:

1. Çocuk femur boyun kırıklarına yaklaşım. Eren A., Abay B., **Ozbay H.** Kaya Ozcan, Adanır O. J Orthop & Traumatol-Special Topics 2016;9(2):37-42

2. Complication Rates and Results of Higher Weight for Age Patient in Pediatric Femoral Shaft Fractures Treated with Titanium Elastic Nailing. Yuksel S., **Ozbay H.** Eur Arch Med Res 2018; 34 (4): X

Sözlü Bildiriler:

1. Düşük molekül ağırlıklı heparin ile rivoroksaban kullanımının rat aşıl tendonunun iyileşmesi üzerine etkilerinin histopatolojik ve biyomekanik açıdan karşılaştırılması. Eren Y., Adanır O, Genç E., Atçı T., **Özbay H.**, Daşçı M.F. 26. Ulusal Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi, 2016.

2. Çocuk humerus shaft kırıklarında konservatif tedavi sonuçlarımız. Atçı T., **Özbay H.**, Adanır O., Yüksel S., Çağlar S., Totder 6. Ortopedi ve Travmatoloji İstanbul Buluşması, 2016.

3. Çocuk femur boyun kırıklarında cerrahi tedavi sonuçlarımız. **Özbay H.**, Atçı T., Adanır O., Dinçel Y.M., Çağlar S., Abay B., Güleç M.A. Totder 6. Ortopedi ve Travmatoloji İstanbul Buluşması, 2016.

4. Titanyum elastik çivileme ile tedavi edilmiş pediatrik femur shaft kırıklarında vücut ağırlık persentili yüksek hastalardaki komplikasyon oranlarımız ve tedavi sonuçlarımız. **Özbay H.**, Yüksel S., Daşçı M.F., Atçı T. İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Buluşması, 2017.

5. Pediatrik suprakondiler humerus kırığı insidansının mevsimsel dağılımı. **Ozbay H.**, Adanır O. 2. Ulusal Çocuk Ortopedisi Kongresi, 2018.

6. Adolesan İnstabil Önkol Cisim Kırıklarında Plak-Vida Osteosentez ve İntrameduller Çivilemenin Klinik Sonuçları Karşılaştırması. Genç E., Camurcu İ.Y., Eren E., **Ozbay H.**, Acar A. Kemik Eklem Kongresi, 2017.

7. Is psychiatric consultation for attention deficiency hyperactivity disorder needed at pediatric supracondylar fractures? Genc E., Genc H., Bulut G.C., Cetinkaya M. **Ozbay H.** 20th Asia Pacific Orthopaedic Association Congress

8. Bimalleoler kırık sonrası oluşan büllöz lezyonlarda gümüş sülfadiazin ve rifampisin tedavi sonuçlarının karşılaştırılması. Genç E. **Özbay H.** 7. Ortopedi ve Travmatoloji Buluşması, İstanbul, 2018

Poster bildiriler:

1. Pedyatrik posttravmatik tibia valga deformitesi: Klinik ve radyografik sonuçlarımız. **Hakan Özbay**, Oktay Adanır. 2. Ulusal çocuk ortopedisi kongresi, 2018.

2. Erken ve orta adolesan grubu hastalarda önkol diyafiz kırıklarında konservatif tedavi sonuçlarımız. **Hakan Özbay**, Serdar Yüksel. 2. Ulusal çocuk ortopedisi kongresi, 2018.

3. Lateral malleol epiphyseal fracture by posterior inferior tibiofibular and inferior transverse ligament avulsion fracture: A rare case report. **Hakan Özbay**, Sever Çağlar, Serdar Yüksel, Tolgahan Atci, Abdurrahman Acar. Osteosynthese International, 2017.

4. 6-12 yaş grubu pediyatrik femur diyafiz kırığı olan hastalarda titanyum elastik çivileme sonuçlarımız. Oktay Adanır, **Hakan Özbay**. 2. Ulusal çocuk ortopedisi kongresi, 2018.

5. An Uncommon Injury At Emergency Department: Pediatric Elbow Dislocation. Tolgahan Atci , Fatih Comez , **Hakan Özbay** , Cihan Ergun , Hatice Topcu , Murat Carus. The 2nd Intercontinental Emergency Medicine Congress , 2015

6. An Unexpected and Rare Injury in The Emergency Department: Bilateral Radial Head Fracture. Tolgahan Atci , Fatih Comez , Cihan Ergun , **Hakan Özbay** , Hatice Topcu , Murat Carus. The 2nd Intercontinental Emergency Medicine Congress , 2015

7. Femur boyun kırıklarında üç adet kanüllü vida ile osteosentez sonuçlarımız. Yaşar Mahsut Dinçel, **Hakan Özbay**, Abdurrahman Acar, Erdinç Genç, Yılmaz Eren, Erdal Eren. 2015, 5. İstanbul Ortopedi ve Travmatoloji Buluşması

8. Bimalleoler kırık sonrasında oluşan travmatik büllöz lezyonların tedavisinde iki farklı yara kapama metodunun karşılaştırılması. **Hakan Özbay**, Erdinç Genç, Mehmet Çetinkaya. 2017, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Buluşması.
9. Fibula başı avulsiyon kırığı ve eşlik eden peroneal sinir yaralanması: Nadir bir olgu sunumu. Tolgahan Atcı, M Fatih Dascı, **Hakan Özbay**, Ender Alagöz. 2016, 13. Türkiye Spor Yaralanmaları ve Artroskopi Derneği Kongresi – İstanbul.
10. Proksimal interfalangeal eklemin irredüktabl açık plantare çıkığı ve eş zamanlı komşu parmak proksimal interfalangeal ekleminde görülen kapalı plantare çıkık: Nadir bir ayak travması olgu sunumu. M Fatih Dascı, Tolgahan Atcı, **Hakan Özbay**, Ender Alagoz
11. Trans-radial stiloid, trans-skafoid perilunat kırıklı çıkığı ve kontralateral eşzamanlı radial stiloid-skafoid kırığı: Nadir bir olgu sunumu. Tolgahan Atcı, Serdar Yüksel, **Hakan Özbay**, Oktay Adanır. 2016, Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği 6. İstanbul Buluşması- İstanbul.
12. Guillian Barre Sendromu sonrası görülen pediatrik kalça heterotopik ossifikasyonunun cerrahi tedavi ve rehabilitasyonu: Olgu sunumu. Tolgahan Atcı, **Hakan Özbay**, Sever Çağlar, Oktay Adanır, M A Güleç. 2016, Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği 6. İstanbul Buluşması- İstanbul
13. Kirner Deformitesi: Çok nadir bir olgu sunumu. Tolgahan Atcı, Cem Albay, Ozan Beytemur, Serdar Yüksel, **Hakan Özbay**. 2015, 25. Türk Ulusal Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi – Antalya.
14. Dördüncü parmak proksimal interfalangeal eklemin travmatik rotatuar volar çıkığı: Nadir bir olgu sunumu. Tolgahan Atcı, Cem Albay, Serdar Yüksel, Ozan Beytemur, **Hakan Özbay**. 2015, 25. Türk Ulusal Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi – Antalya.
15. Bilateral eşzamanlı öne omuz çıkığı ve ertesi gün bilateral rekürrensi: Çok nadir bir olgu sunumu. Tolgahan Atcı, Cem Albay, Serdar Yüksel, Ozan Beytemur, **Hakan Özbay**. 2015, 25. Türk Ulusal Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi- Antalya

16. Travmatik dirsek heterotopik ossifikasyonunun cerrahi tedavi ve rehabilitasyonu: Olgu sunumu. Tolgahan Atıcı, Sever Çağlar, Oktay Adanır, **Hakan Özbay**, M A Güleç. 2015, Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği 5. İstanbul Buluşması.


VII- Bilimsel Etkinlikleri

Katıldığı Kurslar:

- 1.AO Travma kırık tedavisinin temel prensipleri, Haziran 2016, Ankara, Türkiye
- 2.Intercontinental 3D Surgery Course, 2017, İstanbul, Türkiye
- 3.Temel Bilimler Araştırma Okulu, 2016, Denizli, Türkiye
4. 2.Spor travmatolojisinde diz ileri cerrahi teknikleri eğitim buluşması, 2017, İzmir, Türkiye.
5. Osteosynthese International 2017, Munich, Germany
6. Diz ve omuz temel artroskopi kursu, 2016, İstanbul, Türkiye.
7. TOTBİD-TOAK 4.Deneysel araştırma eğitim kursu, 2017, İzmir, Türkiye
8. İstanbul TUSYAD Kursu, 2018, İstanbul,Türkiye

EKLER

EK 1. Etik kurul onay formu



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
İstanbul Başıoğlu Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 2018/27
Konu : HADYEK/2018-11 nolu Proje
75. Kurul toplantısı

Tarih : 01.03.2018

Prof. Dr. M. Akif GÜLEÇ
B.E.H. Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği

Yürütücüsü olduğunuz "Kırık iyileşmesinde farklı antiseptik irrigasyon solüsyonlarının rat modelinde histomorfometrik ve biyomekanik açıdan incelenmesi" isimli projeniz ile ilgili Hastanemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunca istenilen düzeltmelere istinaden vermiş olduğunuz 2018-14 sayılı dilekçeniz incelendi. Alınan karar gereğince projenizin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Ayşin SELÇUK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Sayfa 1



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
İstanbul Başıncılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

2018-11 NOLU PROJENİN 01.03.2018 TARİHLİ VE 75. KURUL TOPLANTI KARARI

Prof. Dr. Aygün SELCAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. M. Ali GÜLEÇ
Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği
(Proje Görüşülürken Katılmadı.)

Prof. Dr. Nergiz Faruk OKTAY
Kulak Burun Boğaz Kliniği

Prof. Dr. Feyza ARAGÖZ GÜZEY
Nöroşirürji Kliniği

Doç. Dr. Berk ÖZKAYNAK
Kardiyovasküler Cerrahi Kliniği

Uzm. Dr. Osman Bilgin GÖLÇEK
Genel Cerrahi Kliniği

Duygu Sultan ORAN
Veteriner Hekim

Kadir TEÇELİ
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Ayşe AY
Sivil Bir Üye

EK 2. Tıpta Uzmanlık Eğitim Komisyonu Proje Bütçe Onay Formu


SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL VALİLİĞİ
İSTANBUL İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi
TIPTA UZMANLIK EĞİTİM KOMİSYONU (TUEK)
TOPLANTI GÜNDEMİ VE KARARLARI

Toplantı Tarihi : 21/03/2018
Toplantı No : 2018/2
Başkanı Adı ve Soyadı : Prof. Dr. Ahmet Y. MÜSLÜMANOĞLU
Üyelerin Adı ve Soyadı : Prof. Dr. Erdal KAYA - Prof. Dr. Feyza KARAGÖZ GÜZEY - Prof. Dr. Mehmet Faruk OKTAY - Doç. Dr. Atilla ÇELİK - Doç. Dr. Ertuğrul OKUYAN - Doç. Dr. Numan GÖRGÜLÜ

KARAR METNİ

MADDE-38: Araştırma Giderlerinin Döner Sermayeden Karşlanması
Hastanemiz Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği Eğitim Sorumlusu Prof. Dr. MAKİF GÜLEÇ, sorumluluğunda yürütülecek olan "Kırık iyileşmesinde farklı antiseptik irrigasyon solüsyonlarının rat modelinde histomorfometrik ve biyomekanik açıdan incelenmesi" başlıklı projenin hastanemiz Döner Sermaye Bütçesinin Araştırma Geliştirme Giderleri Hesabından karşılanması hususundaki dilekçesi görüşülmüş ve talebin uygun görülmesine karar verilmiştir.

Ünvanı Adı Soyadı	Karar	İmza
Prof. Dr. Ahmet Yaser MÜSLÜMANOĞLU Hastane Yöneticisi (Başkan)	ONAY	
Prof. Dr. Erdal KAYA Eğitim Koordinatörü (Başkan Yardımcısı)	ONAY	
Prof. Dr. Feyza KARAGÖZ GÜZEY (Üye)	ONAY	
Prof. Dr. Mehmet Faruk OKTAY (Üye)	ONAY	
Doç. Dr. Atilla ÇELİK (Üye)	ONAY	
Doç. Dr. Ertuğrul OKUYAN (Üye)	ONAY	Görülendirne
Doç. Dr. Numan GÖRGÜLÜ (Üye)	ONAY	Görülendirne


Prof. Dr. Ahmet Y. MÜSLÜMANOĞLU
Başkan