



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HİPOTERMİ VE WARFARIN UYGULANAN ŞİDDETLİ FEMORAL ARTER  
KANAMALI SIÇAN MODELİNDE CHITOSAN LİNEAR POLYMER (CELOX®)' İN  
HEMOSTATİK ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Özlem KÖKSAL**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2009**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

HİPOTERMİ VE WARFARIN UYGULANAN ŞİDDETLİ FEMORAL ARTER  
KANAMALI SIÇAN MODELİNDE CHİTOSAN LİNEAR POLYMER (CELOX®)' İN  
HEMOSTATİK ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Özlem KÖKSAL

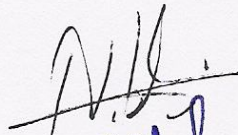
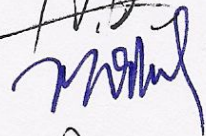


(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Naciye İşbil BÜYÜKCOŞKUN

Bursa-2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne.

Bu tez, jürimiz tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Adı ve Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Naciye İşbil BÜYÜKCOŞKUN	
Üye	Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK	
Üye	Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN	
Üye	Prof. Dr. Güldal GÜLEÇ	
Üye	Doç. Dr. Erol ARMAĞAN	

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih, .....  
sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gürsel Sönmez  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ ve YÖNTEM.....	10
BULGULAR.....	14
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	25
KAYNAKLAR.....	31
TEŞEKKÜR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	37

## ÖZET

Bu çalışmada şiddetli femoral arter kanamalı sıçan modelinde hem hipotermik koşullarda hem de warfarin tedavisi altındaki sıçanlarda, bir hemostatik ajan olan Celox®'un hemostatik etkinliğinin araştırılması, ayrıca Celox®'un hemostatik etkinliğinde trombositlerin rolünün ortaya çıkarılması amaçlandı.

Deneilerde 200-350 gram ağırlığında 68 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. İlk grupta normotermi + bası, 2. grupta normotermi + Celox®, 3. grupta hipotermi + bası, 4. grupta hipotermi + Celox®, 5. grupta normotermi + warfarin + bası, 6. grupta normotermi + warfarin + Celox® uygulandı. Ayrıca sadece bası ve Celox® uygulanan iki grupta kanatma öncesi ve sonrası alınan kanlarda ADP ile uyarılan trombosit agregasyonları değerlendirildi.

Celox® tüm gruplarda kanama kontrolünü tam olarak (8/8) sağladı ve bası sayısı açısından değerlendirildiğinde; normotermide 7/8, hipotermide 4/8 ve warfarin tedavisinde ise 6/8 sıçanda 1. basıda kanama durdu. Celox uygulanan bu grupların, sadece bası uygulanan grupta elde edilen sonuçlarla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (sırasıyla;  $p=0.001$ ,  $0.002$  ve  $0.000$ ). Sadece bası uygulanan 3 grupta hemostaz süresi ort.  $90\pm 00$  sn iken, Celox® bu süreyi azaltarak, normotermide ort.  $33.8\pm 10.6$  sn, hipotermide ort.  $48.8\pm 22.3$  sn ve warfarin tedavisinde ort.  $37.5\pm 13.9$  sn 'ye indirdi (sırasıyla  $p= 0.004$ ,  $0.005$  ve  $0.044$ ). Trombosit % maksimum amplitüd değeri, kanatma sonrasında bası grubunda %17.3 artarken Celox® grubunda %0.5 azaldı.

Sonuç olarak; bu çalışmada kullanılan Celox®, sadece normotermide değil aynı zamanda hipotermide ve bir oral antikoagulan ajan olan warfarin kullanımında da etkili kanama kontrolü sağlamakta ve belirgin olarak hemostaz süresini kısaltmaktadır. Bulgularımıza göre Celox®'un kanama kontrolündeki etkinliğinde trombosit agregasyonunun rolü olmadığı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Celox®, Kanama kontrolü, Hipotermi, Warfarin.

## SUMMARY

### **“Investigation Of The Hemostatic Effectiveness Of Linear Polymer Chitosan (Celox®) On An Experimental Model Of Warfarin And Hypothermia Applied Rat With Severe Femoral Artery Bleeding”**

In this study, the hemostatic effectiveness of Celox® as a hemostatic agent on rats for both under hypothermia and warfarin treatment and the role of platelets on hemostatic effect of Celox® were investigated.

Totally 68 Sprague-Dawley female rats weighted 200-350 g were used for the study. Six experimental study groups constituted as; 1.group: normothermia+compression, 2.group:normothermia+Celox®,3.group:hypothermia+compression, 4.group: hypothermia+Celox®, 5.group: normothermia+warfarin+compression and 6.group: normothermia+warfarin+Celox®. Platelet aggregation stimulated by ADP was evaluated at blood samples of compression and Celox® groups before and after bleeding.

Celox® has provided effective hemorrhage control in all 3 groups. At first compression, hemorrhage at 7 of 8 rats at normothermia group, 4 of 8 rats at hypothermia group and 6 of 8 rats at warfarin group was stopped. There were statistically significant differences between groups for only compression and Celox® ( $p=0.001$ ,  $0.002$  and  $0.000$  respectively). The mean homeostasis time at the groups that compression applied only was  $90\pm 0.0$  sec, while this time was reduced at the groups on which Celox® was applied. Homeostasis time was  $33.8\pm 10.6$  sec at normothermia group,  $48.8\pm 22.3$  sec for hypothermia group and  $37.5\pm 13.9$  sec for warfarin group ( $p= 0.004$ ,  $0.005$  and  $0.044$  respectively). Platelet maximum amplitude value increased 17.3% at compression groups and decreased 0.5% at Celox® groups.

In conclusion, Celox® provides effective hemorrhage control at normothermia and also at hypothermia and an oral anticoagulant agent warfarin use and shortens hemostasis time significantly. According to our findings platelet aggregation has no role at bleeding control of Celox®.

**Key Words:** Celox®, Bleeding control, Hypothermia, Warfarin.

## GİRİŞ

Travma sonrası kontrol edilemeyen kanamalar, askeri personel ölümleri arasında birinci sırada yer alırken, sivil ölümlerinin ikinci önemli nedenidir (1). Kontrolsüz kanamalar sadece mortalite değil, morbidite gelişiminde de önemli rol alırlar (2). Bu bakımdan mortalite ve morbiditeyi azaltacak en etkin yöntemler ile hızlı ve acil müdahale sağlanmalıdır. Daha iyi ve başarılı hemostaz yöntemleri ile uzun dönemde kan kaybı azalacak ve hayatta kalma oranı artacaktır. Böylece, daha etkin kanama kontrol stratejileriyle ölümlerin üçte birinin önlenileceği tahmin edilmektedir (2). Bu amaçla, özellikle son yıllarda çok sayıda hemostatik ajan üretilmiş ve travmatik kanamalarda kullanılacak bu hemostatik ürünlerin gelişiminde önemli ilerlemeler olmuştur (2-7). Bu ajanlar hastane öncesinde kanama kontrolünde halen kullanılmakta olan bası yöntemi ya da ekstremitelere uygulanan turnikelere alternatif olmuşturlardır. Direkt bası uygulama ve standart gazlı bez uygulaması kanamanın kontrolünde sıklıkla yetersiz kalmaktadır (8). Lokal hemostatik ajanların çıkış noktası da burasıdır ve etkinliklerinin değerlendirilmesi gerekir. Ancak klinik çalışmalarla hemostatik ajanların karşılaştırmalı değerlendirmesi oldukça zordur ve bu yüzden deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur (9). Literatürde değişik lokal hemostatik ajanların birbirine üstünlüğünü karşılaştıran çeşitli çalışmalar olmakla birlikte sonuçlar tartışmalıdır (2,4-7,9). Kasık yaralanması oluşturulan domuzlarda ChitoFlex®, QuikClot®, Celox® ve standart bası uygulaması karşılaştırılmış, bu üç ajanın da kanama kontrolünde standart basıya göre üstün olmadığı ileri sürülmüştür (10). QuikClot® isimli ajanın diğer hemostatik ajanlardan daha etkin olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır (11, 12). Ancak söz konusu lokal hemostatik ajan olan QuikClot® egzotermik bir reaksiyona bağlı olarak, kullanımı sırasında uygulanan bölgede ısı artışı yapmakta ve minimal doku yaralanmasına yol açmaktadır (4). Domuzlarda yapılan diğer bir araştırmada kontrolsüz kanama oluşturularak, Celox®, HemCon® ve Quikclot® hem tekrar kanama oluşması bakımından hem de hayatta kalma açısından karşılaştırılmıştır (13). Bu çalışmada Celox®' un tekrar kanama oranını % 0' a indirerek diğerlerine göre daha etkili olduğu, ayrıca hayatta kalma oranını daha fazla artırdığı gözlenmiştir. Böylece Celox®'un kanamayı kontrol altına almakta en az diğer ürünler kadar etkili olduğu ve ölümcül kanamalı bir femoral damar yaralanmasında hayatta kalma oranını standartların üzerine çıkardığı kabul edilmektedir. Hemostatik ajanların dokudaki etkileri histolojik olarak incelenmiş ve doku hasarının en az HemCon®' da ve en çok Super Quick Relief® (SQR)' de olduğu, Celox® ile oluşan doku hasarının ise orta derecede olduğu belirtilmiştir (14). Aynı çalışmada farklı hemostatik ajanlarla tedavi sonrası alınan kan

örneklerinde tromboelastografik analiz yapılmış; WoundStat® (WS) ve SQR® ile başlangıç reaksiyon zamanı kısalıp, pıhtı oluşum hızı artarken, bunun aksine Advanced Clotting Sponge® (ACS) ile tedavi sonrası pıhtılaşma fonksiyonunda ve pıhtı oluşum hızında azalma olduğu gösterilmiştir. Ancak yine aynı çalışmada, Celox® ve HemCon® ile tedavinin pıhtılaşma parametrelerine etkisinin olmadığını, ayrıca kitosan içeren ajanların dokuya yapışarak asıl hemostatik fonksiyonlarını gösterdiklerini ileri sürülmüştür (14).

Lokal hemostatik ajanların etkinliği konusunda yapılan araştırmaların çoğu normotermik şartlarda yapılmış olan çalışmalardır. Oysa travma hastalarında sık karşılaşılan bir sorun olan hipotermi artmış kontrolsüz kanama ve mortalite riski ile ilişkilidir (15-20). Ancak bazı çalışmalarda, kanamada kontrollü hipoterminin sağ kalımı artıracığı ileri sürülmüştür (21-23). Bu açıdan, hipotermik koşullarda da lokal hemostatik ajanların etkinliğinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Günümüzde trombotik hastalıkların tedavisinde sık kullanılan antikoagülan ilaçlar başlıca; standart heparin, düşük molekül ağırlıklı heparin, pentasakkarit ve warfarin olarak sınıflandırılırlar. Bu tür tedavi altındaki hastalarda olası travmalar sonucu lokal hemostatik ajanların etkinliğini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bir antikoagülan ajan olan ve parenteral olarak kullanılan heparin tedavisi altında, değişik lokal hemostatik ajanların etkinliği değerlendirilmiştir (24-26). Klokkevold ve ark (25), heparinize tavşan modelinde kitosan'ın etkinliğini gösterirken; Tuthill ve ark (24) ise, sol heminefrektomili heparinize sıçanlarda değişik topikal ajanların hemostatik etkinliğini araştırmışlar ve fibrin sealant isimli ajanın belirgin olarak kan kaybını azalttığını göstermişlerdir. Schwaitzberg ve ark (26) ise, hemofilik köpeklerde ve heparinize domuzlarda konjenital ya da edinsel koagülopatik hastalıkların varlığında bile poli-N-asetilglukozamin içeren lokal hemostatik ajanların etkili kanama kontrolü sağladığını göstermişlerdir. Ancak koagülopatik hastalıkların tedavisinde sık kullanılan bir antikoagülan olan warfarin'in herhangi bir lokal hemostatik ajanın etkinliğini değiştirip değiştirmeyeceği araştırılmamıştır.

Çalışmamızda öncelikli olarak, "kitosan" içeren bir lokal hemostatik ajan olan ve FDA (Food and Drug Administration) tarafından sadece eksternal kullanım için onay almış olan "Celox®" un, şiddetli femoral arter kanamalı sıçan modelinde hem hipotermik koşullarda hem de warfarin tedavisi altındaki sıçanlarda hemostatik etkinliğini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızın ikincil amacı ise; halen kesinlik kazanmamış bir konu olan, Celox®' un hemostatik etkinliğinde trombositlerin rolü olup olmadığını araştırmaktır.



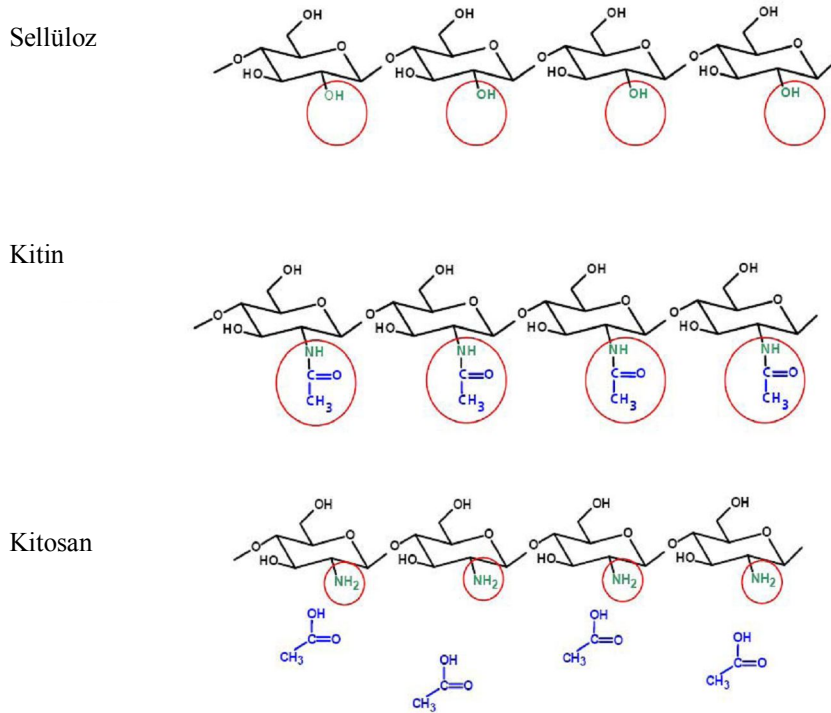
## GENEL BİLGİLER

Son dönemlerde lokal olarak uygulanan bazı hemostatik ajanların travma sonrası ölümlerin önemli bir nedeni olan kanamaları durdurarak ölümleri dramatik bir şekilde azalttığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (3, 6, 8). Ancak hangi ajan ya da ajanların en iyi kanama kontrolü sağladığı konusu halen tartışmalıdır. Kitosan, yeni jenerasyon bir lokal hemostatik ajandır ve etkinliği halen araştırma aşamasındadır (27).

Hastane öncesinde kullanılan ideal hemostatik bir ajan şu özellikleri taşımalıdır; yaraya uygulandıktan sonra dakikalar içinde geniş arteriel ve venöz kanamaları durdurmalı, aktif kanama alanına uygulansa bile iyi sonuç sağlamalı, kullanıma hazır olmalı, kullanımı basit olmalı, dayanıklı ve hafif olmalı, oda ısısında ve aşırı ısı değişikliklerine karşı en az iki yıl dayanmalı, yaralı dokuya uygulandığında kullanımı güvenilir olmalı ve pahalı olmamalıdır (28). “Chitosan Lineer Polymer, Microporous Hemosphere, HemCon Bandage, Rapid Deployment Hemostat, QuickClot, American Red Cross Fibrin Dressing, Dry Fibrin Sealant Dressing” bugün için bilinen hemostatik ajanlardan bazılarıdır. Lokal bir hemostatik ajan olan poli-N-asetilglukozamin ya da Chitosan Lineer Polymer (Celox®), bu özelliklerin hepsini olmasa da çoğunu karşılamaktadır. Kitosan, kitin hammaddesinin işlenmesinden sonra elde edilen katyonik bir karbonhidrat polimeri olan poli-N-asetilglukozamin maddesidir. Kitin ise, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir.

Kitin ve kitosan polisakkaridleri kimyasal olarak selülozla benzemekle birlikte, kendi aralarında bir takım farklılıklar göstermektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil grubu bulunurken, kitinde asetamid, kitosanda ise amin grubu bulunmaktadır (Şekil-1). Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber, bunlar arasında en önemlisi kitosandır (29) ve yengeç, karides, istakoz gibi eklembacaklıların kabuklarında, bazı bakteri ve mantarların hücre duvarında bulunan kitin’in deasetilasyonu ile elde edilmektedir (3, 8, 30-33). Kitosanın özelliklerine etki eden parametreler; deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, viskozite, çözünürlük ve renk olarak sıralanabilir. Kitin ve kitosan arasındaki temel farklılık, yapılarındaki asetil içeriğinden kaynaklanmaktadır. Deasetilasyon derecesi kitinin yapısında bulunan aminoasetil gruplarından asetil grubunun uzaklaştırılma derecesidir. Böylece geride sadece amin grubu kalmaktadır (29). Deasetilasyon %70’ in üzerindeyse “kitosan” terimi, %20’ nin altındaysa “kitin” terimi kullanılır (8). Kitosanın kitine göre iki büyük avantajı vardır; bunlardan ilki kitosanın seyreltik asetik asit içinde kolayca çözünebilmesi ve ikincisi

ise birçok kimyasal reaksiyon için aktif kısım olan serbest amin gruplarına sahip olmasıdır. Kitosan, katyonik yapısı sayesinde pH<6 ortamında bazı çözeltilerde kolayca çözünebilmektedir. Kitosanın çözünmesi amacıyla genellikle asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi organik asitler kullanılmaktadır ve bunlar arasında en çok kullanılanı asetik asittir. İyi bir çözünürlük için kitosanın en az %75-80 deasetilasyon derecesine sahip olması gerekir. Asidik ortamda anyonik gruplarla elektrostatik olarak etkileşime girmekte, visköz çözeltiler oluşturmakta ve zıt yüklü molekül ve yüzeylerle etkileşime girebilmektedir (29).



**Şekil-1: Selüloz, kitin ve kitosan arasındaki benzerlikler (34).**

Kitosanın su tutma kapasitesinin (STK) selüloz ve hatta kitinden çok daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Kitosan için STK değerleri %580-1150 arasında değişmekte olup, ortalama % 700 civarında olduğu bilinmektedir (34).

Kitosan'ın hemostatik etkinliğini araştıran çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte kesin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Kitosan'ın farklı etkilere sahip olduğu bilinen, değişik formları bulunmaktadır ve bunların kanama modeli oluşturulan deneysel çalışmalarda hemostazı arttırdığı gözlenmiştir (8, 35). Kitosan'ın asidik tuz formu,

mukoadezif aktivite gösterir ve bu da onu ideal hemostatik ajan yapar (8). Vazokonstriksiyon yaptığı ve eritrositlerin, pıhtılaşma faktörlerinin ve trombositlerin yaralanma bölgesine hızla mobilizasyonunu sağladığı varsayılmaktadır (3). Antitrombojenik özellikler sunan biyoaktif polimer yapıda bir hemostatik ajan olduğu düşünülmektedir (36). Kitosan, trombosit adhezyon ve agregasyonunu birlikte artırır, bunu da trombositlerdeki kalsiyum iyonunu ve trombosit membranındaki glikoprotein IIb/IIIa ekspresyonunu arttırarak sağlamaktadır (28).

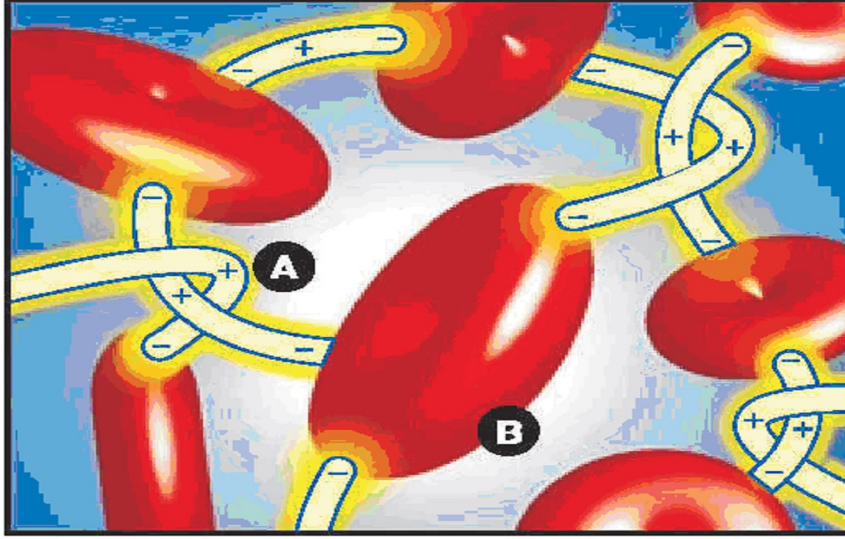
Kitosanın molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesi, kitinin kaynağına, izolasyon yöntemine, işlem süresine ve işlem sırasındaki sıcaklığa bağlı olarak değişir (30). Kitosan nötral ve alkali pH' da çözünmeyip, asidik pH' da çözünür ve polimerin amino grupları protonlanır ve molekül pozitif yüklenir ki, bu sayede negatif yüzeylerle güçlü bir şekilde etkileşir. Yine yüksek molekül ağırlığı ve dallanmış düz yapısı sayesinde asidik ortamlarda mükemmel bir viskozite artırıcı madde özelliğindedir. Kitosan konsantrasyonu arttıkça, ortam sıcaklığı azaldıkça ya da deasetilasyon derecesi arttıkça viskozitesi artar (30). Kitosan toksik, iritan ve allerjik değildir (30, 31, 37). In-vivo testler kitosanın insan vücuduna herhangi bir yan etkisi bulunmadığını göstermiştir (29). Kitosan günümüzde veterinerlik, tarım, ziraat, tekstil, kozmetik, dişçilik ve besin endüstrisi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Farmasötik alanda ise; jel, film, sünger, tablet ve mikropartiküler sistemler gibi değişik formlarda hazırlanmıştır (30). Bu çalışmada kullanılan kitosan içeren Celox® ise, ilaç statüsünde olmayıp, lokal olarak kanamayı durdurmada kullanılmaktadır ve granüler toz formundadır.

Kitosanın lokal hemostatik etkinliğinden başka bilinen pek çok etkisi vardır; yara iyileşmesi, doku iyileşmesi, antimikrobiyal etki, analjezik etki bunlardan bazılarıdır. Kitosan yara iyileşmesinde; kompleman aktivasyonu, polimorfonükleer hücre ve makrofajların aktivasyonu, fibroblast aktivasyonu, sitokin üretimi, dev hücre migrasyonu ve tip IV kollajen sentezinin stimülasyonu gibi aşamalarda önemli rol oynar. Doku iyileşmesinde; doku rejenerasyonunu hızlandırıcı etkisiyle kemik ve kırık iyileşmesinde kullanılmaktadır. Osteogenetik aktivitesinin yanı sıra, indirekt olarak kemik oluşumunu da kolaylaştırmaktadır. Antimikrobiyal etkinlikte; daha yüksek konsantrasyon ve deasetilasyon derecesinde etkinliği daha fazla olmakla birlikte genel olarak yaralarda bakteriyel çoğalmayı inhibe ederek etkinlik gösterir. Analjezik etkisini ise; inflamatuvar bölgede salınan proton iyonlarını absorbe ederek gerçekleştirir (30).

Kitin ve kitosan türevleri, medikal ve gıda alanları başta olmak üzere çeşitli alanlarda kullanım yeri bulmuştur. Özellikle medikal alanda son zamanlarda

kitosan ile ilgili çalışmalar artmaktadır. Kitin ve kitosan türevlerinin elde edilmesinin kolay bir işlem olmasından dolayı, çok farklı kompozisyonlardaki kitin ve kitosan ilaç taşınım sistemlerinde ve kontrollü ilaç salınımlarında kullanım yeri bulmuştur. Kitosan tabletleri ve/veya fiberleri diyet ürünü olarak kullanılabilen ve yağların vücutta metabolize olmadan dışarı atılmasını sağlamasıyla zayıflama ürünü olarak kullanılmaktadır. Kitin ve kitosan türevlerinin bakteri, maya ve küflere karşı antimikrobiyal aktivitesi mevcuttur (34).

Kitosanın önemli etkilerinden biri de lokal olarak kanamayı durdurucu bir madde özelliğinde olmasıdır ve hemostatik etkilerini aydınlatmak amacıyla çok sayıda araştırma yapılmıştır. Kitosanın moleküler ağırlığının ve deasetilasyon derecesinin hemostaz üzerine etkili olduğunu ileri süren ve düşük asetilasyon dereceli kitosan'ın hemostazı başlatmada daha etkin olduğunu bildiren çalışmalar vardır (32, 38, 39). Kitosan asidik solüsyonunun kanın koagülasyonunu sağladığı, hatta bunu heparinize kanda bile gerçekleştirdiği gösterilmiştir (40). Trombositlerden ve koagülasyon faktörlerinden bağımsız olarak hemostazı başlattığını ileri süren araştırmalar (40-42) olduğu gibi, trombosit fonksiyonlarını artırarak ve kırmızı kan hücrelerini pıhtı içine katarak etki ettiğini bildirenler de vardır (8, 43, 44). Hemostazın klasik koagülasyon kaskadından bağımsız olarak eritrosit hücre membranı ile kitosan arasındaki elektrostatik etkileşmeye bağlı olduğu (Şekil-2) ileri sürülmüştür (36, 45). Böylece, kitosan'ın hemostatik etkisi normal pıhtılaşma kaskadından bağımsız olarak ve eritrositlerin hücresel aglütinasyonu nedeniyle olabilir (45). Eritrositler arasındaki çapraz-köprü oluşumuyla hemostazı arttırdığı ya da repolimerizasyonla kafes formuna dönüşerek hücreleri tuzağa düşürdüğü ve böylece yapay bir pıhtı oluşturduğu da varsayılmaktadır (25). Yine poli-N-asetilglukozamin' in eritrosit yüzeyinde yaptığı iyonik etkileşimlerle eritrositlerin agregasyonunu arttırdığı gösterilmiş, ancak kitosan gibi poli-N-asetilglukozamin' in deasetile derivelinde bu gösterilememiştir. Bu farklılık da, poli-N-asetilglukozamin' in alfa-yapısal modifikasyonuna bağlanmıştır (46). Kitosan'ın pıhtılaşma faktörleri ya da trombositlerin yokluğunda pıhtı oluşumunu arttırdığı, varsayılan kapasitesinin koagülopatik ya da antikoagülan tedavi alan hastalarda kullanışlı olabileceği kanıtlanmıştır (25).



**Şekil-2: Eritrosit hücre membranı ile kitosan arasındaki olası etkileşim.**  
Artı yüklü (A) kitosan molekülleri negatif yüklü (B) eritrositleri birbirine yapıştırır.

Lokal hemostatik ajanların hemen hepsi trombosit fonksiyonları üzerine ve pıhtılaşma sürecine etki göstermektedir. Örneğin; “fibrin yapıştırıcılar” insan ya da sığır fibrininden elde edilir ve uygulandığı yüzeyde pıhtı ya da trombüs oluşumuna neden olarak normal hemostaz mekanizmasını tetiklerken, “kollajen bileşimleri” genellikle hayvanlardan elde edilir ve yaralanan bölgedeki kollajen miktarını artırır ve mevcut pıhtılaşma sürecini belli bir dereceye kadar hızlandırır. “Plazma proteinleri” sığır, öküz gibi büyükbaş hayvanlardan elde edilir ve pıhtılaşma sisteminde bulunan faktör II, V, VIII ve XIII’ ü aktifleştirir, böylece koagülasyonu hızlandırarak doğal yoldan hemostaz sağlamaktadırlar. Kanama üzerine direkt uygulanabilir, adezyon etkisi yoktur ve pıhtılaşma sisteminde katalizör olarak etki gösterir. “Mineral zeolit” %65-85 oranında kalsiyum sodyum aluminosilikat, %25-35 oranında magnezyum aluminosilikat ve ölçülebilir sınırın altında kuartz’ dan oluşur, inert bir maddedir ve bir elek gibi çalışıp suyu absorbe ederek egzotermik bir reaksiyon gelişmesine neden olmaktadır. Kanın plazma absorpsiyonu ile konsantre olması trombosit ve pıhtılaşma faktörlerinin çok daha hızlı bir şekilde pıhtı oluşturmasını sağlamaktadır. “Microporous polysaccharide hemisphere” temelde bitkisel kökenlidir ve moleküler bir süzgeç gibi plazmanın sulu kısmını absorbe ederek hem trombosit ve eritrosit gibi hücrelerin hem de albümin ve fibrinojen gibi kan proteinlerinin konsantre olmasını sağlar. Böylece, jel kıvamına gelen matriks, fibrin pıhtısının oluşumu için iskelet görevi görerek normal pıhtılaşma sürecini hızlandırır. Son olarak bu çalışmada kullanılan “ poli-N-asetil glukozamin” içeren Celox® ise; deniz kabuklularından elde edilen bir karbonhidrat yapısı olan kitin’ den elde edilmektedir. Kitosan artı yüklü parçacıkları, nano teknoloji ile manyetik alan etkisi oluşturarak doğal pıhtılaşma

mekanizmasından bağımsız olarak eksi yüklü eritrositlerle güçlü çapraz bağ oluşturmaktadır. Kandaki su moleküllerini absorbe ederek ve pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşmayı sağlar. Dokuda adeziv bir etki oluşturarak dolaşımdaki şekilli elemanların toplanmasını sağladığı, trombositlerin fonksiyonlarını artırdığı ve trombositleri aktif hale getirdiği düşünülmektedir (47), ancak bu konu kesinlik kazanmamıştır.

Trombositler hemostazdaki etkinlikleri için üç fonksiyona sahiptir ve bunlar; adezyon, agregasyon ve sekresyondur. Trombosit fonksiyonlarının laboratuvarında değerlendirildiği bir çok yöntem bulunmaktadır. Kanama zamanının ölçülmesi, optik veya impedans agregometresi, PFA-100 sistemi, “flowcytometry” ve tromboelastogram bunlardan bazılarıdır. Teknolojinin gelişmesine ve trombositler hakkındaki bilgilerin artmasına paralel olarak daha yeni değerlendirme yöntemleri denenmekte ve araştırılmaktadır (48). Trombositlerin agonist maddelerce uyarılması sonucu aktive olup agregatlar meydana getirmeleri en önemli fonksiyonel özellikleridir ve bu fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla optik agregometreler kullanılmaktadır. Optik agregometrelerde trombositten zenginleştirilmiş plazmadan geçen ışığın şiddeti ölçülür. Trombosit agregasyonunun çeşitli uyarıcı ajanlarla uyarılması ve agregasyonun oluşmasıyla geçen ışık şiddeti artar. Optik dansitedeki değişikliğin fotoelektriksel olarak saptanması yöntemin temelini oluşturmaktadır (48, 49). Trombosit agregasyonu ölçümündeki testlerde en sık kullanılan agonistler; ADP, kollajen, araşidonik asid, epinefrin, trombin ve ristosetindir. ADP, agregasyon olayında esas faktördür. ADP için optimal agregasyon yanıtı bifazik bir yapı oluşturur. Agregasyonun ilk dalgası, GPIIb/IIIa membran reseptörlerinin aktivasyonunun ve takiben fibrinojen aracılığıyla birbirine bağlanmalarının sonucudur. Agregasyonun ikinci dalgası ise trombosit granüllerinin boşalması ve bunların etkisi ile agregasyonun güçlenmesi sonucudur (50). ADP ile oluşturulan trombosit agregasyonunda maksimum amplitüdün artması agregasyonun artışı, azalması ise agregasyonun azalmasını göstermektedir (51).

Travma hastalarında çevresel kayıplar ve cerrahi bir işlem sonrası hipotermi gelişmektedir (52). Hipotermi travma hastalarında artmış kontrolsüz kanama ve mortalite riski ile ilişkilidir (15-20). Bazı araştırmalarda kanamada kontrollü hipotermimin hayatta kalımı düzeltereğine dair sonuçlar (21-23) varsa da, randomize klinik bir çalışmada hipotermi artmış mortaliteyle ilişkili bulunmuştur (53). Hipotermi 34-36 °C ise hafif, 32-34 °C orta dereceli ve <32 °C ise şiddetli hipotermiden söz edilir (54, 55). Hipotermi trombosit disfonksiyonuna yol açar (56), trombosit adezyonu, agregasyonu ve trombin jenerasyonunda defektler olur (57-59). Hipotermimin koagülasyon kaskadına etkisi ise daha ılımlıdır (60, 61)

ve her 1 °C düşüş için koagülasyon faktör aktivitesi %10 azalırken (22), <33 °C sıcaklıkta pıhtılaşma zamanı uzamaktadır (58). Hipotermik koşullarda lokal hemostatik ajanların etkinliğine dair yapılmış deneysel bir çalışmada (26), hipotermik (29°C) tavşanlarda dalak yaralanması oluşturularak poli-N-asetil glukozamin içeren lokal hemostatik ajanın etkinliği değerlendirilmiş ve normotermik (37°C) koşullardakine eşdeğer etkinlikte oldukları saptanmıştır. Bu durum özellikle hipotermik koşullarda trombositlerin inhibisyonu gerçeğiyle ilişkilendirilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalar çelişkili olup, bazı çalışmalarda (21-23) hipotermi hayatta kalımı düzeltirken, klinik bir çalışmada (53) ise mortaliteyi artırdığı görülmüştür.

Trombotik hastalıkların tedavisinde kullanılan antikoagülan ilaçların, bu tür tedavi alan hastalarda herhangi bir travma sonucunda kullanılan lokal hemostatik ajanın etkinliği üzerine etkisinin olup olmaması konusunda bazı araştırmalar bulunmaktadır (24-26). Bu çalışmalarda lokal hemostatik ajanın etkinliğinin heparin tedavisi uygulanması ile bozulmadığı gösterilmiştir (24, 25). Poli-N-asetil glukozamin içeren lokal hemostatik ajanların konjenital yada edinsel koagülopatik hastalıkların varlığında bile etkili kanama kontrolü sağladığı da ileri sürülmektedir (26). Warfarin de trombotik hastalıkların tedavisinde kullanılan, K vitaminini inaktive ederek K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerini inhibe eden, sonuçta pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX ve X'un azalmasına yol açan bir antikoagülandır. Ayrıca antikoagülan proteinler olan protein C ve protein S'i inhibe ederek erken dönemde prokoagülan etki oluşturmaktadır (62). Literatürde warfarin tedavisi alan bir hastaya kitosan içeren herhangi bir lokal hemostatik ajanın uygulanmasının hemostatik etkinliğinin araştırıldığına dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, Celox®' un travma hastalarında sıkça karşılaşılan bir sorun olan hipotermide ve yine günümüzde sık kullanılan bir oral antikoagülan olan warfarin tedavisi altındaki etkinliğinin araştırılması ve ayrıca Celox®' un hemostatik etkinliğinde trombositlerin rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Tıp alanında kullanılan bir ilacın etkinliğinin yanı sıra, insanlarda kullanımının da güvenilir olması gerekir. Farmasötik alanda yaygın olarak kullanılan ve biyoparçalanabilir, biyogeçimli ve nontoksik bir ajan olmasının yanında, antimikrobiyal, hemostatik, yara ve kemik iyileşmesini hızlandırıcı özellikleri de olan kitosan pek çok alanda umut veren bir biyopolimerdir. İlacın kolay uygulanabilirliği ve uygulama sonucu acı ya da strese yol açmaması, cerrahi girişim gerekliliğini azaltması ve tüm bunların sonucunda elde edilebilecek ekonomik kazançlar olası yararları arasında sayılabilir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 200-350 gram ağırlığında dişi Sprague-Dawley türü sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar deney hayvanları merkezinden alınarak, sıcaklığı 18-24 °C ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde ışığı ayarlanmış odada 4-6 tanesi bir kafeste olacak şekilde su ve yem alımları serbest bırakılarak tutulmuşlardır. Deneylere Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (UÜ-HADYEK)'nden izin (2008-2/2) alındıktan sonra başlanmıştır. Çalışma projesi, Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu (T-2008/42) tarafından desteklenmiştir.

Sıçanlara 12 saat açlığı takiben, aerochamberde % 3 isofluorane ile anestezi başlatılıp, idamede trakeostomi sonrası % 2 isofluorane ve oksijen desteği ile deney süresince anesteziye devam edilmiştir. Sıçanlar prosedür boyunca %21 oksijen desteğinde spontan solunuma izin verecek şekilde küçük hayvan anestezi makinesine bağlı kalmışlardır (SurgiVet, Inc. Veterinary Anesthesia and Monitoring Equipment, Multi-station lab Research Anesthesia System) (ventilatör değerleri; VT 1.53 cc Asist Rate 77 BPM).

Ön bacakları sabitlenen sıçanlar sırtüstü gelecek şekilde, üzerinde ısıtıcı pet olan operasyon masasına yerleştirilmişlerdir. Vücut sıcaklıkları rektal probe (Biopac Systems, Inc. SSSL fast Temp. SN6053859) yardımıyla ölçülüp, normotermik grup için  $37\pm 0.5$  °C'da tutulmuş ve bunun için ısıtıcı pet kullanılmıştır. Hipotermik grupta ise, elektrikli fan altında sıçanların cildine alkol uygulayarak vücut sıcaklıklarının  $32\pm 0.5$  °C olması sağlanmıştır.

Anestezi altındaki sıçanların her iki bacağı traş edilerek deney için hazırlanmıştır. Hem arteriyel kan basıncı ve kalp hızı monitorizasyonu hem de kan alma işlemi için sol bacağına insizyon yapılarak femoral arter disseke edilmiştir. Takiben heparinli tuzlu su (100U/ml) ile doldurularak hazırlanmış bir kateter (PE50) yerleştirilmiştir. Arteriyel kateter "volümetrik pressure transducer"a (BPT300) tutturulmuştur. Arteriyel kan basıncı ve kalp hızı, bu transducer'ın bağlandığı BIOPAC Data Acquisition Unit (MP30) aracılığıyla devamlı olarak kaydedilmiştir. Ortalama arteriyel kan basıncı mmHg olarak, kalp hızı vuru/dakika olarak belirtilmiştir. Sıçanların arteriyel kateter "volümetrik pressure transducer" ile aynı seviyede olmaları sağlanarak 30 dakika stabilizasyon için beklenmiştir. Kanatma oluşturmak için kullanılan sağ bacağına insizyon yapılmış ve sağ femoral arter disseke edilerek 24-gauge iğne ile delinmiş ve 30 sn süreyle serbest kanamaya bırakılmıştır. Sonrasında kanayan yere, ait olduğu gruba göre standart bası veya standart bası + Celox® uygulanmıştır. Kanatma işlemi



ve standart bası uygulaması tüm deneylerde aynı kişi tarafından yapılmıştır. Deney prosedürünün oluşturulmasında, Ersoy ve ark' nın deneysel modeli örnek alınmıştır (1).

Celox'un hemostatik etkinliğini değerlendirmek amacıyla sıçanlar 6 gruba ayrılmış ve tüm gruplarda 8 adet sıçan kullanılmıştır.

Normotermi + bası grubu: Vücut ısıları rektal prob yardımıyla ölçülerek  $37\pm 0.5$  °C düzeyinde olacak şekilde ayarlandıktan sonra, sağ femoral arter 24-gauge iğne ile delinmiş ve 30 sn süreyle şiddetli arteriyel kanama sağlanmıştır. Sonrasında kanayan yere 30 sn süreyle 100 g ağırlık konarak standart bası sağlanmıştır. 30 sn sonra hemostaz değerlendirilip, kanama durmuşsa test sonlandırılmıştır. Kanama durmamışsa, aynı miktarda bası 30 sn süreyle tekrar uygulanmış ve kanama durmuşsa 60 sn'de test sonlandırılmıştır. İkinci bası sonrası kanama devam ediyorsa üçüncü ve son kez aynı standart bası tekrarlanmıştır. Bu deneme sonrası kanama durmuşsa 90 sn'de test sonlandırılmıştır. Eğer üçüncü uygulama sonrasında da hemostaz sağlanamamışsa test başarısız kabul edilmiştir.

Normotermi + Celox® grubu: Vücut ısıları rektal prob yardımıyla ölçülerek  $37\pm 0.5$  °C düzeyinde olacak şekilde ayarlandıktan sonra, sağ femoral arter 24-gauge iğne ile delinip 30 sn süreyle şiddetli arteriyel kanama sağlanmıştır. Sonrasında Celox® (1g/kg) kanayan yere direkt olarak dökülmüş, 30 sn süreyle 100 g ağırlık uygulanarak standart bası sağlanmıştır. 30 sn sonra hemostaz değerlendirilip, kanamanın durup-durmamasına göre gerekirse 2. ve 3. bası uygulaması yapılmıştır. Eğer üçüncü uygulama sonrasında da hemostaz sağlanamamışsa test başarısız kabul edilmiştir.

Hipotermi + bası grubu: Vücut ısıları rektal prob yardımıyla ölçülerek  $32\pm 0.5$  °C düzeyinde olacak şekilde ayarlandıktan sonra, sağ femoral arter 24-gauge iğne ile delinip 30 sn süreyle şiddetli arteriyel kanama sağlanmıştır. Sonrasında kanayan yere 30 sn süreyle 100 g ağırlık konarak standart bası sağlanmış ve kanamanın durup-durmamasına göre gerekirse maksimum üç kez bası uygulanmıştır. Üçüncü uygulama sonrasında da hemostaz sağlanamamışsa test başarısız kabul edilmiştir.

Hipotermi + Celox® grubu: Vücut ısıları aynı şekilde rektal prob yardımıyla ölçülerek  $32\pm 0.5$  °C düzeyinde olacak şekilde ayarlandıktan sonra, sağ femoral arter 24-gauge iğne ile delinip 30 sn süreyle şiddetli arteriyel kanama sağlanmıştır. Sonrasında 1g/kg Celox® kanayan yere direkt olarak dökülmüş ve 100 g ağırlık 30 sn süreyle konarak standart bası sağlanmış ve kanamanın durup-durmamasına göre gerekirse maksimum üç kez bası uygulanmıştır. Üçüncü uygulama sonrasında da hemostaz sağlanamamışsa test başarısız kabul edilmiştir.

Normotermi + warfarin + bası grubu: Sıçanlara 3 gün boyunca oral yoldan gavaj ile warfarin (0.06 mg/kg) verilmiş ve son dozunu aldığı günün sabahı son dozdan 30 dk. sonra deneye başlanmıştır. Vücut ısıları rektal prob yardımıyla ölçülerek  $37\pm 0.5$  °C düzeyinde tutulduktan sonra, sağ femoral arter 24-gauge iğne ile delinip ve 30 sn süreyle şiddetli arteriyel kanama sağlanmıştır. Sonrasında kanayan yere 100 g ağırlık 30 sn süreyle konarak standart bası sağlanmış ve kanamanın durup-durmamasına göre gerekirse maksimum üç kez bası uygulanmıştır. Üçüncü uygulama sonrasında da hemostaz sağlanamamışsa test başarısız kabul edilmiştir.

Normotermi + warfarin + Celox® grubu: Diğer warfarin grubunda olduğu gibi sıçanlara 0.06 mg/kg warfarin 3 gün boyunca oral yoldan gavaj ile verilmiş ve son dozunu aldığı günün sabahı son dozdan 30 dk. sonra deneye başlanmıştır. Vücut ısıları rektal prob yardımıyla ölçülerek  $37\pm 0.5$  °C düzeyinde tutulduktan sonra, sağ femoral arter 24-gauge iğne ile delinip ve 30 sn süreyle şiddetli arteriyel kanama sağlanmıştır. Sonrasında 1g/kg Celox® kanayan yere direkt olarak dökülmüş ve 100 g ağırlık 30 sn süreyle konarak standart bası sağlanmıştır. Kanamanın durup-durmamasına göre gerekirse maksimum üç kez bası uygulanmıştır. Üçüncü uygulama sonrasında da hemostaz sağlanamamışsa test başarısız kabul edilmiştir.

Deneyler süresince fizyolojik parametrelerin izlenmesi amacıyla ortalama kan basıncı (OKB), kalp hızı (KH) ve rektal sıcaklık değerleri devamlı olarak kaydedilmiştir. Kanatma öncesi (0.sn) ve deney sonlanınca alınan kan örneklerinde; hemoglobin değerleri, trombosit sayıları, eritrosit sayıları, protrombin zamanı (PZ) ve INR (International Normalized Ratio/Uluslararası Normalleştirilmiş Oran) seviyeleri analiz edilmiştir.

Çalışmada ayrıca, kullanılan hemostatik ajanın trombosit agregasyonuna etkisinin olup-olmadığını araştırmak amacıyla; 10' ar sıçandan oluşan iki ayrı grupta (bası ve Celox® grupları) normotermik koşullarda aynı kanatma modeli oluşturularak kanatma öncesi ve sonrası alınan kanlarda trombosit agregasyonları optik agregometre ile değerlendirilmiştir.

Optik agregometreler modifiye edilmiş spektrofotometrik aletlerdir. Trombositten zengin plazmanın vücut ısısında inkübe edildiği, belirli bir hızda karıştırılırken uyarıcı ajanın eklenmesi ile trombositlerin agregatlar oluşturup, ışık geçirgenliğindeki değişikliğin ölçüldüğü yöntemlerdir. Agregasyon ölçümleri PACKS-4 (Platelet Aggregation Chromogenic Kinetic System, HELENA LABORATORIES) agregometre cihazında yapılmıştır. Optik agregometredeki ölçümler için kan örnekleri 150 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen trombositten zengin plazma (PRP: Platelet Rich Plasma) plastik bir tüpe alınmıştır. Kalan kan 2000 rpm'de 15 dk daha santrifüj edilerek trombositten fakir plazma (PPP: Platelet Poor Plasma) hazırlanmıştır. PRP, PPP ve uyarıcı ajan agregometrenin

küvetlerinde 37 °C' de inkübe edilmiştir. Uyarıcı ajan olarak ADP kullanılmış ve uyarıcı ajan için test son konsantrasyonu ADP 10µM olarak ayarlanmıştır. Önce 500µl PPP agregasyon tüpüne koyulmuş ve kalibrasyon yapılmıştır. Sonra içinde karıştırıcı mıknatıs parçacığı bulunan (karıştırma hızı 1000 devir/dk) ikinci agregasyon tüpüne 450 PRP koyulmuş ve üzerine 50 µl uyarıcı ajan olan ADP eklenerek oluşan agregasyon 10 dk takip edilmiştir. Dene sonuçları % maksimum amplitüd olarak gösterilmiştir (46).

Deneiler sonlandığında tüm hayvanlara yüksek doz isoflorane inhalasyonu ile ötanazi yapılmıştır.

**İstatistiksel Analiz:** Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS 13.0 istatistik programı kullanılmıştır. İki den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi, bağımsız iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney-U testi ve bağımlı iki grup karşılaştırmalarda Wilcoxon testi kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ise, Pearson Ki Kare ve Fisher' in Kesin Ki Kare testi kullanılmıştır. Ortalamalar standart hatayla birlikte verilmiş ve tüm analizlerde anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0.05$  kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmada kullanılan 68 adet sıçandan 48 tanesi normotermi, hipotermi veya warfarin tedavisi altındaki sıçanlarda şiddetli femoral arter kanaması olduğunda Celox®'un hemostatik etkinliğini araştırmak amacıyla kanama kontrolü ve bası sayısı açısından değerlendirildiler. Kanatma öncesi ve deney sonlandığında alınan kan örneklerinde hemoglobin, hematokrit, trombosit, eritrosit, PZ, INR seviyeleri analizi yapıldı. Deneyler süresince OKB ve KH monitörize edilerek tüm gruplarda normal bası ve Celox® kullanımı sonrasında farklılık olup olmaması değerlendirildi. Diğer 20 adet sıçanda, kullanılan lokal hemostatik ajanın trombosit agregasyonuna etkisi araştırıldı.

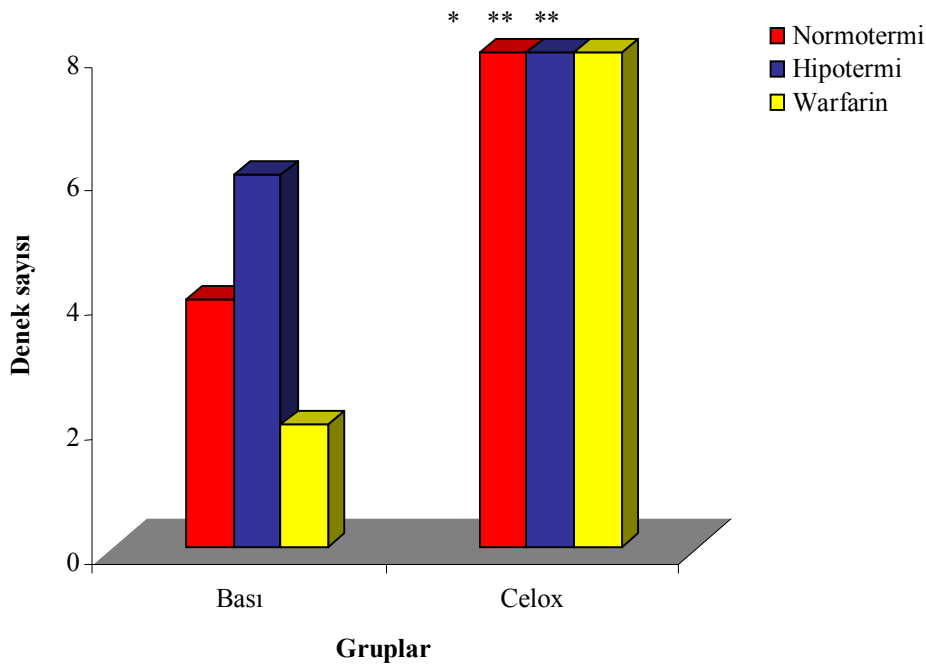
Gruplar kanama kontrolü açısından değerlendirildiğinde; normotermi + bası grubundaki 8 sıçanın 4' ünde (%50) kanamanın durduğu, 4 sıçanda (%50) ise durmadığı gözlemlendi. Buna karşın normotermi + Celox® grubunda ise, 8 sıçanın tamamında (%100) kanama durdu. Hipotermi + bası grubunda 8 sıçanın 6' sında (%75) kanama dururken, 2' sinde (%25) kanama durmadı. Buna karşın hipotermi + Celox® grubunda ise, 8 sıçanın tamamında (%100) kanama durdu. Warfarin tedavisi alan gruplara baktığımızda; warfarin + bası grubunda 8 sıçanın sadece 2' sinde (%25) kanama dururken, 6 sıçanda (%75) kanama durmadı. Oysa warfarin + Celox® grubunda, 8 sıçanda da (%100) kanamanın durduğu gözlemlendi (Tablo-1, Şekil-3). Kanama kontrolü başarısı açısından, bası ve Celox® uygulanan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Normotermi, hipotermi ve warfarin grupları için p değerleri sırasıyla;  $p<0.05$ ,  $p<0.01$  ve  $p<0.01$  idi.

**Tablo-1: Normotermi, hipotermi ve warfarin gruplarında şiddetli femoral arter kanamasında bası ve Celox® uygulamasının kanama kontrolü açısından değerlendirilmesi.**

Gruplar	Bası		Celox®	
	Kanama kontrolü (-)	Kanama kontrolü (+)	Kanama kontrolü (-)	Kanama kontrolü (+)
Normotermi	4	4	-	8*
Hipotermi	2	6	-	8**
Warfarin	6	2	-	8**

Kanama kontrolü açısından bası ve Celox® uygulanan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

\*: Kanama kontrolü Celox® grubunda bası grubuna göre farklıdır (\*p<0.05, \*\*p<0.01).



**Şekil-3: Normotermi, hipotermi ve warfarin gruplarında şiddetli femoral arter kanamasında bası ve Celox® uygulamasının kanama kontrolü açısından değerlendirilmesi.**

\*: Kanama kontrolü Celox® grubunda bası grubuna göre farklıdır (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

Kanama kontrolü sağlanan sıçanlardaki bası sayıları incelendiğinde; normotermi grubunda bası uygulanan ve kanama kontrolü sağlanan 4 sıçanın hepsinde 3. basıda kanama kontrolü sağlandı. Oysa Celox® uygulanan ve kanama kontrolü sağlanan 8 sıçanın 7' sinde

1. basıda kanama kontrolü sağlanırken, sadece 1 sıçanda 2. basıda kanama kontrolü sağlandı. Hipotermi grubunda; bası uygulanan ve kanama kontrolü sağlanan 6 sıçanın hepsinde 3. basıda kanama kontrolü sağlandı. Oysa Celox® uygulanan ve kanama kontrolü sağlanan 8 sıçanın 4'ünde 1. basıda, 3'ünde 2. basıda kanama dururken, sadece 1 sıçanda 3. basıda kanama durdu. Warfarin tedavisi alan grupta ise; bası uygulanan ve kanama kontrolü sağlanan 2 sıçanda 3. basıda kanama durdu. Oysa Celox® uygulanan ve kanama kontrolü sağlanan 8 sıçanın 6'ında 1. basıda, 2'inde 2. basıda kanama durdu (Tablo-2). Bası ve Celox® uygulanan tüm gruplara (normotermi, hipotermi ve warfarin) baktığımızda, Celox® uygulanan gruplarda bası sayısı, sadece bası uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha azdı. Normotermi, hipotermi ve warfarin grupları için p değerleri sırasıyla;  $p<0.01$ ,  $p<0.01$  ve  $p<0.001$  idi.

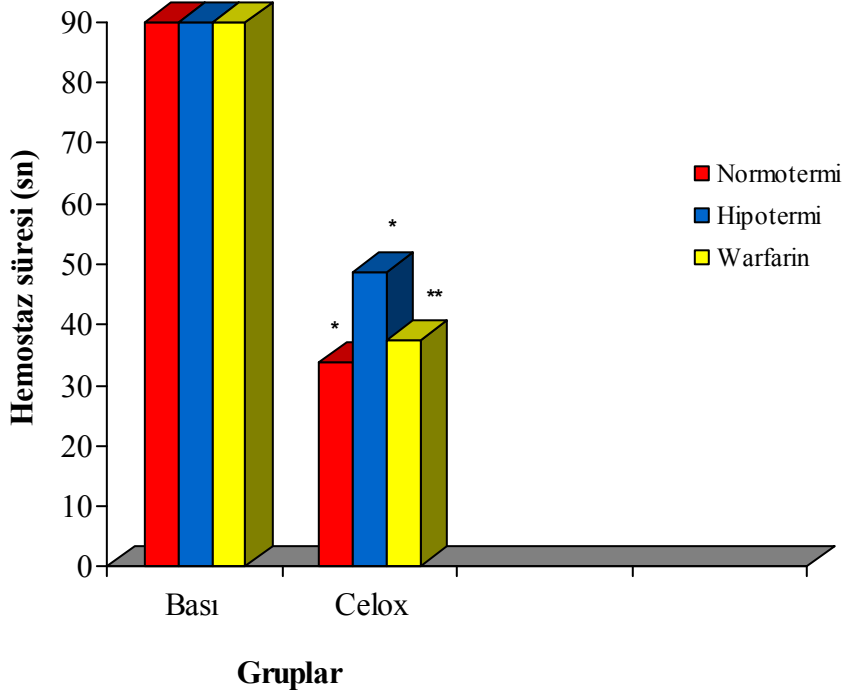
**Tablo-2: Normotermi, hipotermi ve warfarin gruplarında şiddetli femoral arter kanamasında bası ve Celox® uygulamasının kanama kontrolünde bası sayıları açısından değerlendirilmesi.**

Gruplar	Bası			Celox®		
	1.bası	2.bası	3.bası	1.bası	2.bası	3.bası
Normotermi	-	-	4	7	1	- *
Hipotermi	-	-	6	4	3	1 *
Warfarin	-	-	2	6	2	- **

Kanama kontrolünde bası sayısı açısından bası ve Celox® uygulanan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

\*: Bası sayısı Celox® grubunda bası grubuna göre farklıdır (\* $p<0.01$ , \*\* $p<0.001$ ).

Hemostaz süresi açısından baktığımızda; normotermi + bası grubunda bu süre ortalama  $90.0\pm 0.0$  sn iken, normotermi + Celox® grubunda ortalama  $33.8\pm 10.6$  sn idi ve her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p<0.01$ ). Hipotermi + bası grubunda hemostaz süresi ortalama  $90.0\pm 0.0$  sn iken, hipotermi + Celox® grubunda  $48.8\pm 22.3$  sn idi ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.01$ ). Son olarak warfarin verilen gruplardan; warfarin + bası grubunda hemostaz süresi ortalama  $90.0\pm 0.0$  sn iken, warfarin + Celox® grubunda ise  $37.5\pm 13.9$  sn idi ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ) (Şekil-4).



**Şekil-4: Normotermi, hipotermi ve warfarin gruplarında şiddetli femoral arter kanamasında bası ve Celox® uygulamasının hemostaz süreleri açısından değerlendirilmesi.**

\*: Kanama kontrolü Celox® grubunda bası grubuna göre farklıdır (\*p<0.01, \*\*p<0.05).

Celox®'un trombosit agregasyonuna etkisi araştırıldığında, sadece bası uygulanan grupta kanatma öncesinde ortalama  $19.3 \pm 5.3$  olan % maksimum amplitüd değeri kanatma sonrasında yükselerek ortalama  $36.6 \pm 3.6$  oldu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ( $p < 0.05$ ). Celox® uygulanan grupta ise % maksimum amplitüd değeri kanatma öncesinde ortalama  $27.9 \pm 4.5$ , kanatma sonrasında ortalama  $27.4 \pm 4.9$  idi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ). Bası ve Celox® uygulanan gruplarda kanatma öncesi ve sonrasında % maksimum amplitüd değerleri arasındaki farklılık karşılaştırıldığında, bası gruplarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ( $p < 0.05$ ) (Tablo-3).

**Tablo-3: Normotermi, hipotermi ve warfarin gruplarında şiddetli femoral arter kanamasında bası ve Celox® uygulaması ile kanatma öncesi ve sonrası trombosit agregasyonlarının değerlendirilmesi.**

Gruplar	(% maksimum amplitüd)	
	Kanatma öncesi	Kanatma sonrası
Bası	19.3 ± 5.3	36.6 ± 3.6 *
Celox®	27.9 ± 4.5	27.4 ± 4.9

% maksimum amplitüd değeri açısından bası grubunda kanatma öncesi ve sonrası arasındaki fark Celox® grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksek saptandı.

\*: % maksimum amplitüd değeri bası grubunda Celox® grubuna göre farklıdır (\*p<0.05).

Bası ve Celox® uygulanan grupların arteriyel kan basıncı ve kalp hızlarının değerlendirilmesi için kanatma öncesi bazal değerler 0. sn olmak üzere; kanatma sonrası 30., 60. ve 90. sn'lerdeki OKB ve KH' ları kaydedildi. Kanatma sonrası değerler ile bazal değerler arasındaki fark yüzde değişim olarak gösterildi. Bası uygulanan tüm gruplar ile Celox® uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo-4, 5).

**Tablo-4: Tüm grupların kan basıncı % değişim değerleri.**

	Kan Basıncı % Değişim		
	30. sn	60.sn	90.sn
Normotermi+bası	73,9±0,2	73,7±0,2	74,2±0,2
Normotermi+Celox®	62,9±0,1	61,6±0,1	52,7±0,1
Hipotermi+bası	46,7±0,3	52,6±0,3	53,5±0,3
Hipotermi+Celox®	39,4±0,9	42,5±0,1	42,5±0,1
Warfarin+bası	49,4±0,1	50,4±0,1	53,5±0,3
Warfarin+Celox®	43,3±0,1	53,3±0,1	55,9±0,2

Gruplarda femoral arter kanatması yapmadan önce kan basınçları 30 dk boyunca kaydedilerek stabilize olmaları beklendi. Kanatmadan sonraki 30., 60. ve 90. sn'lerdeki kan basıncı değerlerinin bazale göre % değişim değerleri belirlendi. Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05).

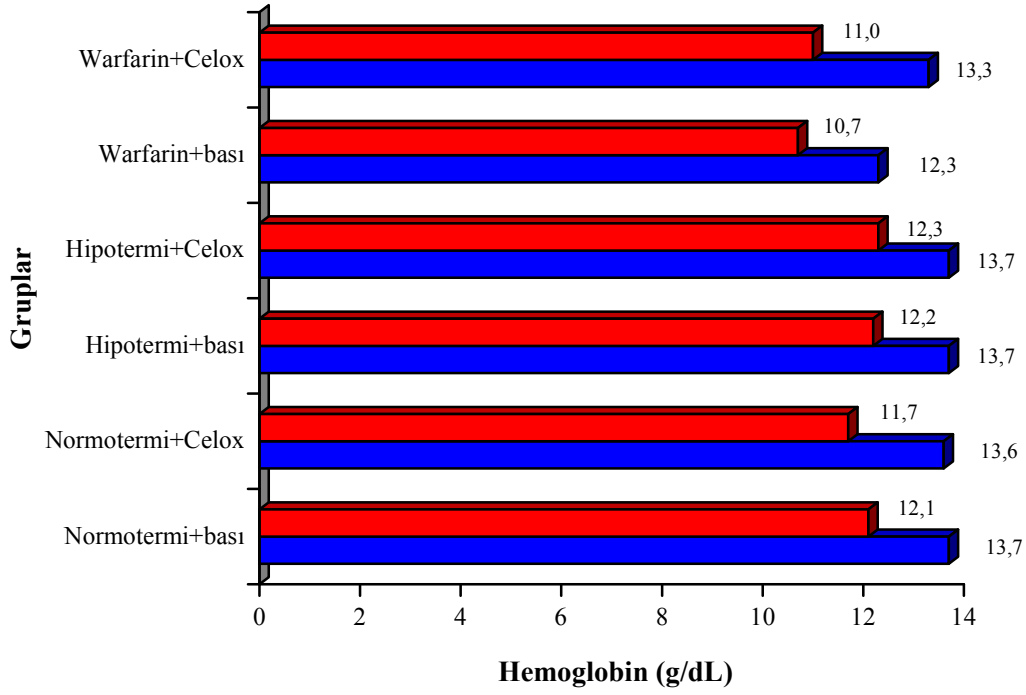


**Tablo-5: Tüm grupların kalp hızı % değişim değerleri.**

	Kalp Hızı % Değişim		
	30. sn	60.sn	90.sn
<b>Normotermi+bası</b>	20,9±0,4	24,2±0,6	25,5±0,7
<b>Normotermi+Celox®</b>	29,2±0,1	26,8±0,9	29,3±0,2
<b>Hipotermi+bası</b>	26,7±0,2	29,6±0,2	36,7±0,2
<b>Hipotermi+Celox®</b>	19,4±0,3	26,5±0,3	23,1±0,3
<b>Warfarin+bası</b>	9,0±0,1	8,9±0,1	8,9±0,2
<b>Warfarin+Celox®</b>	16,8±0,2	12,3±0,1	9,1±0,9

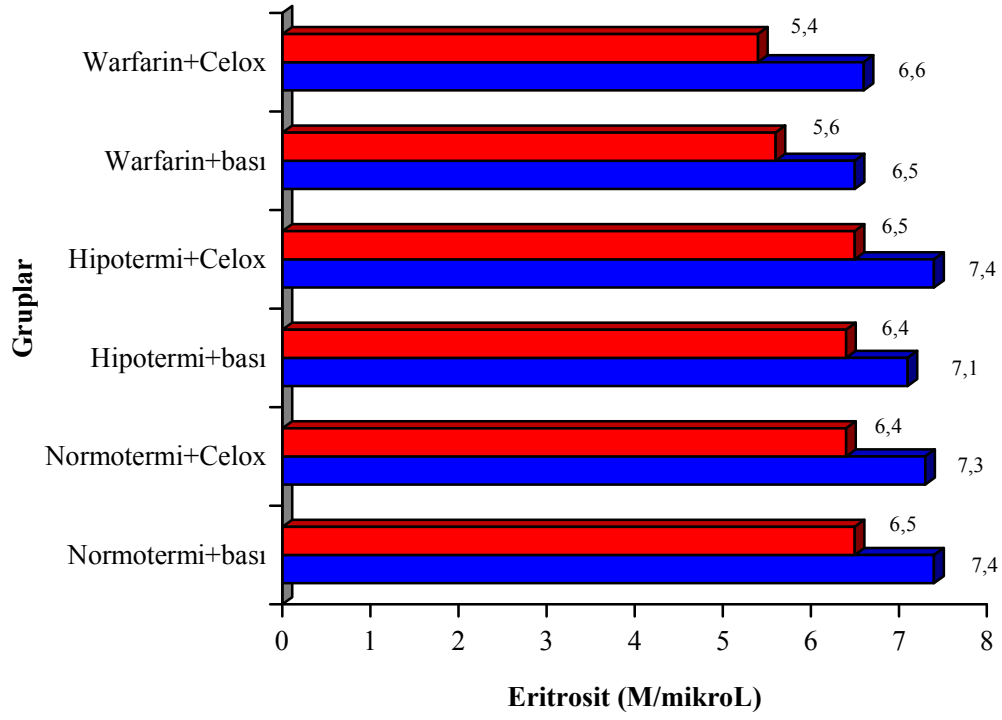
Gruplarda femoral arter kanatması yapmadan önce kalp hızları 30 dk boyunca kaydedilerek stabilize olmaları beklendi. Kanatmadan sonraki 30., 60. ve 90. sn'lerdeki kalp hızı değerlerinin bazale göre % değişim değerleri belirlendi. Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Kanatma öncesi ve sonrası hemoglobin (Hb) seviyeleri, eritrosit ve trombosit sayıları, PZ ve INR değerleri analiz edilerek bası ve Celox® uygulanan gruplar karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Ancak, normotermi +bası grubunda kanatma öncesi ve sonrası bakılan Rbc ve PZ değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark vardı ( $p$  değerleri  $< 0.05$ ). Normotermi+ Celox® grubunda ise, kanatma öncesi ve sonrası bakılan Rbc, PZ ve INR değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p$  değerleri  $< 0.05$ ). Hipotermi+bası ve hipotermi+ Celox® gruplarında ise kendi grupları içinde; kanatma öncesi ve sonrası bakılan Rbc, Hb, Plt, PZ ve INR değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p$  değerleri  $<0.05$ ). Son olarak warfarin+bası ve warfarin+ Celox® gruplarında ise kendi grupları içinde; kanatma öncesi ve sonrası bakılan sadece Rbc ve Hb değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p$  değerleri  $<0.05$ ). Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Warfarin tedavisi uygulanan gruplarda, kanatma sonrası bakılan PZ ve INR düzeyleri ölçülemeyecek kadar yüksek olduğundan istatistiksel olarak değerlendirme yapılamadı. Bası ve Celox® uygulanan gruplarda kanatma öncesi ve sonrası fizyolojik parametrelerin ortalama düzeyleri şekil-5-9' da gösterilmiştir.



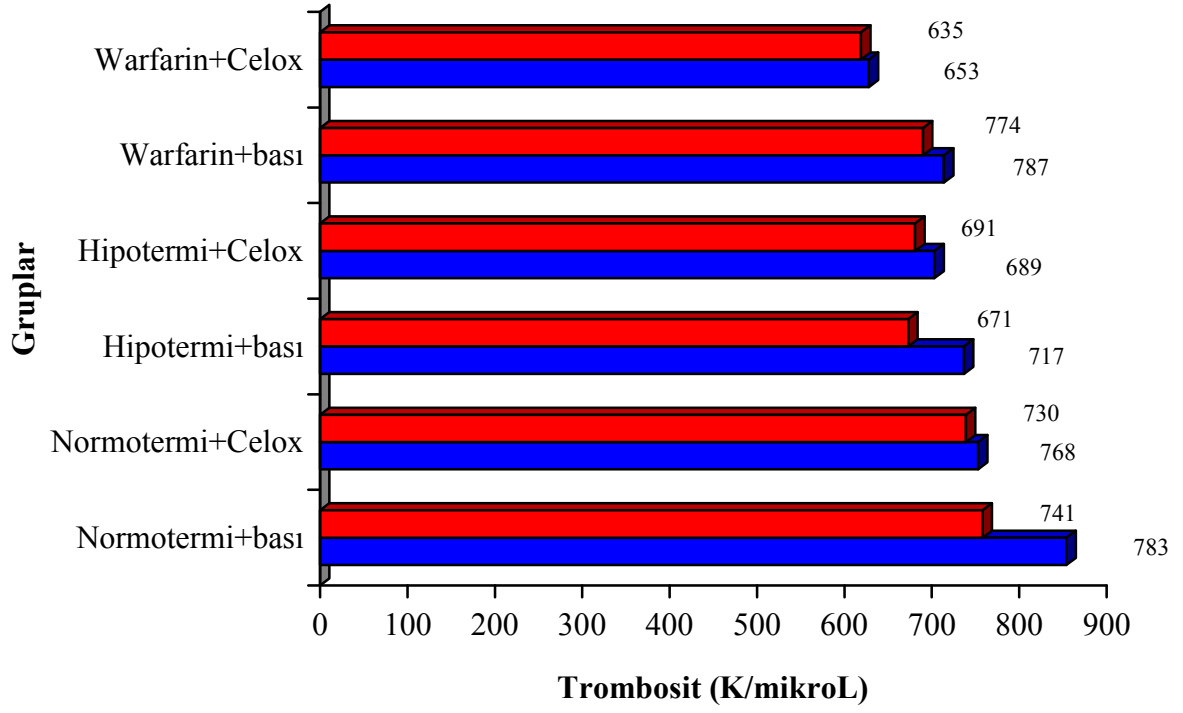
**Şekil-5: Bası ve Celox® uygulanan gruplarda hemoglobin düzeyleri.**

Tüm gruplarda kanatma öncesi ■ ve sonrası ■ hemoglobin (g/dl) düzeyleri arasındaki farka bakıldığında; hipotermi uygulanan ve warfarin alan gruplardaki fark kendi içinde istatistiksel olarak anlamlı (hipotermi+bası grubunda  $p=0.012$ , hipotermi+ Celox® grubunda  $p=0.012$ , warfarin+bası grubunda  $p=0.011$  ve warfarin+Celox® grubunda  $p=0.012$ ) iken, normotermik gruplarda kendi içinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ). Bası ve Celox® uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ).



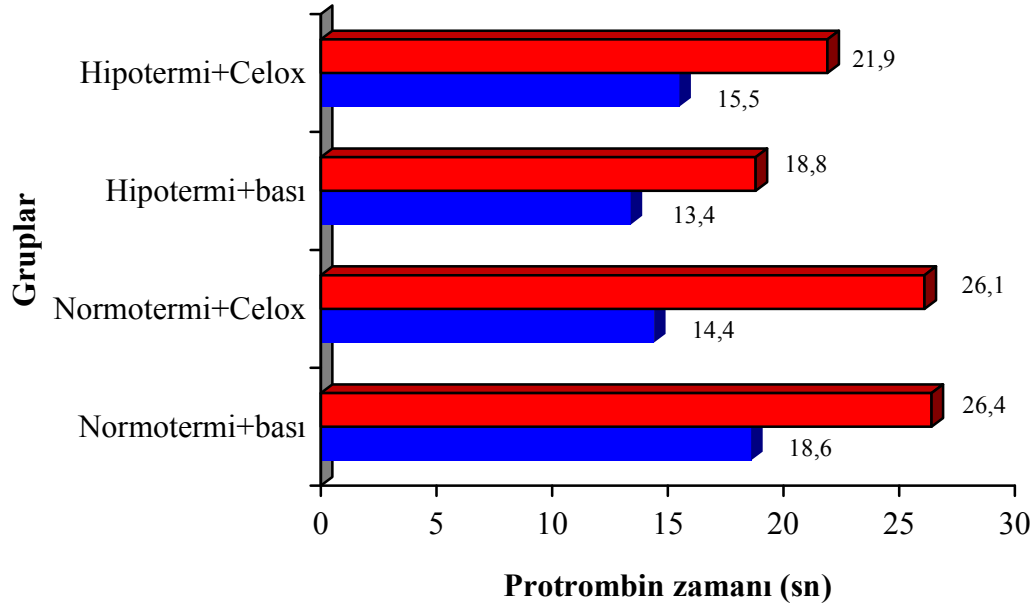
**Şekil-6: Bası ve Celox® uygulanan gruplarda eritrosit sayıları.**

Tüm gruplarda kanatma öncesi ■ ve sonrası ■ eritrosit ( M/mikroL) sayıları arasındaki fark; her üç grupta (normotermi, hipotermi ve warfarin) kendi içlerinde istatistiksel olarak anlamlıydı (p değerleri <0.05). Bası ve Celox® uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0.05).



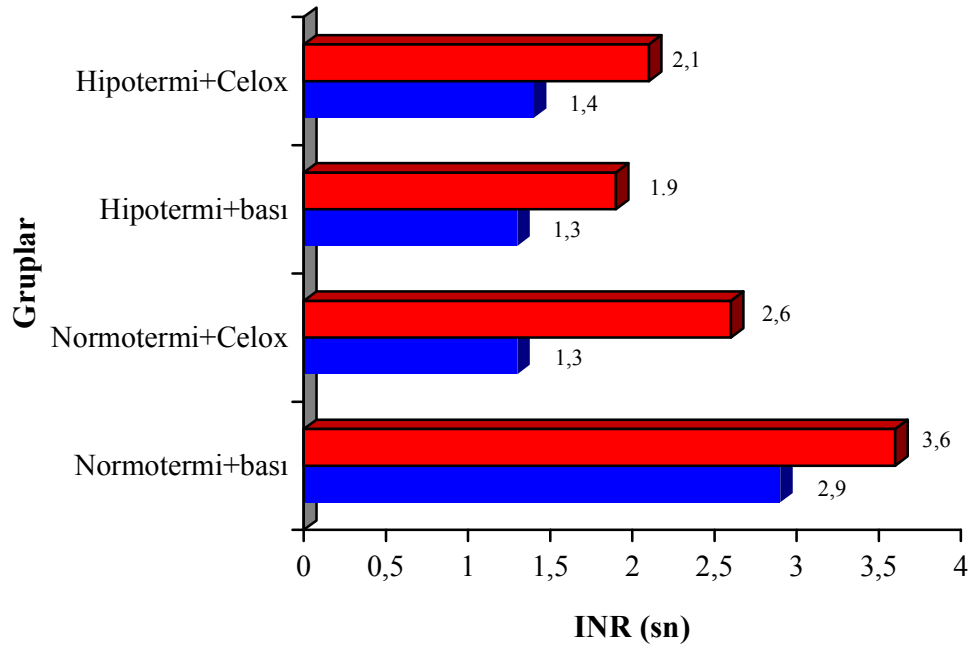
**Şekil-7: Bası ve Celox® uygulanan gruplarda trombosit sayıları.**

Tüm gruplarda kanatma öncesi ■ ve sonrası ■ trombosit ( K/mikroL) sayıları arasında; her üç grupta da (normotermi, hipotermi ve warfarin) kendi içlerinde istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Bası ve Celox® uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, yine istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ).



**Şekil-8: Grupların PZ ölçümleri.**

Tüm gruplarda kanatma öncesi ■ ve sonrası ■ ölçülen protrombin zamanı (PZ) (sn) değerlerine bakıldığında; normotermi ve hipotermi gruplarında kendi içlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark (normotermi+bası grubunda  $p<0.05$ , normotermi+ Celox® grubunda  $p<0.05$ , hipotermi +bası grubunda  $p<0.05$  ve hipotermi +Celox® grubunda  $p<0.05$ ) vardı. Warfarin alan gruplarda ise PZ değerleri ölçülemeyecek kadar yüksekti. Gruplarda bası ve Celox® uygulandıktan sonra elde edilen PZ düzeyleri karşılaştırıldığında ise, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ).



**Şekil-9: Grupların INR düzeyleri.**

Tüm gruplarda kanatma öncesi ■ ve sonrası ■ ölçülen International Normalized Ratio/Uluslararası Normalleştirilmiş Oran (INR) (sn) değerleri arasında; normotermi+ Celox® grubunda ( $p < 0.05$ ) ve hipotermi gruplarında kendi içinde istatistiksel olarak anlamlı fark (hipotermi +bası grubunda  $p < 0.05$  ve hipotermi +Celox® grubunda  $p < 0.05$ ) varken, normotermi+bası grubunda bu fark anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). Warfarin alan gruplarda ise INR düzeyleri ölçülemeyecek kadar yüksekti. Gruplarda bası ve Celox® uygulandıktan sonra elde edilen INR düzeyleri karşılaştırıldığında ise, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanamamanın erken tanı ve tedavisinin düzenlenmesi kritik bir süreçtir ve günümüzde hala önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bugün için bilinen geleneksel yöntemler olan elle bası, damarın bağlanması ve turnike uygulama gibi yöntemlere ek olarak, bazı lokal hemostatik ajanlar kullanılmaktadır (27, 47). Konvansiyonel yöntemler, özellikle anatomik olarak ulaşılması zor femoral ve aksiler bölgelerde olan kanamaları kontrol etmede daha az etkin ve kanayan alana ulaşmak güç olduğu için, lokal hemostatik ajanların bu durumlarda daha kullanışlı olduğu ileri sürülmektedir (50, 63). Böylece erken ve etkin bir kanama kontrolü sağlanarak pek çok yaşam kurtarılabilmektedir. Bu deneysel çalışmada kullanılan, “kitosan” içeren bir lokal hemostatik ajan olan ve FDA tarafından sadece eksternal kullanım için onay almış olan “Celox®” yeni jenerasyon bir lokal hemostatik ajan olup, etkinliği halen değerlendirme aşamasındadır.

Elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde, değişik çalışmalarda (10, 13, 14, 64, 65) normotermik koşullarda hemostatik etkinliği gösterilmiş olan Celox®’un aynı şartlarda, şiddetli arter kanamalı sıçan modelinde kanama kontrolünü sağlamada % 100 başarılı olduğu gösterilmiştir. Ersoy ve arkadaşları (64) femoral arter yaralanması oluşturdukları büyük hayvan modeli olan koyunlarda yaptıkları çalışmada, Celox®’un topikal hemostatik etkinliğini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Yine Ersoy ve arkadaşları (1) tarafından yürütülen bir başka çalışmada, sıçanlarda oluşturdukları kontrolsüz hemorajik şok modelinde mikroporöz polisakkarid partiküllerden oluşan bir başka lokal hemostatik ajan olan TraumaDEX® kullanılmış ve söz konusu ajanın kanama kontrolünü sağlamadaki süre, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa bulunmuştur. Biz de hemostaz sürelerini değerlendirdiğimizde, normotermi grubunda bası uygulandığında kanamanın durması için geçen sürenin ortalama  $90.0 \pm 0.0$  sn iken Celox® uygulandığında ortalama  $33.8 \pm 10.6$ sn olacak şekilde azaldığını ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğunu gözledik.

Kozen ve arkadaşları (13) kasık yaralanması oluşturulmuş domuz modelinde Celox®, HemCon® ve QuikClot® isimli lokal hemostatik ajanları ve standart bası yöntemini karşılaştırmışlar, sonuçta Celox® uygulanan grupta yeniden kanama oranı ve ölüm oranının standart basıya ve diğer ajanlara göre daha etkin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Hayatta kalım açısından ise, Celox® en az diğer ajanlar kadar etkin bulunmuş fakat hayatta kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bir üstünlük saptanmamıştır. Çalışmamızda da benzer olarak Celox® uygulanan gruplarda sıçanların hepsinde kanama kontrolü sağlanmış ve sadece bası

uygulanan gruplara kıyasla, daha kısa sürede hemostaz gerçekleşmiştir. Prosedürümüz gereği, sıçanlar resüsite edilmemiş ve deney sonucunda ötanazi uygulanmış olduğundan, sıçanların hayatta kalım açısından değerlendirilmeleri yapılmamıştır.

Bulgularımızla çelişkili olarak, Devlin ve arkadaşları (10) yaptıkları çalışmada, üç lokal hemostatik ajanı (ChitoFlex®, OuikClot®, Celox®) ve standart bası uygulamasını kasık yaralanması oluşturdukları domuz modelinde karşılaştırmışlar ve üç ajanın da kanama kontrolünde standart basıya göre üstün olmadığını göstermişlerdir. Söz konusu çalışmada kitosan içeren lokal hemostatik ajanların venöz ya da miks kanamalarda etkin olduğu ancak yüksek basınçlı arteriyel kanamalarda etkin olmadığı vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda ise sıçanda direkt olarak femoral arter yaralanması oluşturulmuş olup, uyguladığımız lokal hemostatik ajan bu kontrolsüz arteriyel kanamayı durdurmada etkin bulunmuştur. İki çalışma arasındaki tek farklılık, bu çalışmada büyük hayvan modeli olan domuz kullanılması bizimkinde ise küçük hayvan modeli olan sıçan kullanılmasıdır. Kheirabadi ve arkadaşları (14) femoral arter yaralanması olan domuz modelinde, Celox®'u da içeren çeşitli yeni hemostatik ürünleri uygulamışlar ve yeni ürünlerin arteriyel kanamada daha etkin olduğunu göstermişlerdir. Domuzlarda femoral arter yaralanması oluşturulmuş bir başka çalışmada (65), kitosan içeren lokal hemostatik bir ajan ile standart bası karşılaştırılmış, Devlin ve arkadaşlarının (10) aksine ancak bizim çalışmamıza benzer şekilde, bu ajan ile %100 başarılı kanama kontrolü sağlanmıştır. Gustafson ve arkadaşları bu makalesinde (65), kullanılan farklı teknikler ve farklı modellerin sonuçları kısmen de olsa etkileyebileceğinden söz etmiştir ki, bu durum bizim çalışmamızla Devlin' in çalışması arasındaki farklılığın nedenini de açıklayabilir.

Alam ve arkadaşları (11) domuzlarda ölümcül kompleks kasık yaralanması oluşturarak, standart basıyla farklı lokal hemostatik ajanların etkinliğini karşılaştırmışlar ve sonuçta bir mineral zeolit olan QuikClot® isimli ajanı uyguladıklarında kan kaybının azaldığını ve sağ kalımın %100 olduğunu, buna karşın sadece bası uygulanan kontrol grubunda ise mortalitenin %83 olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Pusateri ve arkadaşları (12) ile Baker ve arkadaşları (66)'nın da QuikClot®'un diğer ajanlardan daha etkin olduğuna dair bulguları bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda, kan kaybı miktarı ölçülmemiş olmakla birlikte, Celox® uygulanan grupların hepsinde kanama kontrolü (%100) sağlanmış, buna karşı sadece bası uygulanan gruplarda ise kanama kontrolleri daha düşük olmak üzere; normotermi grubunda %50, hipotermi grubunda %75 ve warfarin grubunda ise %25'dir. Ancak söz konusu çalışmada kullanılan lokal hemostatik ajan olan QuickClot® egzotermik bir reaksiyona bağlı olarak kullanımı sırasında uygulanan bölgede ısı artışı yapmakta ve minimal doku



yaralanmasına yol açmaktadır (4). Bu özelliği kullanımını kısıtlamaktadır, oysa Celox®'un böyle bir yan etkisi bulunmamaktadır ve bu nedenle güvenle kullanılabilceği düşünölmektedir.

Travma hastalarında çevresel kayıplar ve cerrahi maruziyet sonrası gelişen hipotermi, kontrolsüz kanama ve mortalite riski ile ilişkilidir (15-20, 52). Kanamada kontrollü hipoterminin hayatta kalımı düzölteceğine dair sonuçlar (21-23) varsa da, hipoterminin artmış mortaliteyle ilişkili olabileceği de bulunmuştur (53). Çalışmamızda, hipotermi gruplarında kontrollü ve orta dereceli hipotermi (32±0.5 °C) modeli oluşturulmuştur. Sadece bası uygulanan (hipotermi + bası) grupta kanama kontrolü 6/8 sıçanda sağlanırken, normotermi + bası uygulanan grupta 4/8 sıçanda kanama kontrolü sağlanmış olması söz edilen çalışmalara benzer sonuçlar olup hipoterminin olumlu bir etkisi olarak yorumlanabilir. Elde ettiğimiz bulgulara göre hipotermi + Celox® grubunda, 8/8 sıçanda kanama kontrolü sağlanmıştır. Ayrıca hemostaz süreleri açısından değerlendirildiğinde, Celox®'un hipotermi grubunda hemostaz süresini kısaltma etkisi ile normotermi grubundaki etkisi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış olup; Celox® hipotermide de normotermiye benzer şekilde hemostaz süresini kısaltmıştır.

Hipotermimin trombosit disfonksiyonuna yol açtığı (56), trombosit adezyon, agregasyon ve trombin jenerasyonunda defektlere neden olduğu ileri sürölmektedir (57-59). Koagölasyon kaskatına etkisi ise daha ılımlıdır (60, 61) ve her 1 °C düşüş için koagölasyon faktör aktivitesi %10 azalırken (22), <33 °C sıcaklıkta pıhtılaşma zamanı uzamaktadır (58). Bu bilgilere dayanarak hipoterminin hemostaz üzerine olumsuz etkisi olduğu sonucuna varılabilir. Ancak çalışmamızda hipotermik grupta kanama kontrolü normotermik gruba göre daha başarılı gözökmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar çelişkili olup, bazı çalışmalarda (21-23) hipotermi hayatta kalımı düzöltirken, klinik bir çalışmada (55) ise mortaliteyi artırdığı görölmüştür. Çalışmamızda olduğu gibi deneysel çalışmalarda oluşturulan kontrollü hipoterminin kanama kontrolü üzerine olumlu bir etkisinin olduğu kanısındayız. Hipotermik koşullarda lokal hemostatik ajanların etkinliğine dair yapılmış deneysel bir çalışmada (26), hipotermik (29°C) tavşanlarda dalak yaralanması oluşturularak poli-N-asetil glukozamin içeren lokal hemostatik ajanın etkinliği değerlendirilmiş ve normotermik (37°C) koşullardakine eşdeğer etkinlikte oldukları saptanmıştır. Bu durum özellikle hipotermik koşullarda trombositlerin inhibisyonu gerçeğiyle ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmadakine benzer şekilde hipotermik (32°C) sıçanlarda kullandığımız lokal hemostatik ajan sıçanların hepsinde kanama kontrolü sağlamış olup, etkinliği normotermik (37°C) sıçanlardakine eşdeğer bulunmuştur. Böylece Celox® hipotermik şartlarda da kanama

kontrolünü %100 sağlamakta ve sadece bası uygulanan gruba göre hemostaz sürelerini kısaltmaktadır.

Trombotik hastalıkların tedavisinde kullanılan antikoagölan ilaçların, bu tür tedavi alan hastalarda herhangi bir travma sonucunda kullanılan lokal hemostatik ajanın etkinliği üzerine etkisinin olup olmaması konusunda bazı araştırmalar bulunmaktadır. Standart heparin, düşük molekül ağırlıklı heparin, pentasakkarit ve warfarin günümüzde sık olarak kullanılan antikoagölan ilaçlardır (62). Bunlardan parenteral olarak kullanılan heparinin, değişik lokal hemostatik ajanların etkinliği ile ilişkisini değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır (24, 25). Klokkevold ve arkadaşları (25), heparinize tavşan modelinde kitosan'ın etkinliğini gösterirken; Tuthill ve arkadaşları (24), sol heminefrektomili heparinize sıçanlarda değişik topikal ajanların hemostatik etkinliğini araştırmışlar ve fibrin sealant (FS) isimli ajanın belirgin olarak kan kaybını azalttığını göstermişlerdir. Schawaitzberg ve arkadaşları (26) ise, hemofilik köpeklerde ve heparinize domuzlarda lokal hemostatik ajanların etkinliğini değerlendirdikleri deneysel çalışmalarında poli-N-asetil glukozamin içeren lokal hemostatik ajanların konjenital ya da edinsel koagülopatik hastalıkların varlığında bile etkili kanama kontrolü sağladığını ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda, herhangi bir lokal hemostatik ajanın kanama kontrolündeki etkinliği üzerine etkisinin olup olmadığı daha önce araştırılmamış olan warfarinin, femoral arter kanamasında Celox®'un hemostatik etkinliğini ne derece değiştirip değiştirmeyeceğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, bir grup sıçana 3 gün warfarin tedavisi uyguladıktan sonra kanama modeli oluşturulmuştur. Warfarin uygulanan grupta 2/8 sıçanda kanama kontrolü ancak 3. basıda sağlanırken, 6/8 sıçanda ise kanama durmamıştır. Bu bulgumuz, antikoagölan tedavinin zaten beklenen bir sonucudur. Warfarin tedavisinde Celox®'un etkinliğini değerlendirdiğimizde ise; warfarin + Celox® grubunda kanama kontrolünün tam olarak sağlandığını, hemostaz sürelerinin de normotermi grubuyla benzer olduğunu gözledik. Böylece Celox®'un warfarin tedavisi alımında da hemostatik etkinliğinin değişmediği sonucuna varılabilir. Warfarin tedavisi alan gruplarda, bazı sıçanlarda PZ ve INR düzeyleri çok yüksek olup değerleri sayısal olarak elde edilemediğinden, istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Celox®'un hemostatik etkinliğinin warfarin tedavisinde yani pıhtılaşma faktörlerinin eksikliğinde de ortaya çıkıyor olması, Celox®'un koagülasyon faktörlerinden ve trombositlerden bağımsız olarak hemostazı başlattığını ileri süren araştırmacıların (40-42) bulgularına uygundur. Ayrıca Celox®'un trombosit agregasyonuna etkisini araştırdığımızda elde ettiğimiz bulguların da bu görüşlere uygun olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda ayrı bir grup sıçana femoral arter kanamasında sadece bası ve Celox® uygulayarak trombosit agregasyonundaki değişimler araştırılmıştır. Kanatma öncesi ve sonrası alınan kanlarda trombosit agregasyonları karşılaştırıldığında, bası grubunda kanatma sonrası % maksimum amplitüd değerinin kanatma öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını görülmüştür. Celox® grubunda ise kanatma öncesi ile sonrasında elde edilen % maksimum amplitüd değerleri arasında fark saptanmamıştır. Yani Celox® agregasyonu arttırıcı etki göstermemiştir. Çünkü ADP ile oluşturulan trombosit agregasyonunda maksimum amplitüdün artması agregasyonun artışı, azalması ise agregasyonun azalmasını göstermektedir (51). Bulgularımıza göre, Celox®'un şiddetli femoral arter kanamasında gösterdiği hemostatik etkinlikte trombositlerin rolünün olmadığı düşüncesine varıldı.

Chou ve arkadaşları (28) yaptıkları çalışmada, kitosan'ın tavşanlarda trombosit agregasyonunu arttırdığını agregometrik ölçümlerle göstermişlerdir ve kitosanın trombosit adezyon ve agregasyonunu arttırdığı, bunu da trombositlerdeki kalsiyum iyonunu ve membrandaki GPIIb/IIIa ekspresyonunu arttırarak sağladığını ileri sürmüşlerdir. Kitosanın trombosit fonksiyonlarını arttırarak hemostatik etkinlik gösterdiğini ileri süren başka araştırmalar (8, 43, 44) da bulunmaktadır. Başka bir grup araştırmacı ise, kitosanın trombositlerden ve koagülasyon faktörlerinden bağımsız olarak hemostazı başlattığını ileri sürmektedir (40-42). Kheirabadi ve arkadaşları (14) Celox® ve HemCon® ile tedavinin pıhtılaşma parametrelerine etkisinin olmadığını, ayrıca kitosan içeren ajanların dokuya yapışarak asıl hemostatik fonksiyonlarını gösterdiklerini ileri sürmüşlerdir. Hem trombosit agregasyonunda elde ettiğimiz sonuçlar hem de trombosit sayılarında ve protrombin zamanlarında Celox® grubunda bası grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmaması bu araştırmacıların sonuçlarıyla bizim sonuçlarımızın uygunluğunu göstermektedir. Celox®'un hemostatik etkinliği yapısındaki kitosanın etkinliği ile ortaya çıkmaktadır ve kitosanın bu etkinliğinin moleküler ağırlığı ve deasetilasyon derecesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (32, 38, 39). Kitosanın farklı etkilere sahip olduğu bilinen değişik formları bulunmaktadır (8). Kitosanın hemostatik etkinliğinin etki mekanizmalarını aydınlatmaya çalışan araştırmalar arasındaki farklılığın nedeni bu olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada kullanılan lokal bir hemostatik ajan olan “Chitosan Lineer Polymer” yani Celox®, sadece normotermide değil aynı zamanda hipotermide ve bir oral antikoagülan ajan olan warfarin kullanımında da etkili kanama kontrolü sağlamak ve belirgin olarak hemostaz süresini kısaltmaktadır. Ayrıca kullanılan lokal hemostatik ajanın

trombosit agregasyonu üzerine etkinliği olmadığı saptanmış olmakla beraber, bu konu hala ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Son olarak bu tür deneysel çalışmaların sonuçlarının rutin kullanıma sokulabilmesi için, sadece deneysel çalışmalarla sınırlı kalmayıp, klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği dşnlmektedir.

## KAYNAKLAR

1. ERSOY G, KAYNAK MF, YILMAZ O, RODOPLU U, MALTEPE F, GOKMEN N. Hemostatic effects of microporous polysaccharide hemosphere in rat model with severe femoral artery bleeding. *Advances in Therapy*, 24: 485-492, 2007.
2. ACHESON EM, KHEIRABADI BS, DEGUZMAN R, DICK EJ JR, HOLCOMB JB. Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 59: 865-875, 2005.
3. NEUFFER MC, McDIVIT J, ROSE D, CLOONAN CC, VAYER JS. Hemostatic dressing for the first responder: A Review. *Military Medicine*, 169: 716-720, 2004.
4. PUSATERI AE, HOLCOMB JB, KHEIRABADI BS, ALAM HB, WADE CE, RYAN KL. Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 60: 674-682, 2006.
5. WARD KR, TIBA MH, HOLBERT WH, BLOCHER CR, DRAUCKER GT, PROFFITT EK, BOWLIN GL, IVATURY RR, DIEGELMANN RF. Comparison of a new hemostatic agent to current combat hemostatic agents in a swine model of lethal extremity arterial hemorrhage. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 63: 276-284, 2007.
6. PUSATERI AE, MODROW HE, HARRIS RA, HOLCOMB JB, HESS JR, MOSEBAR RH, REID TJ, NELSON JH, GOODWIN CW JR, FITZPATRICK GM, MCMANUS AT, ZOLOCK DT, SONDEEN JL, CORNUM RL, MARTINEZ RS. Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressing in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 55: 518-526, 2003.
7. AHUJA N, OSTOMEL TA, RHEE P, STUCKY GD, CONRAN R, CHEN Z, AL-MUBARAK GA, VELMAHOS G, DEMOYA M, ALAM HB. Testing of modified zeolite hemostatic dressing in a large animal model of groin injury. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 61: 1312-1320, 2006.
8. WEDMORE I, MCMANUS JG, PUSATERI AE, HOLCOMB JB. A Special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 60: 655-658, 2006.
9. CONNALLY RJ. Application of the poly-n-acetyl glucosamine-derived rapid deployment hemostat trauma dressing in severe/lethal swine hemorrhage trauma models. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 57: S296-S28, 2004.
10. DEVLIN JJ, KIRSCHER S, KOZEN BG, LITTLEJOHN LF, JOHNSON AS. Comparison of chitoflex®, celox®, and quikclot® in control of hemorrhage. *The Journal Of Emergency Medicine* (in press).
11. ALAM HB, UY GB, MILLER D ET, KOUSTOVA E, HANCOCK T, INOCENCIO R, ANDERSON D, LLORENTE O, RHEE P. Comparative analysis of hemostatic agents in a swine model of lethal groin injury. *The Journal of Trauma*, 54: 1077-82, 2003.
12. PUSATERI AE, DELGADO AV, DICK EJ, MARTINEZ RS, HOLCOMB JB, RYAN KL. Application of a granular mineral-based hemostatic agent (QuickClot) to reduce blood loss after grade V liver injury in swine. *The Journal of Trauma*, 57: 555-62, 2004.

13. KOZEN BG, KIRSCHER SJ, HENAO J, GODINEZ FS, JOHNSON AS. An alternative hemostatic dressing: comparison of celox, hemcon, and quikclot. *Academic Emergency Medicine*, 15: 74-81, 2008.
14. KHEIRABADI BS, EDENS JW, TERRAZAS IB, ESTEP JS, KLEMPCKE HG, DUBICK MA, HOLCOMB JB. Comparison of new hemostatic granules/powders with currently deployed hemostatic products in a lethal model of extremity arterial hemorrhage in swine. *The Journal of Trauma*, 66: 316-328, 2009.
15. FERRERA A, MACARTHUR JD, WRIGHT HK, MODLIN IM, MCMILLEN MA. Hypothermia and acidosis worsen coagulopathy in the patients requiring massive transfusion. *American Journal of Surgery*, 160: 515-8, 1990.
16. PENG RY, BONGARD FS. Hypothermia in trauma patients. *Journal of the American Collage of Surgeons*, 188: 685-96, 1999.
17. ARTHURS Z, CUADRADO D, BEEKLEY A, GRATHWOHL K, PERKINS J, RUSH R, SEBESTA J. The impact of hypothermia on trauma care at the 31st combat support hospital. *American Journal of Surgery*, 191: 610-4, 2006.
18. JURKOVICH GJ, GREISER WB, LUTERMAN A et al. Hypothermia in trauma victims: An Ominous Predictor of Survival. *The Journal of Trauma*, 27: 1019-24, 1987.
19. WATTS DD, TRASK A, SOEKEN K, PERDUE P, DOLS S, KAUFMANN. Hypothermic coagulopathy in trauma: effect of varying levels of hypothermia on enzyme speed, platelet function, and fibrinolytic activity. *The Journal of Trauma*, 44: 846-854, 1998.
20. NOZARI A, SAFAR P, WU X, HENCIR J, KOCHANEK P, KLAIN M, RADOVSKY A, TISHERMAN SA. Suspended animation can allow survival without brain damage after traumatic exanguination cardiac arrest of 60 minutes in dogs. *The Journal of Trauma*, 57: 1266-75, 2004.
21. TAKASU A, SAKAMOTO T, OKADA Y. Effect of induction rate for mild hypothermia on survival time during uncontrolled hemorrhagic shock in rats. *The Journal of Trauma*, 61: 1330-5, 2006.
22. ALAM HB, CHEN Z, LI Y, DEMOYA M, KELLER CE, TORUNO K, MEHRANI T, RHEE P, SPANIOLAS. Profound hypothermia is superior to ultraprofound hypothermia in improving survival in a swine model of lethal injuries. *Surgery*, 140: 307-14, 2006.
23. GENTILELLO LM, JURKOVICH GJ, STARK MS, HASSANTASH SA, O'KEEFE GE. Is hypothermia in the victim of major trauma protective or harmful? A randomized, prospective study. *Annals of Surgery*, 226: 439-47, 1997.
24. TUTHILL DD, BAYER V, GALLAGHER AM, DROHAN WN, MACPHEE MJ. Assessment of topical hemostats in a renal hemorrhage model in heparinized rats. *Journal of Surgical Research*, 95: 126-32, 2001.
25. KLOKKEVOLD PR, FUKAYAMA H, SUNG EC, BERTOLAMI CN. The effect of chitosan (poly-N-acetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 57: 49-52, 1999.
26. SCHWAITZBERG SD, CHAN MW, COLE DJ, READ M, NICHOLS T, BELLINGER D, CONNALLY RJ. Comparison of poly-n- acetyl glucosamine with commercially available topical hemostats for achieving hemostasis in coagulopathic models of splenic hemorrhage. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 57: S29-S32, 2004.
27. RECINOS G, INABA K, DUBOSE J, DEMETRIADES D, RHEE P. Local and systemic hemostatics in trauma: a review. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery*, 14: 175-181, 2008.

28. CHOU TC, FU E, WU CJ, YEH JH. Chitosan enhances platelet adhesion and aggregation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 302: 480-483, 2003.
29. DEMİR A, SEVENTEKİN N. Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları. *Tekstil Teknolojileri Dergisi*, 3: 92-103, 2009.
30. DUMAN SS, ŞENEL S. Kitosan ve veteriner alandaki uygulamaları. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10 : 62-72, 2004.
31. PICKER-FREYER KM, BRINK D. Evaluation of powder and tableting properties of chitosan. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 7:75. 2006.
32. YANG J, TIAN F, WANG Z, WANG Q, ZENG YJ, CHEN SQ. Effect of chitosan molecular weight and deacetylation degree on hemostasis. *Journal Of Biomedical Materials Research*, 84:131-137, 2008.
33. FISCHER TH, BODE AP, DEMCHEVA M, VOURNAKIS JN. Hemostatic properties of glucosamine-based materials. *Journal Of Biomedical Materials Research*, 80: 167-174, 2007.
34. ELİBOL M. Kabuklu katı deniz ürünleri artıklarından kitin, kitosan ve türevlerinin üretimi. *Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Araştırma Projesi*, 9-28, 2008.
35. PUSATERI AE, McCARTHY SJ, GREGORY KW, HARRIS RA, CARDENAS L, MCMANUS AT, GOODWIN CW JR. Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 54:177-182, 2003.
36. MIRZADEH H, YAGHOBI N, AMANPOUR SI. Preparation of chitosan derived from shrimp's shell of persian gulf as a blood hemostasis agent. *Iranian Polymer Journal*, 11: 63-68, 2002.
37. KHEIRABADI BS, ACHESON EM, DEGUZMAN R, SONDEEN JL, RYAN KL, DELGADO A, DICK EJ JR, HOLCOMB JB. Hemostatic efficacy of two advanced dressing in an aortic hemorrhage model in swine. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 59: 25-35, 2005.
38. FISCHER TH, CONNOLLY R, THATTE HS, SCHWAI TZBERG SS. Comparison of structural and hemostatic properties of the poly-n-acetyl glucosamine syvek patch with products containing chitosan. *Microscopy Research and Technique*, 63:168-174, 2004.
39. VOURNAKIS JN, DEMCHEVA M, WHITSON A, GUIRCIA R, PARISER ER. Isolation, purification, and characterization of poly-n-acetyl glucosamine use as a hemostatic agent. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 57: S2-S6, 2004.
40. MALETTE WG, QUIGLEY HJ. Method of achieving hemostasis. U.S. Pat. 4394373 1983.
41. KLOKKEVOLD PR, LEW DS, ELLIS DG, BERTOLAMI CN. Effect of chitosan on lingual hemostasis in rabbits. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 49: 858-863, 1991.
42. KLOKKEVOLD PR, SUBAR P, FUKAYAMA H, BERTOLAMI CN. Effect of chitosan on lingual hemostasis in rabbits with platelet dysfunction induced by epoprostenol. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery* , 50:41-45, 1992.
43. THATTE HS, ZAGARINS S, KHURI SF, FISCHER TH. Mechanisms of poly-n-acetyl glucosamine polymer-mediated hemostasis: platelet interactions. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 57: S13-S21, 2004.
44. VALERI CR, SREY R, TILAHUN D, RAGNO G. In vitro effects of poly-n-acetyl glucosamine on the activation of platelets in platelet-rich plasma with and without red

- blood cells. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 57: S22-S25, 2004.
45. RAO SB, SHARMA CP. Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential. *Journal of Biomedical Materials Research*, 34: 21-28, 1997.
  46. THATTE HS, ZAGARINS SE, AMIJI M, KHURI SF. Poly-n-acetyl glucosamine-mediated red blood cell interactions. *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, 57: S7-S12, 2004.
  47. ERYILMAZ M, MENTEŞ Ö, ÖZER T, ERSOY G, DURUSU M, RODOPLU Ü, BİLGİÇ S, KALEMOĞLU M, UZAR Aİ, KÖKSAL ÖN. Topikal hemostatik ajanların travmalı olgularda güncel kullanım esasları. *Türkiye Acil Tıp Dergisi*, 7: 136-143, 2007.
  48. MCKENZIE ME, GURBEL PA, LEVINE DJ, SEREBRUANY VL. Clinical utility of available methods for determining platelet function. *Cardiology*; 92: 240-247, 1999.
  49. Helena Laboratories, PACKS-4, Operator's Manuel. 1991.
  50. KAPTAN K. Trombosit Hastalıklarında Temel Tanısal Yaklaşım. 5. İlk Basamak Kursu, Antalya, Kurs Kitapçığı: 11-15, 2006.
  51. İŞBİL N, NOYAN B, ÖZLÜK K. Heparin ve Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin Fraksiyonlarının Trombosit Agregasyonuna Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17;27-35, 1990.
  52. GENTILELLO LM, JURKOVICH GJ. Hypotermia. Editors: IVATORY RR, CAYTEN CG. *The Textbook of Penetrating Trauma*. PA Williams&Wilkins, page 995-1006, 1996.
  53. VALERI CR, MACGREGOR H, CASSIDY G, TINNEY R, POMPEI F. Effects of temperature on bleeding time and clotting time in normal male and female volunteers. *Critical Care Medicine*, 23: 698-704, 1995.
  54. LUNA GK, MAIER RV, PAVLIN EG, ANARDI D, COPASS MK, ORESKOVICH MR. Incidence and effect of hypotermia in seriously injured patients. *The Journal of Trauma*, 27: 1014-1018, 1987.
  55. PERKINS JG, CAP AP, WEISS BM, REID TJ, BOLAN CE. Massive transfusion and nonsurgical hemostatic agents. *Critical Care Medicine*, 36: S325-S339, 2008.
  56. WOLBERG AS, MENG ZH, MONROE DM, HOFMANN M. A systematic evaluation of the effect of temperature on coagulation enzyme activity and platelet function. *The Journal of Trauma*, 56: 1221-1228, 2004.
  57. ZHANG JN, WOOD J, BERGERON AL, MCBRIDE L, BALL C, YU Q, PUSİTERİ AE, HOLCOMB JB, DONG JF. Effects of low temperature on shear-induced platelet aggregation and activation. *The Journal of Trauma*, 57: 216-223, 2004.
  58. MICHELSON AD, MACGREGOR H, BARNARD MR, KESTIN AS, ROHRER MJ, VALERI CR. Reversible inhibiting of human platelet activation by hypotermia in vivo and in vitro. *Thrombosis and Haemostasis*, 71: 633-640, 1994.
  59. YOSHIRA H, YAMAMOTO T, MIHARA H. Changes in coagulation and fibrinolysis occurring in dogs during hypotermia. *Thrombosis Research*, 37: 503-512, 1985.
  60. REED RL, BRACEY AW, HUDSON JD, MILLER TA, FISCHER RP. Hypotermia and blood coagulation: dissociation between enzyme activity and clotting factor levels. *Circulatory Shock*, 32: 141-152, 1990.
  61. ROHRER MJ, NATALE AM. Effect of hypotermia on the coagulation cascade. *Critical Care Medicine*, 20: 1402-1405, 1992.
  62. TÖBÜ M. Erişkinlerde antikoagülan tedaviler. *Türk Hematoloji Derneği-Temel Hemostaz Tromboz Kursu, Bolu, Kurs Kitapçığı: 79-84, 2007.*



63. SEYEDNEJAD H, IMANI M, JAMIESON T, SEIFALIAN AM. Topical haemostatic agents. *British Journal of Surgery*, 95: 1197-1225, 2008.
64. ERSOY G. Koyunlarda arteria ve venae femoralis kesisi ile oluşturulan deneysel kanama modelinde, lokal chitosan lineer polymer (Celox®) uygulamasının hemostaz süresi ve etkinliği üzerine etkisi. VI. Travma ve Acil Cerrahi Kongresi Bildiri Kitabı, Antalya, 2007.
65. GUSTAFSON SB, FULKERSON P, BILDFELL R, AGUILERA L, HAZZARD TM. Chitosan dressing provides hemostasis in swine femoral arterial injury model. *Prehospital Emergency Care*, 11: 172-178, 2007.
66. BAKER SE, SAWVEL AM, ZHENG N, STUCKY GD. Controlling bioprocesses with inorganic surfaces: layered clay hemostatic agents. *Chemistry of Materials*, 19:4390-4392.

## TEŞEKKÜR

Başta doktora programımızın düzenlenmesi konusunda büyük emekleri olan, gerek Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü döneminde gerekse Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve her şeyden öte değerli bir öğretim üyesi olarak her zaman olumlu desteklerini hissettiren ve hep arkamızda duran Prof. Dr. Kasım Özlük' e, bu tezin oluşturulmasındaki katkılarından ve sınımsız ilgisinden dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Naciye İşbil Büyükcoşkun' a, doktora programım boyunca bölümden ayrı kaldığım zamanlarda desteklerini esirgemeyen başta bölüm başkanı Doç.Dr.Erol Armağan olmak üzere Acil Tıp Anabilim Dalı' nın tüm çalışanlarına, tez konusunda bana esin kaynağı olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Gürkan Ersoy' a, deneyler aşamasında en büyük yardımcım Uzm. Dr. Betül Çam Etöz' e, istatistiksel analiz işlemleri için Araş. Gör. Dr. Deniz Sığırlı' ya, eğitimime katkılarından dolayı Fizyoloji Anabilim Dalının tüm değerli öğretim üyelerine, bölümün tüm çalışanlarına, yaşam kaynağım kızıma ve her zaman yanımda olan sevgili eşime sonsuz teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Antalya' da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Isparta' da tamamladım. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi' nden 1991 yılında mezun olduktan sonra 9 yıl çeşitli yerlerde pratisyen hekimlik yaptım. 2000-2004 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalında uzmanlık eğitimimi tamamladıktan sonra, aynı bölümde uzman doktor olarak kaldım. 2006 yılında Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalında doktora eğitimime başladım ve 2007 temmuzunda yeterlilik sınavımı verdikten sonra tez çalışmalarına başladım ve 2009 haziran itibariyle tezimi tamamladım.

Evliyim ve 12 yaşında bir kız çocuğu annesiyim.