

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

KARIN FASYA DEFİKTLERİNE LİPEKTOMİ
MATERYALİNDEKİ ADİPOZ DOKU KAYNAKLI KÖK
HÜCRELERİN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. ELİF TUNCAY

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ASİYE PEREK

İSTANBUL-2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca yanında çalışmaktan onur duyduğum saygıdeğer hocam Anabilim Dalı Başkan'ı Prof.Dr. Ertuğrul Göksoy'a;

Tez konusunun belirlenmesinden tezin son aşamasına gelene kadar bana yol gösteren, çok değerli vaktini bana ayırarak destek ve yardımlarını esirgemeyen, cerrahi eğitimimde bana büyük katkıları olan sayın hocam Prof.Dr.Asiye Perek'e;

Tez çalışmalarım süresince beni laboratuvar çalışması konusunda eğiten ve bana laboratuvarlarını açarak yardımlarını esirgemeyen, değerleri vakitlerini ayıran sayın hocalarım Doç. Dr. Fatma Özbakır'a , Prof. Dr. Esin Aktaş'a, Uzm. Dr. Nuray Kepil'e;

Akademik kariyerime başladığım güne beri bana tecrübeleriyle ışık tutan cerrahinin teorik ve pratik prensiplerinin öğreten değerli hocalarıma teşekkür eder, minnet ve saygılarımı sunarım.

Yaşamım boyunca bana vermiş oldukları sonsuz destek ve sevgiyle çok şey borçlu olduğum sevgili anneme , babama ve kardeşime teşekkür ederim.

Çalışma İÜC BAP Birimi 32940 nolu proje tarafından desteklenmektedir.

Dr.Elif Tuncay

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
RESİMLER LİSTESİ	vi
GRAFİKLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
ÖZ	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Karın Duvari Anatomisi	2
2.1.1. Cilt ve Ciltaltı Doku.....	3
2.1.2.Kaslar	4
2.1.2.1.Eksternal Oblik Kas	4
2.1.2.2.İnternal Oblik Kas	4
2.1.2.3.Transversus Abdominis Kası	5
2.1.2.4.Rektus Abdominis Kası	5
2.1.2.5.Piramidal Kaslar	5
2.1.3.Rektus Kılıfı	5
2.1.4.Transvers Fasya	6
2.1.5.Periton	6
2.1.6.Karın Duvarinin Damar Ve Sinirleri	7
2.1.6.1.Arter, Ven Ve Lenfatik Drenajı	7
2.1.6.2.Sinirler.....	8
2.2.Karın Duvarı Fıtıklar.....	9
2.2.1.Primer Ventral Herniler	9
2.2.2. Parastomal Herni	10

2.2.3.Lomber Herni	10
2.2.4.İnsizyonel Herniler	10
2.3.Meş Materyalleri	12
2.4.Kök Hücreler	13
2.4.1.Mezenkimal Kök Hücreler	15
2.4.2.Adiposit Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreleri	16
2.4.3.Doku Mühendisliği	17
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1.Deney Hayvanlarının Bakımı.....	20
3.2.Deneyde Kullanılan Malzemeler.....	21
3.3.Cerrahi Hazırlık.....	22
3.4.Lipektomi İşlemi	22
3.5.İnsizyonel Herni Modeli Oluşturulması	23
3.6.MKH Elde Edilmesi.....	24
3.7.ADKKH içeren PBS'lerin İnsizyon Hattına Enjeksiyonu	26
3.8.Flow Sitometrik Analiz ile Mezenkimal Kök Hücre Oranlarını Belirlenmesi.....	26
3.9.MKH'leri Kültüre Alınması ve Pasaj İşlemi Sonrası Flow Sitometrik Analiz ile Mezenkimal Kök Hücre Oranlarının Belirlenmesi	27
3.10.Histopatolojik Değerlendirme	27
3.11.İstatiksel Analiz	28
4. BULGULAR.....	30
4.1.Adipoz Doku Kaynaklı Kök Hücrelerin Kültür Öncesi ve Sonrası Flow Sitometrik Analizi	29
4.2.Defekt Açıklığının Makroskopik Değerlendirilmesi	33
4.3.Fıtık İyileşmesinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi	34
4.3.1.Granülasyon (Hücresellik)	36
4.3.2.Kapiller Dansite	38
4.3.3.Kollajen Organizasyonu	40
4.3.4.Fibrozisin Değerlendirilmesi	42
4.3.5.Inflamatuvar Hücreler	43
4.3.6.Yapısal Distorsiyon	45
4.3.7.Adiposit/Bağ Dokusu Oranı	46

5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ	53
7. KAYNAKLAR	54



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1-Fıtık oluşumunda etkili risk faktörleri.....	11
Tablo 2-Biyomateryallerin ideal özellikleri.....	12
Tablo -3 Deneyde kullanılan sarf malzemeler.....	22
Tablo-4 Deneyde kullanılan enzimler.....	22
Tablo-5 Deneyde kullanılan anestezi ve antiseptik ajanlar	23
Tablo-6 Defekt alanının makroskopik değerlendirilmesi.....	34
Tablo -7 Grup I’de meydana gelen histopatolojik değişiklikler	35
Tablo-8 Grup II’de meydana gelen histopatolojik değişiklikler.....	36
Tablo-9 Grup III’de meydana gelen histopatolojik değişiklikler.....	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1-2: Karın ön duvarı anatomisi.....	3
Şekil 3a: Linea arcuata üstü karın duvarı kesitsel anatomisi.....	6
Şekil 3b: Linea arcuata altı karın duvarı kesitsel anatomisi.....	7



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1-2: Ters Y insizyonu, inguinal bölgeden lipektomi işlemi.....	23
Resim 3-4: İnsizyonel herni modelinin oluşturulması.....	23
Resim 5-6:Adipoz dokunun mekanik parçalanması ve süspansiyon haline getirilmesi..	24
Resim 7-8: Süspansiyonun hücre süzgecinden geçirilmesi , serum vasküler fraksiyon eldesi.....	25
Resim 9: MKH süspansiyonunun fitik kenarlarına enjeksiyonu.....	26
Resim 10: Lipektomi materyalinden hazırlanan serum vasküler fraksiyonun 0.gün mikrofotografı Siyah oklar: iğsi mezenkimal kök hücreler.....	29
Resim 11: Kültür flaskına alınan mezenkimal kök hücrelerinin mikrofotografı (1.gün)	29
Resim 12-14: 10 günlük pasajlama işlemi süresince çoğalan mezenkimal kök hücrelerin mikrofotografıları.....	30
Resim 13: Grup I (kontrol)'de fitik hattında oluşan granülasyon dokusu (HEx400).....	30
Resim 14: Grup II' de fitik kenarında oluşan granülasyon dokusu (HEx400).....	30
Resim 15: Grup III' te fitik hattında oluşan granülasyon dokusu (HEx400).....	37
Resim 16: Grup I' de fitik hatında oluşan kapillerler (HEx400)	37
Resim 17: Grup II' de fitik hattında oluşan kapillerler (HEx400)	38
Resim 18: Grup III' te fitik hattında oluşan kapillerler (HEx400)	39
Resim 19: Grup I' de fitik hattına dağınık demetler halinde kollajen lifleri (Massonx400)	39
Resim 20: Grup II'de fitik kenarında düzgün dağılımlı kollajen lifler (Massonx400)....	40
Resim 21: Grup III' te fitik hattına düzgün dağılımlı kollajen lifleri (Massonx400).....	41
Resim 22: Grup I' de fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)	41

Resim 23: Grup II' de fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)	42
Resim 24: Grup III' te fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)	46
Resim 25: Grup II' de fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)	47
Resim 26: Grup III' te fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)	47



GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1: Flow sitometrik analiz kültür öncesi (KX(-)) ve sonrası (KX(+)) yüzey marker oranlarının karşılaştırması.....	31
Grafik 2-3-4: Kültür öncesi adiposit doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin flow sitometrik analizi.....	31-32
Grafik 5: Kültür sonrası adiposit doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin flow sitometrik analizi.....	32
Grafik 6-7-8: Defekt açıklığı	33
Grafik 9-10-11: Granülasyon oranları.....	36
Grafik 12-13-14: Kapiller dansite oranları.....	38
Grafik 15-16-17: Kollagen organizasyonu.....	40
Grafik 18-19-20: Fibrozis gradient.....	42
Grafik 21-22-23: T Lenfosit oranları	43
Grafik 24-25-26: Plasma hücre oranları.....	45
Grafik 27-28-29: PMNL oranları.....	45
Grafik 30-31-32: Yapısal distorsiyon.....	45
Grafik 33: Adiposit/ bağ dokusu oranı	46

KISALTMALAR

ADKKH: Adipoz doku kökenli kök hücre

DM: Diabetes mellitus

KOAH: Kronik obstruktif akciğer hastalığı

KİKKH: Kemik iliği kökenli kök hücre

SIAS: Spina iliaka anterior superior

CD: Cluster of differentiation

DMEM: Dulbecco's modified eagle medium

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor)

FACS: Floresan yardımcı hücre sayımı

FBS: Fetal bovine serum

G: Gauge

MKH: Mezenkimal kök hücre

Ort.: Ortalama

PBS: Phosphate buffered saline (Fosfat tamponlu serum fizyolojik)

SD: Standart deviasyon (Standard deviation)

ABAM: Antibiyotik antimikotik

MEM: Minimum essential media eagle

PMNL: Polimorf nüveli lökosit

ÖZ

Karın duvarı fitıklarının tedavisinde genellikle non-absorbabl meşler kullanılmaktadır. Ancak meşlerin doku uyumu ve enfeksiyon, adezyon, immünolojik reaksiyon, fistül, intestinal obstrüksiyon, perforasyon gibi ciddi komplikasyon riskleri mevcuttur. Komplikasyonları azaltmak için meşler ve doğal doku iskeleleri ile kök hücreler birleştirilerek fitık tamiri yöntemleri geliştirilmektedir. Ancak adipoz doku kökenli kök hücrelerin karın duvarı defektlerine direkt etkisini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Çalışmada 8-10 haftalık Wistar –Albino türü sıçanlar kullanıldı ve üç grup oluşturuldu. Birinci grupta (kontrol) sadece insizyonel herni modeli oluşturuldu. İkinci grupta insizyonel modeli oluşturuldu ve sıçanın inguinal bölgesinden alınan lippektomi materyali serum vasküler fraksiyon haline getirilerek defekt kenarlarına enjekte edildi. Birinci ve ikinci grup dört hafta sonra sakrifiye edildi. Üçüncü grupta insizyonel herni modeli oluşturulduktan iki hafta sonra, serum vasküler fraksiyon hazırlanarak defekt kenarlarına enjekte edildi. Sıçanlar enjeksiyondan dört hafta sonra sakrifiye edildi. Defektin içerisinde olduğu 5x5 cm fasya çıkartılarak makroskopik ve histopatolojik olarak incelendi.

Grup I'de plazma hücre oranı grup III'ten orta ve yüksek düzeyde istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.046$, $p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup I'de hafif düzeyde yapısal distorsiyon oranı grup III'ten anlamlı ($p=0.048$, $p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Defekt açıklığı grup I'de, grup II'ye oranla anlamlı ($p=0.02$) olarak yüksek saptandı. Grup I'de defekt açıklığı, grup III'e göre istatistiksel olarak anlamlı ($p =0.031$) derecede yüksek saptandı. PMNL infiltrasyonu grup III'te grup I'e göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.046$, $p < 0.05$).

Bu çalışma sonucunda, ADKHH'lerin insizyonel herni modelinde periton formasyonunu arttırıcı etkisi görülmüştür. ADKHH kullanılan altı haftalık grupta PMNL infiltrasyonu kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca yapısal distorsiyon kontrol grubunda ADKHH kullanılan altı haftalık grupta kontrol grubuna göre daha yüksek görülmüştür. Gruplar arasında granülasyon, kapiller dansite, fibröz gradient, kollajen dizilimi açısından farklılık ortaya çıkmamıştır.

Adiposit doku kökenli kök hücre eldesi; hazırlanması , uygulaması kolay güvenilir, maliyet etkin bir yöntemdir. Bu özellikleriyle ADKKH'lerin karın duvarı fıtıklarının tedavisinde kullanılması arzu edilse de ADKKH'lerin *in vivo* yara iyileşmesi üzerine etkisi kompleks bir süreçtir. Bu metod vaka ve veri sayısı sınırlı, daha önce denenmemiş bir çalışmadır. Bu alanda yapılacak daha çok sayıda deneysel çalışma ile ileride karın duvarı fıtıklarının tedavisinde canlı-doğal bir tedavi şekli geliştirileceğini düşünmekteyiz.



ABSTRACT

Non absorbable meshes are usually used in abdominal wall repair. However, meshes have increased risks of infection, adhesion, immunologic reaction, fistula, intestinal obstruction, perforation, tissue incompatibility. To reduce the complications, combination of mesenchymal stem cells and natural tissue scaffolds or meshes are being developed in hernia treatment. However, no study investigating the impact of adipose derived stem cells (ADSCs) to abdominal wall repair have been found in literature.

In this study 8-10 week old Wistar Albino model rats were used and three groups were formed. In the first group (control), an incisional hernia model was formed. In the second group, an incisional hernia model was formed and serum vascular fraction that was subtracted from lipectomy material that was harvested from inguinal area was injected to the defect edges. After one month, the first and second groups were sacrificed. In the third group, two weeks after the incisional hernia was created, serum vascular fraction was injected to the defect edges. After one month, rats were sacrificed, 5x5 cm fascia containing the defect was removed and evaluated macroscopically and histopathologically.

In group I plasma cell rate was statistically higher than group III at the medium and high level ($p=0.046$, $p < 0.05$). In group I at medium level constitutional distortion was statistically higher than group III ($p=0.048$, $p < 0.05$). In group I defect gap was statistically higher than group II ($p=0.02$). In group I defect gap was statistically higher than group III ($p =0.031$). In group I PMNL was statistically higher than group III.

The results of this study showed that ADSCs increases periton formation in incisional hernia model. In the group ADSCs used and waited for six weeks, PMNL infiltration was lower than control group. And constitutional distortion was higher in control than the group ADSCs used and waited for six weeks. There is no difference between the groups in granulation, capillary density, fibrous gradient, collagen sequence.

Harvesting, preparing and administration of adipose derived stem cells are easy, safe and cost effective technique. Even though they have these properties, it is a

complex procedure on the effect of wound healing *in vivo*. This study has limited cases and number of studied subjects, and also it hasn't been used on humans. Furthermore, viable alternative methods using ADCs for abdominal wall repair can be developed with more experimental studies.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karın duvarı fitikleri özellikle insizyonel herniler önemli bir klinik problem oluşturmaktadır. Karın ön duvarı hernileri tüm hernilerin %90'ını oluşturur. İnsizyonel herniler ise karın duvarı fitiklerinin %2-11' ini oluşturmaktadır. Laparotomilerden sonra %10-20 insizyonel fitik gelişme riski mevcut. Yüksek riskli hastalarda (DM; KOAH, obezite, steroid kullanımı vs.) insizyonel herni onarımlarından sonra %51 oranında insizyonel herni rekurrensi bildirilmiştir. Tedavide non-absorbl sentetik materyaller ile herni tamiri dünyada en çok kullanılan tekniktir. Meşlerin kullanımı ile insizyonel herni nüksü %4-5'e inmektedir. Fakat bu materyaller postoperatif dönemde enfeksiyon, kronik ağrı ,herni rekurrensi, barsak adezyonları, obstruksiyonları ve gastrointestinal fistüllere neden olabilmektedir. Bu komplikasyonları azaltabilmek için fitik tamirinde doğal biyomateriyaller geliştirilmiş; ancak nüksü önlemede tek başına yetersiz kalınca canlı doku iskeleleri ile kök hücrelerin birleştirilmesi gündeme gelmiştir (1,2,3).

Kök hücreleri kendini yenileme özelliğine sahip, birçok hücre serisine farklılaşabilen ve matur diferansiye hücrelere dönüşebilen hücrelerdir. Yağ dokusu (adipoz doku) doku mühendisliği ve rejeneratif tıp için zengin ve ulaşılabilir bir multipotent yetişkin kök hücre rezervi sunmaktadır. Lipektomi materyalinin kollajenaz enzimi ile sindirimi sonucu elde edilen serum vasküler fraksiyon mezenkimal kök hücrelerden oluşur. Adipoz doku kaynaklı kök hücreleri mezoblast hücre orijinli multipotent özellikte olup liposit, kondrosit, osteoblast, myoblast gibi birçok hücre türüne farklılaşma kapasitesine sahiptir. Multipotent özellikte bir kök hücre kemik iliği, umbilikal kord kanı gibi farklı yollarla elde edilebilir olmasına rağmen elde etme güçlüğü ve etik problemlerden ötürü adipoz doku kaynaklı kök hücrelere ulaşmak daha kolay, kullanılabilir, maliyet etkin bir yöntemdir (1,2,6-10).

Bu çalışmada adipoz doku kaynaklı kök hücreleri içeren yağ dokusunun serum vasküler fraksiyon haline getirilerek adipoz doku kaynaklı kök hücre elde edildi. Fasya defekti oluşturulan gruplardan birine defekt oluşturulduğu gün, diğer gruba defekt oluşturulduktan iki hafta sonra serum vasküler fraksiyon defekt kenarlarına enjekte edilerek kök hücrelerin fasya defektinin kapanması üzerindeki etkisine bakılması planlandı. Abdominal herni tamirlerinde sentetik materyallerin kullanımına bağlı komplikasyonlara karşı alternatif yöntemlerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. (1,3-7)

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Karın Duvarı Anatomisi

Karın duvarı yukarıda ksifoid process, kot kenarları; aşağıda pıbis, krista iliaka, ligamentum inguinale; arkada omurga tarafından sınırlanır. Karın duvarı çok katlı muskuloaponevrotik yapıda segmental innerveasyonu ve kanlanması olan kompleks bir yapıdır. Karın ve retroperitoneal yapılar için koruma ve destek sağlar. Karın kasları solunumu destekler; miksiyon, öksürme, defekasyon, doğum sırasında karın içi basıncı arttırarak yardımcı olur.

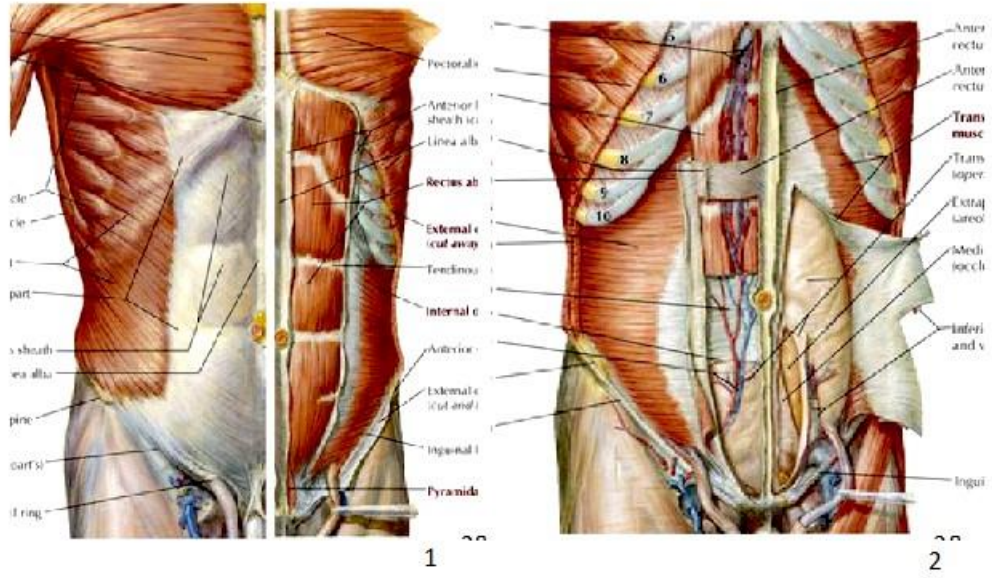
Karın duvarı yüzeyden derine doğru dokuz tabakadan oluşur: cilt, subkutan doku, yüzeysel fasya, eksternal oblik kas, internal oblik kas, transversus abdominis kası, transversal fasya, preperitoneal yağ dokusu ve periton. Arka duvarı musculus quadratum lumborum kapatır. Musculus iliopsoas arka duvarı destekler.

Karın ön duvarı orta hatta üç kasın liflerinin çapralanmasıyla oluşan fibröz bir doku olan linea alba ile ikiye bölünür. Linea alba çöküntüsü göbek seviyesinin üzerinde daha belirgin görülür. Epigastriumda geniş, göbekte en geniş, göbeğin altında dardır.

Göbek linea albanın üst 3/5'i ile alt 2/5' i arasında, L3-L4 intervertebral hizada yer alır. Gebeliğin altı ve onuncu haftaları arasında karın içi organlar daha hızlı büyüdüğü için eksosölomik peritoneal boşluğa doğru yer değiştirirler. Onuncu haftada karın içi kavite yeterince genişlediği için organlar tekrar karın boşluğuna dönerler.

Linea semilunaris 9.kostadan başlayıp rektus kasının lateral sınırı boyunca vertikal bir hat halinde ilerleyerek göbek altında mediale yönelerek tuberkulum pubikumda sonlanır.

Anatomik yapı yetersizliğinden dolayı fıtık gelişme potansiyeli yüksek, sınırları kesin alanlar vardır. Bunlar inguinal ve femoral kanallarla ilişkili olarak kasık bölgesi başta olmak üzere umbilikus, epigastrium, canalis obturatorius, foramen ischiadicum majus ve minus, perine, pelvis yan duvarı, Spiegel hattı, trigonum lumbale dir (8).



Şekil 1-2: Karın ön duvarı anatomisi (9)

2.1.1. Cilt Ve Ciltaltı Doku

Derideki elastik ve kollagen liflerin dağılımı ile meydana gelen çizgilere Langer çizgileri denir. Karında genellikle hafif bir kurvatura çizerek transvers doğrultuda ilerler. Uygun yara iyileşmesi için bu çizgilere paralel insizyonlar seçilmelidir.

Cilt altında areolar doku ve fasya vardır. Yüzeysel fasya karın bölgesinde yüzeysel yağlı tabaka (Camper fasyası); derin, elastic, membranöz tabaka (Scarpa fasyası) şeklinde bilaminar halde görülebilir. Scarpa fasyası infantlarda daha gelişmiştir. Scarpa fasyası inguinal ligamanın iç yarısına , krista iliaka'ya, uylukta fasya lata ile toraks ve sırtta yüzeysel fasya ile devamlılık gösterir. Pubis bölgesinde daha fazla elastik doku içeren bir bant halinde aşağı inerek ligamentum suspensorium penis olarak sonlanır. Penis ve skrotumun üzerinde ince bir tabaka olarak izlenebilir. Skrotumun arkasında ise perinenin yüzeysel fasyasının derin yaprağı (Colles fasyası) ile birleşir. Gallaudet fasyası ise karın duvarını örten derin fasyadır (8).

2.1.2.Kaslar

2.1.2.1.Eksternal Oblik Kas

Son sekiz kostanın dış yüzünden başlayan lifleri serratus anterior ve latissimus dorsi kasından köken alır. Aşağıda iliak krete tutunurken; mediale seyreden lifleri tendinöz aponevrotik bir hale gelir. Ve internal oblik kasın aponevrozu ile birleşerek ön rektus kılıfını yapar, orta hatta lineae albaya tutunur. Aponevroz yukarıda kısmen incedir ve liphoïd process'e tutunur. Aşağıda ise güçlüdür ve üst dışta SİAS'a alt içte tuberkulum pubikum'a tutunan inguinal ligamanı(poupart ligamanı) yapar. Aponevroz göbekte en dar, aşağıda en geniş, epigastrik bölgede yine genişir.

Aponevroz pubisin hemen üzerinde annulus inguinalis superfisialis denilen üçgen şeklinde bir açıklık oluşturur. Bu açıklıktan kadında ligamentum teres uteri (round ligamenti); erkekte spertik kord geçer. Üçgenin tabanını eksternal oblik aponevrozunun tuberculum pubicum ve krista pubikaya uzanan lifleri yapar.Üçgenin tepesi SİAS'a doğrudur. %80 olguda üçgenin tepesi alt karnın medial yarısında iken geri kalan kesimde lateral yarısındadır. %2 olguda ise içerisinden iliohypogastrik sinirin geçebildiği aksesuar yarıklar mevcuttur. Eksternal oblik akas aponevrozu inguinal bölgede SİAS'a ve tuberkulum pubikum ile ligamentum lakunare ve ligamentum refleksüm aracılığı ile iliopektineal hatta tutunur. Ligmanetum refleksüm yüzeyel halkanın üst krusunun arkasında ilerleyerek linea albaya tutunur. İliopektineal hat ile rektus kası lateralil arasındaki potansiyel boşluğu kapatır (8).

2.1.2.2 İnternal Oblik Kas

İnternal oblik kas, krista iliaka'nın ön 2/3, inguinal ligmanın lateral 2/3 ve torakodorsal fasyadan köken alır. Supero medyal seyirle son altı kostanın alt kenarı , liphoïd process, linea albaya aponevroz yaparak sonlanır. Rektus kası kılıfının oluşumuna katılır.

Karnın alt bölümünde göbekte pubis arasındaki orta noktanın (linea arcuata) altında aponevroz bölünmeden rektus kasının önüne geçerek eksternal oblik kasın aponevrozu ile birleşir. Linea arcuata'nın üzerinde ise internal oblik kas aponevrozu iki yaprağa ayrılır. Ön yaprak eksternal oblik kas aponevrozu ile arka yaprak transvers kası aponevrozu ile birleşerek rektus kılıfını oluşturur.

İnternal oblik kasın inguinal ligamentten başlayan lifleri transversus abdominis

kasının alt lifleri ile rektus kası lateralinde birleşerek tendon konjuan halinde krista pubikaya, ligamentum reflexum'a ve iliopektineal hatta tutunur. Spermatik kord internal oblik kasın medial kenarına komşu veya kasın içerisinden geçer. Bazı kas lifleri kordu saran kremaster kasını oluşturur.

2.1.2.3. Transversus Abdominis Kası

Üç yassı kas arasında en derinde olanıdır. Lumbosakral fasyadan, krista iliaka'nın 2/3 ön bölümünden başlar. Son altı kostada diyafram lifleri ile birleşir. Aşağıda aşağıda ark yaparak krista pubica ve iliopektineal hatta; ortada linea albaya tutunur. Liflerinin çoğu transvers seyirlidir. Eksternal ve iliak oblik kaslara kıyasla daha fazla aponevrozdan oluşur. Linea arkuatanın altında ön rektus kılıfına; üzerinde ise arka rektus kılıfının oluşumuna katılır.

Tendon konjuan'ın %80'ini transversus abdominis kası oluşturur. Tendon konjuan iliopektineal hatta tam olarak tutunuyorsa arka duvar desteklenir; aksi takdirde direct fitik gelişme olasılığı artar (8).

2.1.2.4. Rektus Abdominis Kası

Rektus kası 5, 6. kosta kartilajı ve ksifoid process superiorundan başlayıp orta hatta rektus kılıfı içerisinde uzunlamasına seyrederek pubik kemiğe insersiyoyu yapar. Lateral kenarını linea semilunaris oluşturur. Üzerinde intersektio tendinea denilen transvers fibröz bantlar bulunur (8).

2.1.2.5. Piramidal Kaslar

Karın ön duvarının alt kısmında bulunan rektus kılıfı içerisinde üçgen şeklinde kaslardır. Superior pubik ramustan başlar ve linea albaya tutunur. Olguların %10'unda yoktur (8).

2.1.3. Rektus Kılıfı

Linea arcuata'nın üzerinde ve altında iki farklı organizasyon gösterir. Arkuat line üzerinde ön kılıf eksternal oblik kas aponevrozu, internal oblik kas aponevrozunun lamina anterior'u; arka kılıf ise internal oblik kas aponevrozunun lamina posterior'u ve transvers abdominis kası aponevrozu tarafından oluşturulur. Arkuat line altında ise internal kas aponevrozu bölünmeden transversus abdominis kası ile birlikte rektus abdominis kasının önüne geçerek eksternal oblik kas aponevrozu ile birleşir ve ön kılıfı meydana getirir. Arkuat line üzerinde

ve altında arka duvarı transvers fasya (endoabdominal fasya) destekler. Ancak arkuat line altında arka duvarı destekleyecek aponevrotik bir oluşum bulunmamaktadır (10).

2.1.4. Transvers Fasya

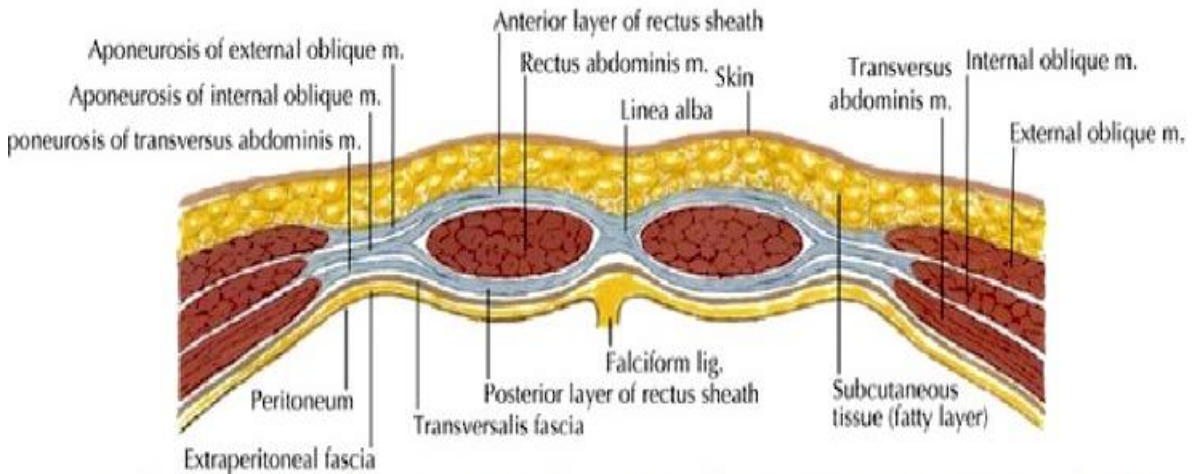
Transvers fasya veya endoabdominal fasya transversus abdominis kası arkasında kesintisiz uzanır. Yukarıda göğüs kafesine aşağıda pelvis iskeletine tutunur.

Transvers fasya'nın SİAS ile pubis arasında kalınlaşmış bir kısmına iliopubik traktus veya Thomson bağı denir. İliopubik trakt medialde ramus ossis pubis boyunca geniş bir alanda iliopektineal hatta tutunur (Cooper ligamenti).

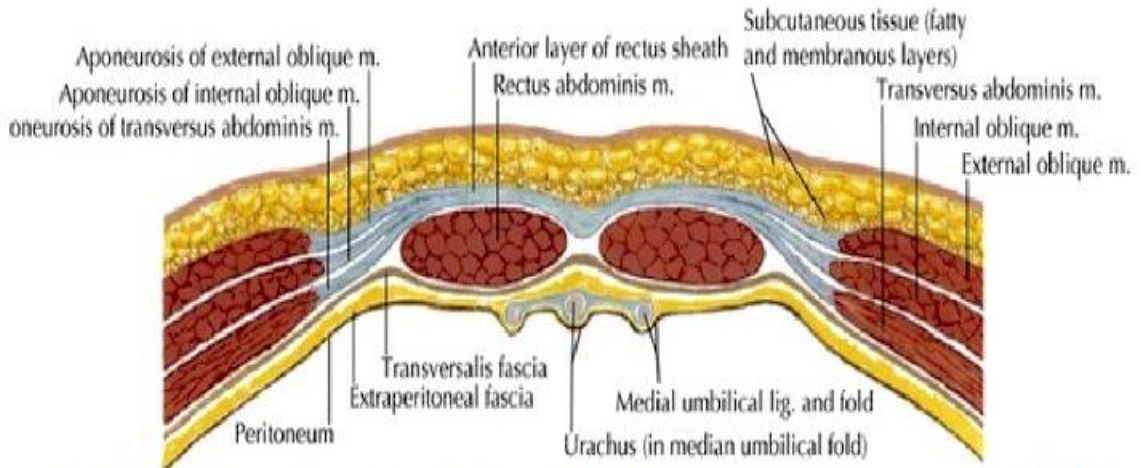
Transvers fasya anulus inguinalis profundusta spermatic kordun etrafını saran iç spermatic fasya olarak devam eder. İnguinal ligamanın altında ise aşağı doğru inerek femoral damarları saran vagina femoralis'i oluşturur (8,10).

2.1.5. Periton

Tek katmanlı serozal yapıdır. Transvers fasya ile arasında yağ dokusu, bağ dokusu, membranöz doku, arter, ven, sinir gibi anatomik yapıları içeren preperitoneal doku bulunur. Karın ön duvarında beş adet peritoneal plika bulunur. Plica umbilicalis mediana mesane ile umbilikus arasında orta hatta uzanan plikadır. Altında oblitere urachus bulunur. Plica umbilicalis medialis , meidan plikanın her iki tarafında bulunur.İçerisinde a.umbilicalis'in artığı olan chorda arteria umbilicalis bulunur. Plica umbilicalis lateralis'ler her iki tarafta medial ligamentlerin dış yanında bulunurlar. İçerisinde arteria epigastrica inferior vardır.



Şekil 3a: Linea arcuata üstü karın ön duvarı kesitsel anatomisi (11)



Şekil 3b: Linea arcuata altı karın ön duvarı kesitsel anatomisi (11)

2.1.6. Karın Duvarının Damar Ve Sinirleri

2.1.6.1. Arter, Ven Ve Lenfatik Drenajı

Karın duvarının kanlanması göbek seviyesinin üzerinde superior epigastrik damar (a.subclavia'nın a.thoracica interna dalının devamı), muskulofrenik arter (a.thoracica interna'nın dalı), intercostal arterler; göbek seviyesinin altında ise inferior epigastrik damar (a.iliaca eksterna'nın dalı), a.circumflexa ileum profunda, yüzeysel arterler (a.circumflexa ileum superficialis, a.epigastrica superficialis, a. pudenda interna superficialis olup üçü de femoral arterin dalıdır.) tarafından sağlanır. Superfisiyal arterler cilt, ciltaltı dokular, eksternal oblik kasın aponevrozu ve ön rektus kılıfını beslerler. Ayrıca bunlar intercostal ve lumbal arterler ile kollateral ağ oluştururlar.

Inferior epigastrik arter, eksternal iliak arterden çıkarak anulus inguinalis profundus'un medial kenarından, funiculus spermaticus'un altından geçer. Yukarı doğru ilerler. Arkuat line hizasında rektus kası lateral kenarından arka rektus kılıfına girer. Karın duvarını besleyen major arterdir. Umbilikus hizasında inferior epigastrik arter a.thoracica interna'nın uç dalı olan superior epigastrik arter ile anastomoz yapar. Bu anastomoz subklavian ve iliak arter arasında kollateral dolaşım sağlanmış olur. Peritonun inferior epigastrik arter üzerinde oluşturduğu katlantıya plica lateralis denir. A.epigastrica inferior a.obturatoria ile anastomoz yapan ramus pubicus (corona mortis) dalı ve inguinal kanal içerisine giren a.cremasterica dalını verir. Hesselbach üçgeninin lateral kenarını oluşturur. Fıtık boynu direk hernilerde bu arterin medialinden, indirek hernilerde lateralinden çıkar.

Karın duvarının venöz drenajı arteriyel dolaşıma eşlik eder. Üst karında vena subclavia'ya; alt karında vane iliaca e1terna'ya drene olmaktadır.

Lenfatik drenaj göbek seviyesinin üzerinde ağırlıklı olarak ön aksiller lenf nodlarına daha az sıklıkla internal mammarian zincire; göbek seviyesinin altında ise yüzeysel inguinal lenf nodlarına olmaktadır (8,10).

2.1.6.2. Sinirler

Anterolateral karın duvarının innervasyonu segmentaldir. 7 ve 3. Intercostal sinirler tarafından innerve edilir. Bazen 5 ve 6. Intercostal sinirler de dahil olabilir. İnetrkostal sinirler eksternal oblik kasını innerve eden , üzerindeki deri duyusunu alan ön dal ve latissimus dorsi kası üzerinde arkaya giden küçük bir dal veren lateral dal ile rektus ve internal oblik kas arasında öne doğru seyrederek orta hatta yakın rektus kılıfından çıkarak yüzeyleşen anterior dala ayrılırlar. Göbek ve çevresinin duyusu T10 tarafından innerve edilir.

İliohypogastrik sinir T3-L1 spinal sinirlerden köken alır. Quadratus lumborum kasının önünde seyreder. Eksternal oblik kas, internal oblik kas ve transversusu abdominis kası için motor lifler taşır. İliohypogastrik sinirin lateral kutanöz dalı uyluk üst dış bölümünün; anterior kutanöz dalı ise suprapuik bölgenin deri duyusunu alır.

İlioinguinal sinir l1 spinal sinirden köken alır. Quadratus lumborum kasının önünde seyreder. Eksternal oblik kas, internal oblik kas ve transversusu abdominis kası için motor lifler taşır. İlioinguinal sinir inguinal kanala girer ve anulus inguinalis superfisialisten kanalı terk eder. Anterior skrotal (veya labial) dalları skrotum derisinin ve uyluk üst bölgesinin medialinde küçük bir alanın innervasyonunu yapar.

Genitofemoral sinir L1-L2 spinal sinirlerden köken alır. Psoas major kası üzerinde seyreder. İnguinal kanala gelmeden r.genitalis ve r. femoralis dallarına ayrılır. Ramus genitalis inguinal kanala girer. Skrotumun deri duyusunu taşır ve kremaster kasını innerve eder. Ramus femoralis inguinal ligamentin altından vagina femoralis'e (lacuna vasorum) girer ve femoral üçgenin deri duyusunu taşır.

Lateral femoral kutanöz sinir L2-3 spinal sinirlerden köken alır. Muskulus iliacus üzerinde seyreder. İnguinal kanalın altından lacuna musculorum'a girer. Uyluk ön dış

yüzünün deri duyusunu taşır. Bu sinirin hasarı durumunda uyluk anterolateralinde ağrı ve parestezi ile giden ‘meralgia paresthetica’ denilen durum ortaya çıkar (8).

2.2. Karın Duvarı Fıtıkları

İntraabdominal yerleşimli organların tamamının veya bir kısmının karın duvarında oluşmuş bir defektten muskuloaponevrotik katmanları aşarak ciltaltı dokuya yer değiştirmesidir. Karın ön duvarı hernileri tüm hernilerin %90’ını oluşturur. Bunların %75’i inguinal, %10’u insizyonel, %3 ü umbilikaldir. Karın duvarı fıtıkları lokalizasyonu ve etiyojisine göre sınıflandırılmaktadır. Ventral herniler karın duvarı yapısının yapısal bozulması (primer) veya insizyonun yeterince iyileşmemesine (insizyonel herni) bağlı olabilir.

2.2.1. Primer Ventral Herniler

Epigastrik Herni: Ksifoid ile umbilikus arasında orta hatta bulunurlar. İçerisinde ekstraperitoneal yağ dokusu veya omentum ya da falsiform ligamentin bir bölümü bulunabilmektedir. Çoğunlukla küçük ve çok sayıdadır. Erkeklerde kadınlara göre üç kat daha sık görülürler. 20-50 yaşlar arasında görülme sıklığı artar. Tüm karın duvarı fıtıklarının %1.6-3.6’ sını oluştururlar (12,13). Atlet , asker gibi yoğun fiziksel aktivitede bulunan genç erişkinlerde sıktır. Patogenezinde lateral karın duvarı kasları tendinöz liflerinin linea albada çaprazlaşma kusuruna bağlı konjenital zayıflık olması sorumlu tutulmaktadır. Çoğunlukla asemptomatiklerdir. Semptomatik olanlarda karın ağrısına viseral semptomlar eşlik edebilir. Çoğunlukla peptik ülser, kolesistolitiazis gibi karın içi patolojilerin teşhisi atlanabilir. Barsak inkarserasyon, strangulasyonu ise nadirdir. Tedavide karın duvarında başka bir defekt şüphesi yoksa transvers kesi veya vertikal kesi ile primer tamir; >3 cm’den büyük fıtıklarda mesh ile tamir yapılır (10,14).

Umbilikal Herni: Umbilikal herniler umbilikal kord kalıntısı olan skatelize dokudan değil buna komşu linea alba liflerinin arasından çıkar (8,15). Konjenital veya edinsel olabilir. Konjenital olanlar 5 yıl içerisinde kendiliğinden iyileşebilir. Kadınlarda erkeklere göre daha sık görülür. Toplumda %32-50 kişide saptanır (16). Umbilikal hernilere çoğunlukla obezite, gebelik, asit, karın içi basınç artışı olan durumlar eşlik eder (8,17). Çoğunlukla küçük ve asemptomatiklerdir. Cerrahi tedavi semptomatik

olduklarında, inkarserasyon geliştiğinde önerilir. Erkeklerde inkarserasyon riski daha fazladır. Asiti olan hastalarda umbilikal herni onarımı asit kontrol altına alınana kadar ertelenebilir (10).

Spigelian Herni: Spigel hattında herhangi bir yerde olabileceği gibi daha çok arka rektus kılıfının olmadığı linea arcuata ve karın alt kısmında bulunurlar. Kadınlarda erkeklere oranla daha fazla; 40-70 yaşlarında daha sık görülmektedir. Tüm karın duvarı fitiklarının %1-2 sini oluştururlar. Spigel herniler asemptomatik olabileceği gibi ağrı ve inkarserasyonla bulgu verebilirler. Bazı çalışmalarda tanı anında %17 gibi inkarserasyon riski görülmüştür (18). Primer tamir veya mesh ile tamir yapılabilir (8).

2.2.2. Parastomal Herni

İleostomi, kolostomi stomaların etrafındaki fasya defektinden oluşur. Kolostomi açılan hastalarda parastomal herni sıklığı %5; para- ileostomi sıklılığı %5-10 arasında değişmektedir. Anatomik lokalizasyonuna göre interstisyel (katlar arası), intrastomal, ciltaltı, perstomal (prolapsus) sınıflandırılır. Meş ile tamir yapılır.

2.2.3. Lomber Herni

Bu bölgede ikiüçgen tariflenmiştir. Üst lomber üçgen (Grynfelt), tepesi iliak kanada bakan üçgendir. Üçgenin tabanını 3.kosta ,arka duvarını erector spina , ön kenarını internal oblik kas aponevrozu oluşturur. Alt lomber üçgenin (Petit) tabanını iliak kanat , arka sınırını latissimus dorsi kası, ön kenarı eksternal oblik kas aponevrozu yapar. Her iki üçgenin zeminini torakolomber fasya oluşturmaktadır. Meş ile tamir önerilmektedir.

2.2.4. İnsizyonel Herniler

Ameliyatların kesi yerlerinde görülen fitiklardır. Laparotomi insizyon hatkarında fitik oluşma sıklığı %10-20'dir (12). Tüm herniler arasında sıklığı %2-11 'dir. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülürler. Obezite, karın içi basınç artışına yol açan durumlar, yara iyileşmesinde bozukluk, geçirilmiş multiple operasyonlar, enfeksiyon insizyonel herni gelişimine neden olabilecek risk faktörleridir (Tablo1). En önemli risk faktörü obezite olarak gösterilmektedir. BMI> 30 olması fitik gelişme riskini arttırmaktadır. Yara yeri enfeksiyonu insizyonel gelişme riskini dört kat arttırmaktadır. Bazı çalışmalarda ilk yılda fitik gelişen

hastaların %60'ında yara yeri enfeksiyonu saptanmıştır. Laparotomide eski insizyon hattının kullanılması fitik gelişme riskini iki kat arttırmaktadır. Çalışmaların çoğunluğunda insizyonel hernilerin %56'sında ameliyattan sonraki birinci yılda %35'inde 5. yıldan sonra saptanmaktadır. Orta hat vertikal insizyonlar transvers seyirli liflerin tamamen ayırdığı için herni gelişme riskini artırır (19,20).

Tablo 1-Fıtık oluşumunda etkili risk faktörleri

1. Obezite
2. Yara yeri enfeksiyonu
3. İnsizyon tipi ve yeri
4. İleri yaş (>60 yaş)
5. Postoperatif pulmoner komplikasyonlar,
6. Eski insizyon skarının tekrar kullanılması
7. İnsizyondan drenaj tüplerinin çıkartılması
8. Abdominal distansiyon
9. Asit, periton diyaliz uygulanması
10. Gebelik
11. Teknik yetersizlikler
12. Malnutrisyon
13. KOAH
14. Prostatizm
15. Steroid kullanımı
16. Konstipasyon
17. Malignite, postoperatif kemoterapi-radyoterapi

Tedavide açık onarım, laparoskopik onarım; primer veya meşli onarım tercih edilebilir. Primer tamir <3 cm defektlere önerilmesine rağmen %43'lere varan nüks oranlarına sahiptir. 1990 yılında Ramirez tarafından component separasyon tekniği tariflenilmiştir. Bu teknikte anterior ve posterior rektus kılıfına defektin lateralinde bilateral kesi yapılarak rektus kaslarının 10 cm'e kadar mediale mobilizasyonu sağlanmaktadır. Komponent separasyon tekniği ile bir yıllık nüks %18,2 bildirilmiştir. Bu teknik laparoskopik uygulandığında enfeksiyon riskini oldukça azaltmaktadır. Komponent separasyon tekniği biyomateryaller ile birlikte kullanıldığında bir yıllık nüks %4' lere kadar

düşürülmüştür. Günümüzde meşler karın ön duvarında fasya üzerine (onlay), fasya altı periton üzerine (sublay), periton altına (underlay), fasya serbest ucu arasına (inlay), rektus kası arkasına (retrorektus) yerleştirilmektedir (12). Laparoskopik onarım ile daha düşük enfeksiyon ve daha hızlı fiziksel aktivite oranları saptanmıştır. Laparoskopik onarım multiple defektlerin varlığında diğer defektlerin atlanma ihtimalini ortadan kaldırmaktadır. Hastane yatış süresi kısa olmasına rağmen maliyeti daha fazladır (12).

2.3. Meş Materyalleri

Fıtık tamirinde materyal kullanımı ilk çağlara kadar uzanmaktadır. Sentetik protezler ise 1900'lü yıllarda kullanılmaya başlanılmış; en önemli gelişme ise monoflaman polipropilenin üretimidir. 1962'de Usher tarafından test edildikten sonra yaygın şekilde kullanılmaya başlanılmıştır (21,22)

Fıtık tamiri için geliştirilen tüm biyomateryallerde Cumberland ve Scales'in tanımladığı "ideal özelliklere" ulaşılması amaçlanmaktadır (Tablo 2) (22,23).

Tablo 2-Biyomateryallerin ideal özellikleri

<ul style="list-style-type: none">• Doku sıvıları ile fiziksel olarak etkileşmemeli• Kimyasal olarak inert olmalı• İnflamatuvar veya yabancı cisim reaksiyonuna yol açmamalı• Karsinojenik olmamalı	<ul style="list-style-type: none">• Alerji veya hipersensitiviteye yol açmamalı• Mekanik gerilmeye dayanıklı olmalı• İstenilen formlarda üretilebilmeli• Steril edilebilmeli
--	---

Meş materyalleri emilen ve emilemeyen; doğal veya sentetik olarak sınıflandırılmaktadır.

Doğal Yamalar: Dermal kollajen homogreftler, otojen dermal greftler, otojen fasiyal heterogreftler, liyofilize aortic homogreftler, cilt greftleri, korumalı dural homogreftlerdir.

Sentetik Yamalar: Naylon yama, teflon, karbon fiber, polipropilen, polivinil sponj, mersilen, vypro yama, expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) yama, polietilen yama, fluorosoft yama, filigr yama, paslanmaz çelik yamadır.

Emilebilir Sentetik Yamalar: Parietal yama, sepra yama, bard kompozit yama, soft tissue yama, poliglaktin, surgis, poliglikonik asit yamadır.

Meş materyallerinin porların boyutları ve ürünün kalınlığı, ürünün katılığını etkilemektedir. Porların boyutları operasyon sonrası skarlaşma ve adezyonu değiştirmektedir. Multiflaman material monofilaman materyale göre daha yumuşaktır ve daha az karın içi adezyon oluşumuna sebep olurlar. Genel olarak daha geniş porlara sahip monofilaman dokumalar, daha küçük porlara sahip multiflaman dokumalara göre daha dirençli adezyonlara neden olmaktadır. Porları < 10 mikron olan meşler enfeksiyon gelişimine daha yatkındır. Son dönemde çıkan üç boyutlu yamalar (3D) ise suture ve zımba tutuşunu arttırmakta, daha iyi esneklik sağlamaktadır (23,24).

Doğal meşler fibroblast aktivitesini daha fazla uyarmaktadırlar. Fibroblastlar yerleştirilen kollajen matris üzerine göç ederek neofasya oluştururlar. Doğal ürünlerin dezavantajı hızlı degradasyona uğramalarıdır. Bu amaçla barsak submukozasından bu ürünler 4-8 katmanlı hale getirilmiştir (24).

2.4. Kök Hücreler

Kök hücre kavramının ilk olarak bilim literatürüne girmesi Alman biyolog Ernst Haeckel tarafından 1868 yılında meydana gelmiştir. Franz Ernst Christian Neumann (1834-1918) kemik iliği üzerine yaptığı çalışmalar sonucu kemik iliğinin kan hücrelerini oluşturan organ olduğu tezini ileri sürmüştür. Kan fizyolojisi üzerine yoğunlaşan Alexandrowitsch Maximow (1874-1928) ise 1909 yılında hematopoetik kök hücre kavramını ortaya çıkarmıştır. 1902'de Hans Speamann semender blastomerlerini ayırmış ve her blastomerden yeni bir semender oluşturmuştur. Bu yöntemin keşfiyle klonlamanın temeli atılmış oldu. 1962 yılında John Gurdon kurbağa bağırsak epitel hücre çekirdeğini yumurta hücresine naklederek ilk somatik nükleer transfer metodunu geliştirmiş ve kurbağa yavrusu elde etmiştir. Benzer bir metotla Wilmut ve ark. memeli epitel hücresini klonlamış ve Dolly'nin doğumunu 1996 yılında rapor etmişlerdir. Fare embriyonik kök hücreleri ilk defa 1981 yılında iki farklı araştırmacı grubu tarafından, insan embriyonik kök hücresi ise ilk defa 1998 yılında Thomson ve ark. tarafından keşfedilmiştir (26,27,29).

Kök hücreler yüksek telomeraz aktivitesi sayesinde kendini yenileyebilme, sınırsız bölünebilme ve birçok hücre tipi ve dokuya farklılaşabilme yeteneğine sahip hücrelerdir.

Komşu hücre ve salgı proteinleri tarafından oluşturulan mikroçevre (niş), kök hücre sayısı ve farklılaşma durumunu kontrol altında tutmaktadır .

Kök hücrelerin üç temel fonksiyonel özelliği vardır.

- Kendini yenileme (Self Renewal): Hücrenin farklılaşma kapasitesini kaybetmeden ve senesces olmadan
- Farklılaşabilme (Plastisite)
- Özelleşmemiş hücrelerdir

Farklılaşma (plastisite) potansiyeline göre beş grupta ; izole edildikleri gelişim dönemine göre beş grupta incelenirler.

Farklılaşma (plastisite) kapasitesine göre:

1. Totipotent Hücreler: Zigot oluşumundan sonra ilk dört gün içinde blastokist aşamasına kadar oluşan tüm hücreler tek başına embriyo, embriyo dışı plasenta, amniotik membran gibi yapıları meydana getirebilecek potansiyele sahiptir.
2. Pluripotent Hücreler: Zigot oluşumundan sonraki 5. günden itibaren blastokistin iç hücre kitlesindeki embriyoblastlardır. Tüm germ tiplerine dönüşerek tüm organ ve dokuları oluşturabilirler. Ancak tek başlarına tüm organizmayı yeniden oluşturamazlar. Somatik hücrelerin yeniden programlanması ile elde edilen indüklenmiş pluripotent kök hücreler bu gruba girer.
3. Multipotent Hücreler: Tek bir germ tabakasındaki hücrelere farklılaşmaya programlanmış erişkin kök hücreleridir. Multipotent hücreler somatik hücreler olup mezenkimal ve hematopoetik kök hücreler bu gruba girer. Mezenkimal kök hücreler osteoblastlara, kıkırdak hücrelerine, yağ hücrelerine, sinir hücrelerine, kas hücrelerine dönüşebilirler. Hematopoetik hücreler myeloid hücreler, eritrositler, lenfositler gibi tüm kan hücrelerini oluşturabilirler.
4. Oligopotent Hücreler: Bulunduğu dokuda birkaç hücre grubunu oluşturabilen kök hücrelerdir. Myeloid ve lenfoid hücrelere dönüşebilen myeloid ve lenfoid progenitor hücreler bu gruba örnektir.

5. Unipotent Hücreler: Sadece tek bir hücre serisine dönüşebilen kendini yenileme özelliğine sahip genellikle bulunduğu dokudaki hasarı düzeltmekle görevli kök hücrelerdir. Örneğin kas dokusundaki kök hücreler olgun kas hücrelerine farklılaşırlar.

Günümüzde kök hücrelerin farklılaşmasının kontrolü üzerinde durulmaktadır. In vitro ortamda, farklılaşma uygun fiziksel ve kimyasal koşullarını sağlayacak kültür ortamının oluşturulması veya genetik programın değiştirilmesi ile sağlanabilir.(25,26,27)

Gelişim Dönemlerine Göre Kök Hücreler:

1. Embriyonik Kök Hücreler: Blastokist aşamasında izole edilirler. Pluripotent hücrelerdir. Embriyolojik kök hücrelerin izolasyonu sonrası ortamda uygun destek hücreleri , büyüme faktörleri varlığında farklılaşmaya yönelmektedir.
2. İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler: Somatik hücrelere transkripsiyon faktörleri (Oct ^{3/4}, So102, Klf-4, c-Myc,Yamanak faktörleri, OSKM faktörleri) ile yeniden programlanması (re-programming) sonucu elde edilen hücrelerdir. Embriyonik kök hücreler ile aynı özelliklere sahiptirler.
3. Somatik Kök Hücreler: Organizamda dokularda bulunan kendini yenileyebilme ve öncü hücrelere farklılaşabilme yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir (hematopoetik hücreler, mezenkimal hücreler gibi). Öncü hücreler kısmen farklılaşmış hücrelerdir ve kendilerine yenileyemezler. Embriyonik kök hücre eldesi ve etik sorunlardan dolayı yetişkin tip kök hücre izolasyonu klinikte önemli bir yer tutmaktadır (27,30).

2.4.1.Mezenkimal Kök Hücreler

MKH'ler ilk kez 1966 yılında Fridenstein ve Petrakova tarafından tanımlanmıştır. Fridenstein kemik iliği kültüründe fibroblast morfolojisinde hücre kolonileri olduğunu bunların kemik ve yağ hücrelerine farklılaşma yeteneğinin olduğunu göstermiştir.

Mezenkimal hücreler ince, uzun fibroblast benzeri bir yapı veya düz, yassı iki tip

morfolojide görülebilir (26,31). MKH'ler için pozitif yüzey belirteçleri CD44, CD71, CD90, CD29, CD105; negative yüzey belirteçleri ise CD 34, CD45, CD104, CD106'dır. Yüzey belirteçleri , hücreler yüzey antikoları ile işaretlendikten sonra flow sitometri cihazında (FACS) ile tespit edilebilir ya da immunhistokimyasal boya ile boyanarak immunofloresan mikroskop altında incelenebilir.

MKH'ler kemik iliği, adipoz doku, plasenta, iskelet kası, beyin, saç follikülü, kornea, retina, pancreas, karaciğer, amniyotik sıvıdan elde edilebilmektedir.

Mezenkimal kök hücreler deksametazon, askorbik asit ve β -gliserofosfat varlığında kemik hücrelerine, amfoterisin0b varlığında kas hücrelerine, deksametazon, insulin ve indometasin varlığında yağ hücrelerine, TGF- β varlığında kıkırdak doku hücrelerine, izobütümetilksantin ve dibütilsiklikamp varlığında nöron benzeri hücrelere farklılaşırlar (26-29).

MKH'lerin parakrin etkileri

Parakrin etki sinyal molekülünün salgılandığı hücrenin çevresindeki mikro çevreye etki etmesidir. MKH'ler çok sayıda sitokin (IL0 6,7,8,2,3,14,15, ..), hücre dışı protein, enzim salgılayabilmektedir. Düşük immünojeniteye ve immune baskılayıcı (lenfosit proliferasyonunu engellerler) özelliğe sahiptir. Yapılan çalışmalar mezenkimal kök hücrelerin hasarlı dokuda salgıladıkları faktörlerle doku iyileşmesini arttırıcı etkileri oldukları gösterilmiştir. Örneğin akut miyokard infarktüsü geçirmiş farelere insan MKH'leri verildiğinde enjeksiyondan 3 hafta sonra donör hücreler görülmemesine rağmen, myokard fonksiyonlarında iyileşmeler görülmüştür. Bu etki tümör hücrelerinin de progresyonunu arttıran hücre nişi meydana getirebilmektedir(26,27,28).

2.4.2. Adiposit Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreleri

Yağ dokusu (adipoz doku) doku mühendisliği ve rejeneratif tıp için zengin ve ulaşılabilir bir mutipotent yetişkin kök hücre rezervi sunmaktadır. Kök hücresi kendini yenileme özelliğine sahip, birçok hücre serisine farklılaşabilen ve matur diferansiye hücrelere dönüşebilen hücrelerdir. Rejeneratif tıp için kullanılacak bir kök hücre fazla miktarda bulunabilen, multiple hücre serisine yönelebilen , güvenli ve etkili şekilde otolog veya allogenic olarak alıcıya nakledilebilmelidir. Yetişkin kök hücreler totipotent hücreler olmasa da geniş diferansiyasyon potansiyeline sahiptirler.Ancak embriyonik hücreler kıyasla

gelişim potansiyelleri sınırlandırılmıştır. Yetişkin mezenkimal kök hücreler kemik iliği veya yağ dokusundan elde edilebilirler. Farklılaşma sitokinler veya kimyasallar ile yönlendirilebilir. Wang ve arkadaşları MKH'lerinden doku hasarı olan bölgede büyüme faktörü sekretomları salınarak rejeneratif mikroçevre oluşturduklarını göstermişlerdir (27,28,29). Klinik uygulamada kemik iliği mezemkimal kök hücreler için daha çok kullanılan bir kaynak olsa da yağ dokusu da önemli bir kök hücre rezervidir. Özellikle minimal invaziv tekniklerle çok sayıda hücre temin edilebilme imkanı sağlar. Artan obezite ile birlikte artan liposuction materyalleri bunların teropatik işlemlerde kullanılmak üzere depolanmasına dair tartışmaları başlatmıştır.

Yağ dokusu kökenli kök hücrelerin izolasyonu ilk olarak 1960 larda Rodbell ve arkadaşları tarafından gerçekleştirildi (26,29). Sıçanların yağ yastıkçıkları parçalanıp, kan elemanları uzaklaştırıldıktan sonra doku fragmanları kollajenaz enzimi parçalandı. Santifüj edilen materyalde pelet kısmı toplanarak stromal vasküler fraksiyon elde edildi (30-39). Elde edilen fraksiyondaki hücre poplasyonu heterojendi. İçerisinde kan hücreleri, fibroblastlar, perisitler, endotel hücreleri, pre-adiposit hücreler vardı. İzolasyonun son aşamasında hücre kültürü yapılarak plastik kaba tutunmuş olan pre-adipositler toplandı. Yapılan çalışmalar SVF'daki hücrelerin canlılığı açısından liposuction ve doku enzimatik ayırıştırma yöntemleri arasında fark olmadığını göstermektedir (40,41).

2.4.3. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği ilk olarak 1987'de California Üniversitesi'nde Dr. Y.C. Fung tarafından NSF (National Science Foundation) toplantısında dile getirilmiş; 1993 yılında ise Langer ve Vacanti tarafından tanımlanmıştır (42,43). Bu tanıma göre doku mühendisliği kaybedilmiş ya da hasarlı dokuların işlevlerini yerine getiren, destek olan, yeniden modellemeyi hedefleyen biyolojik sistemleri ya da yapay dokuları geliştiren disiplinler arası bir uygulama alanıdır.

Transplantasyonun uygun verici bulunamaması, alıcıda immün reaksiyon oluşması, etik sorunlar gibi problemlerinden ötürü doku mühendisliği ve rejeneratif tıp her geçen gün önemini kazanmaktadır. Doku mühendisliği ile ilgili üç temel unsur ileri sürülmektedir.

- 1- Çalışmanın amcına uygun seçilen ekilecek hücreler
- 2-Doku uyarıcı büyüme faktörleri, sitokinleri gibi sinyal molekülleri
- 3-Uygulama için elverişli ve üç boyutlu kültür ortamı sağlayan yapı iskeleleri (scaffold)(44).

Doku mühendisliği izole edilmiş hücrelerin (genellikle kök hücreler) in vitro şartlarda üç boyutlu yapı iskeleleri üzerine ekilmesini daha sonra özel şartlar altında yeniden farklılaştırılarak çoğaltılmasını ve oluşan doğal dokuya benzer yeni hibrit yapıların geri nakledilmesini amaçlar (42).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun projeyi değerlendirmesi ve çalışmaya izin vermesi üzerine çalışma başlatıldı. Deneyler İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Deney hayvanları İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi.

Çalışmada toplam 32 adet Wistar-Albino cinsi, 8-10 haftalık , 200-250 gr, erkek sıçanlar kullanıldı. Grup 1'de 8 sıçan, grup 2 'de 12 sıçan, grup 3'te 12 sıçan olmak üzere 3 deney grubu oluşturuldu. Tüm gruplara laparotomi yapılarak insizyonel herni modeli oluşturuldu. İkinci gruba aynı gün içerisinde, üçüncü gruba 2 hafta sonra inguinal bölgeden alınan lipektomi materyalinden hazırlanan serum vasküler fraksiyon defekt kenarlarına enjekte edildi.

Grup 1 (n=8): Cerrahi işlem öncesi 10 mg/ kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer inc) ardından 80 mg/kg ketamine hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal olarak verilerek genel anestezi sağlandı. Sıçanların karın bölgeleri elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edildi. Sıçanlar supine pozisyonda olacak şekilde flaster ile dört ekstremiteden cerrahi masaya tespit edildi. Povidon iyot ve steril örtü ile sterilite sağlandıktan sonra karın fasyası üzerinde 4 cm median insizyon yapıldı. 2' şer cm kaudal ve kranialine 3-0 PDS ile suturler konularak insizyonel herni modeli oluşturuldu. Bu gruba lipektomi materyalinden elde edilen serum vasküler fraksiyonu uygulanmadı. 4 hafta sonra insizyon boyutları ve fasya defektindeki iyileşme derecesini incelemek için defekti içine alan 5x5 cm fasya çıkartıldı. Daha sonra genel anestezi altında intraperitoneal 30 mg/kg sodyum pentothal uygulanarak sakrifikasyon işlemi yapıldı. Alınan doku örneği formaldehit solusyon içerisinde konularak fikse edildi.

Grup 2 (n=12): Cerrahi işlem öncesi 10 mg/ kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer inc) ardından 80 mg/kg ketamine hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal olarak verilerek genel anestezi sağlandı. Sıçanların karın bölgeleri elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edildi. Sıçanlar supine pozisyonda olacak şekilde flaster ile dört ekstremiteden cerrahi masaya tespit edildi. Povidon iyot ve steril örtü ile sterilite sağlandıktan sonra karın fasyası üzerinde 4 cm median insizyon yapıldı. 2' şer cm kaudal ve kranialine 3-0 PDS ile suturler

konularak insizyonel herni modeli oluşturuldu. Sıçanın her iki inguinal bölgesinden alınan 2x2 cm boyutunda lipektomi materyalinde no:15 scalpel ve stevens makası yardımıyla 20x20mm büyüklüğünde stripe oluşturuldu . Materyal 15 ml'lik konik santrifüj tüplerine aktarılıp 3 kez 5 dakika PBS (Phosphate buffered saline) ile yıkanıp süspansiyon haline getirildi. Süspansiyona %0,15 tip 1 kollajenaz eklenerek 37⁰C' de 30 dk çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. Örneğe %20 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %1 antibiyotik (ABAM) ihtiva eden DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) eklenildi ve santrifüj aşamasını takiben hücre pelleti elde edildi. 100 µm hücre süzgecinden geçirildikten oluşan fraksiyonun yarısı flow sitometrik sayım ve kültürü için ayrıldı. Geride kalan serum vaskuler fraksiyon PBS içerisinde defekt oluşturulan transvers fasya kenarlarına enjekte edildi.

4 hafta sonra insizyon boyutları ve fasya defektindeki iyileşme derecesini incelemek için defekti içine alan 5x5 cm fasya çıkartıldı. Daha sonra genel anestezi altında intraperitoneal 30 mg/kg sodyum pentotal uygulanarak sakrifikasyon işlemi yapıldı. Alınan doku örneği formaldehit solusyon içerisinde konularak fikse edildi.

Grup 3 (n=12): Cerrahi işlem öncesi 10 mg/ kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer inc) ardından 80 mg/kg ketamine hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal olarak verilerek genel anestezi sağlandı. Sıçanların karın bölgeleri elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edildi. Sıçanlar supine pozisyonda olacak şekilde flaster ile dört ekstremiteden cerrahi masaya tespit edildi. Povidon iyot ve steril örtü ile sterilite sağlandıktan sonra karın fasyası üzerinde 4 cm median insizyon yapıldı. 2' şer cm kaudal ve kranialine 3-0 PDS ile suturler konularak insizyonel herni modeli oluşturuldu. 10 gün sonar fitik kesesi olgunlaştıktan sonra sıçanlara genel anestezi uygulandı. Sıçanın her iki inguinal bölgesinden alınan 2x2 cm boyutunda lipektomi materyalinde no:15 scalpel ve stevens makası yardımıyla 20x20mm büyüklüğünde stripe oluşturuldu . Materyal 15 ml'lik konik santrifüj tüplerine aktarılıp 3 kez 5 dakika PBS (Phosphate buffered saline) ile yıkanıp süspansiyon haline getirildi. Süspansiyona %0,15 tip I kollajenaz eklenerek 37⁰C' de 30 dk çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. Örneğe %20 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %1 antibiyotik (ABAM) ihtiva eden DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) eklenildi ve santrifüj aşamasını takiben hücre pelleti elde edildi. 100 µm hücre süzgecinden geçirildikten oluşan fraksiyonun yarısı flow sitometrik sayım ve kültürü için ayrıldı. Geride kalan serum vaskuler fraksiyon PBS içerisinde defekt oluşturulan transvers fasya kenarlarına enjekte edildi. 4 hafta sonra insizyon boyutları ve fasya defektindeki iyileşme derecesini incelemek için defekti içine

alan 5x5 cm fasya çıkartıldı. Daha sonra genel anestezi altında intraperitoneal 30 mg/kg sodyum pentothal uygulanarak sakrifikasyon işlemi yapıldı. Alınan doku örneği formaldehit solusyon içerisinde konularak fikse edildi.

Grup 2 ve 3'ün amacı serum vasküler fraksiyonun insizyonel herni modellerinde iki hafta olgunlaşmaya bırakılmış : kronikve bırakılmamış : akut yara iyileşmesinde fark olup olmadığı görmek; Grup 1 (kontrol) ile ADKHH'lerin yara iyileşmesine etkisini karşılaştırmaktır.

Grup 1 (Kontrol Grubu) dışında tüm sıçanların inguinal bölgelerinden adipoz doku alınarak serum vaskuler fraksiyonu elde edildi. Grup 3'ün MKH sayımı ve 10 günlük hücre kültürü ardından sayım yapılarak adipoz dokudan izole edilen kök hücreler in vitro ortamda da çoğaltıldı. İnsizyonel herni modeline enjekte edilen serum vaskuler fraksiyondaki MKH'ler enjeksiyon öncesi yüzey belirteci ile işaretlenip flow sitometride sayıldı.

Doku örnekleri alınmadan fitik bölgesi makroskopik olarak değerlendirilip defektin açık ya da kapalı olup olmadığına bakıldı. Doku örnekleri fikse edildikten sonra histopatolojik olarak incelendi. Defekt boyutları, iyileşme alanında kapiller dansite, fibröz gradient, adipoz/bağ dokusu oranı, yapısal distorsiyon, granülasyon dokusu, kollagen organizasyonu, hücre dağılımı histopatolojik açıdan değerlendirildi.

3.1.Deney Hayvanlarının Bakımı

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Tüm sıçanlara standart ısı ve nem koşulunda, 3 saat aydınlık, 3 saat karanlık ortamda, ad libitum şeklinde yem ve su takviyesi yapıldı. Dişi hayvanların östrojen siklusu yara iyileşmesini etkileyebileceğinden tüm deney hayvanları erkek olarak seçildi. Operasyon sonrası analjezi için tüm hayvanlara tek doz cilt altı Fentanil (Sufenta 5 mcg, Janssen Cilag inc.) 0,02 mg/kg yapıldı. Operasyon sırasında hipotermiyi önlemek için sıcak su torbası cerrahi alanın etrafına yerleştirildi. Yara yeri enfeksiyonu ve otokanibalizasyonu önlemek için post-operatif 1 ve 2. günlerde povidon iyot ile insizyon yeri temizlendi. Kanibalizasyonu önlemek için hayvanlar tek bireylik kafeslerde barındırıldı. Çalışma sonrası tüm hayvanlar genel anestezi altında intraperitoneal 30 mg/kg sodyum pentothal uygulanarak sakrifiye edildi.

3.2.Deneyde Kullanılan Malzemeler

Tablo-3 Deneyde kullanılan sarf malzemeler

• Stevens makas	• 100 mikron hücre süzgeci
• Adson penset	• İnsülin enjektörü
• Portegu	• Büyük steril plastik kap
• Bisturi no 15	• Küçük steril plastik kap
• Bistüri sapı no 3	• Steril spanç
• Rapid vicryl 3-0, keskin iğneli	• Steril delikli örtü
• PDS 4-0, yuvalak iğneli	• Steril kalem- cetvel
• Cam petri kabı	• Tıraş makinesi
• Fancon tüpü 15 ve 50 cc	• Santrifüj cihazı
• Steril pipet plastik	• 25 cm ² filtreli filtreli
• Steril pipet cam	• Sıcak su torbası

Tablo-4 Deneyde kullanılan enzimler

Katalog No	Kimyasal Maddeler
203105	FITC anti-rat CD45, 100 µg Biologend
202526	APC anti-rat CD90/mouse CD90.1 (Thy-1.1), 100 µg Biologend
103107	PE anti-mouse/rat CD29, 50 µg Biologend
P04003590	DMEM, 500ml Pan Biotech
P0803300	MEM esensiyel aminoasit, 100ml Pan Biotech
TRP33309	Tripan EDTA, Pan Biotech
5240062	ABAM, Thermo Fisher Scientific
17018029	Collagenase, Type I, powder 500 mg Thermo Fisher
41966029	DMEM, high glucose, pyruvate 500 ml Thermo Fisher
10500056	FBS heat inact. S.American (CE) 100 ml Thermo Fisher
AM9625	10x PBS Buffer, pH 7.4 1000 ml each Thermo Fisher
1514032	Penicillin- Streptomycin (10,000 U/ml) 100 ml Thermo Fisher

Tablo-5 Deneyde kullanılan anestezi ve antiseptik ajanlar

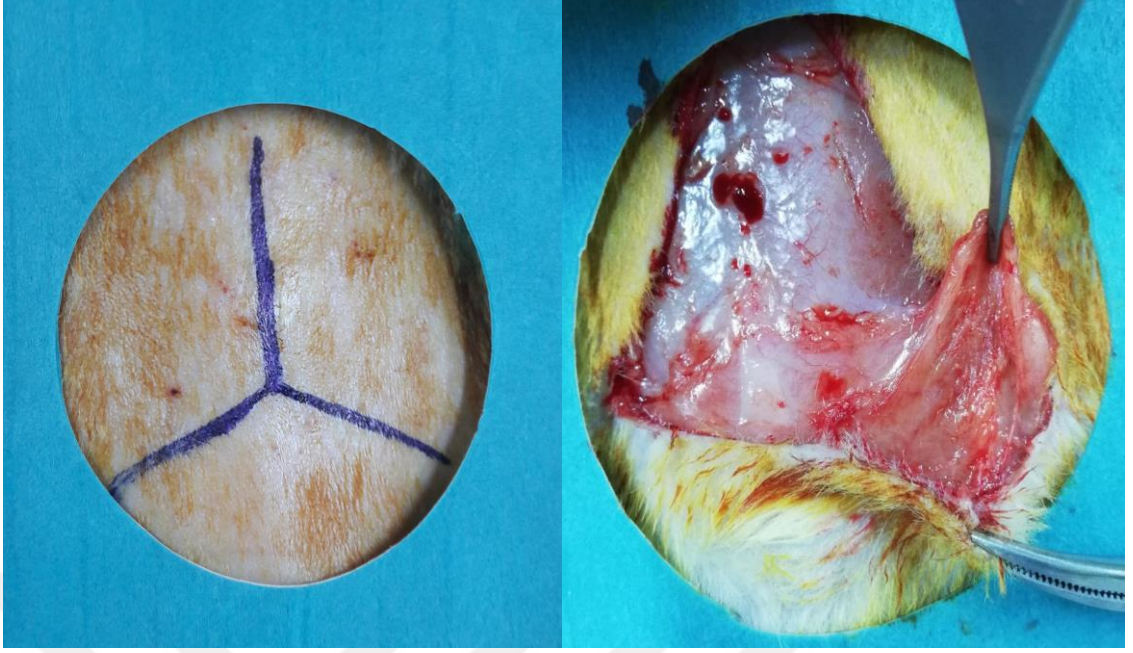
Farmakolojik ajan	Uygulama Yolu	Uygulama Dozu
Ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer Pharma, GMBH Germany)	İntraperitoneal	80 mg/kg
Ksilazin Hidroklorid (Rompun, Bayer inc)	İntraperitoneal	10 mg/kg
Fentanil (Sufenta 5 mcg, Janssen Cilag inc.)	Subkutan	0,02 mg/kg
Sodyum pentotal (Pentotal Sodium 0,5 g, Abbott)	İntraperitoneal	30 mg/kg
Povidon iyot (Batikon)	Haricen	

3.3.Cerrahi Hazırlık

10 mg/ kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer inc) , 80 mg/kg ketamine hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal olarak verilerek genel anestezi sağlandı. Sıçanların karın bölgeleri elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edildi. Sıçanlar supine pozisyonda olacak şekilde flaster ile dört ekstremiteden cerrahi masaya tespit edildi. Povidon iyot ile boyandıktan sonra delikli steril örtü ile örtülerek sterillte sağlandı.

3.4.Lipektomi İşlemi

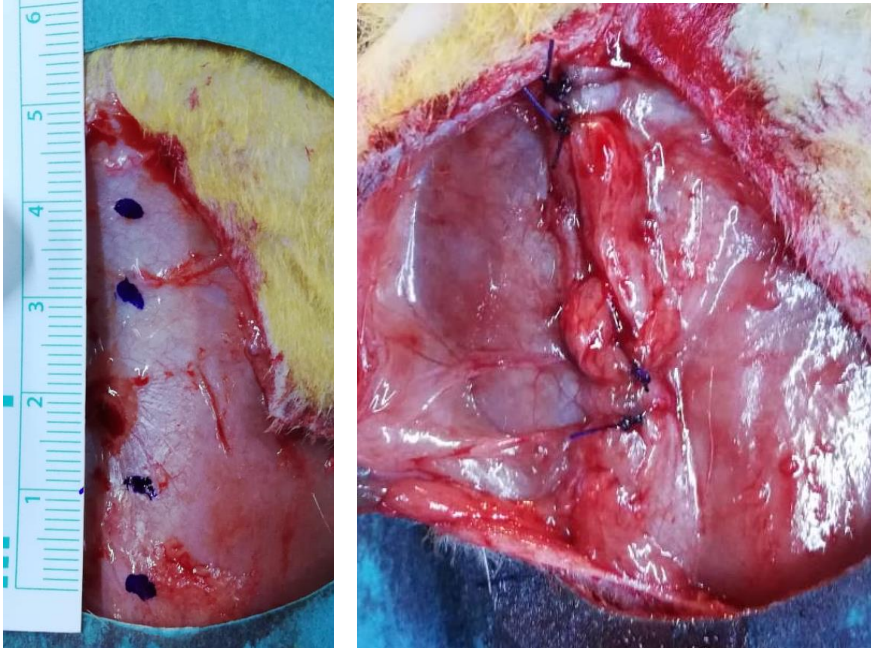
İnguinal yağ yastıklarına ulaşabilmek için Grup 2 'de aynı işlem sırasında insizyonel herni modeli oluşturulacağı için karın bölgesine ters Y ; Grup 3'te inguinal bölgeye eliptik insizyon yapıldı. Cilt altı doku diseke edilerek yağ yastıklarına ulaşıldı. Her sıçandan iki adet yaklaşık 2x2 cm adipoz doku eksize edilerek steril cam petri kaplarına alındı.



Resim 1-2: Ters Y insizyonu, inguinal bölgeden lipektomi işlemi

3.5.İnsizyonel Herni Modeli Oluşturulması

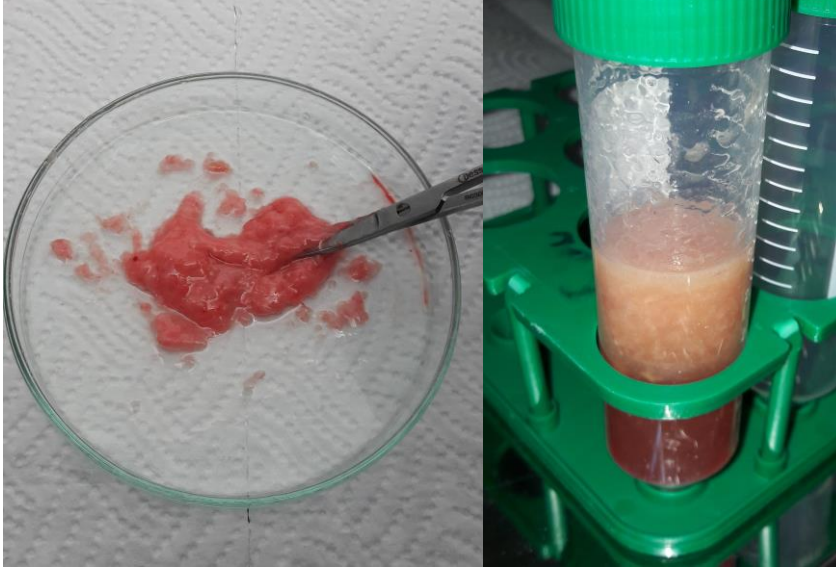
Karın fasyası üzerinde 4 cm median insizyon yapıldı. 2' şer cm kaudal ve kranialine 3-0 PDS ile suturler konularak insizyonel herni modeli oluşturuldu. Grup 3'te 2 hafta beklenerek fitik bölgesinin olgunlaşması beklenildi.



Resim 3-4: İnsizyonel herni modelinin oluşturulması

3.6.MKH Elde Edilmesi

Cam petri kaplarına alınan adipoz dokular steril kabinde stevens doku makası ve no:15 scalpel ile mekanik olarak parçalandı. Parçalandıktan sonra 50 cc konik tüplere alındı. Eşit miktar PBS ile 3 yıkılarak kan elemanları ve fibröz doku parçaları uzaklaştırıldı. Her yıkamada 400G 10 dk santrifüj edildi. Süspansiyona %0,15 tip 1 kollajenaz eklenerek 37⁰C' de 30 dk çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. Süspansiyona eşit miktarda %20 FBS (Fetal Bovine Serum), %1 antibiyotik (ABAM), DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) içeren kontrol medium eklenildi ve 10 dk beklenildi. Ardından 600G 10 dk santrifüj edildi. Oluşan pellet tekrar 50 cc konik tüpe alındı. PBS ile süspansiyon haline getirilerek 100 µm hücre süzgecinden geçirildi. Pelletler 5 cc cam tüplerde toplandı. Kültür ve flow stiyometri cihazında sayım için yarısı başka bir tüpe aktarıldı. Tüplerdeki MKH'ler PBS eklenerek süspansiyon halinde insulin enjektörlerine çekildi.



Resim 5-6:Adipoz dokunun mekanik parçalanması ve süspansiyon haline getirilmesi



Resim 7-8: Süspansiyonun hücre süzgecinden geçirilmesi , serum vasküler fraksiyon eldesi

3.7.ADKKH içeren PBS'lerin İnsizyon Hattına Enjeksiyonu

Grup 2'de MKH süspansiyonu insizyonel herni modeli oluşturulduğu gün defekt kenarlarına enjekte edildi. Ve cilt 4-0 rapid vicryl ile suture edildi.

Grup 3'te ise İnsizyonel herni modeli oluşturulduktan 2 hafta sonra inguinal bölgeden MKH süspansiyonu hazırlanarak aynı gün içerisinde olgunlaşmış olan defect kenarlarına enjekt edildi. Ardından cilt insizyonu 4-0 rapid vicryl ile suture edildi.



Resim 9: MKH süspansiyonunun fitik kenarlarına enjeksiyonu

3.8.Flow Sitometrik Analiz ile Mezenkimal Kök Hücre Oranlarının Belirlenmesi

Adipöz dokudan elde edilen mezenkimal kök hücreler rat anti CD45-FITC, rat anti CD90-APC ve rat anti CD29-PE monoklonal antikolarıyla 30 dakika karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası bağlanmayan antikoların uzaklaştırılması amacıyla örnekler bir kez % 2 FBS içeren PBS ile yıkandı. Yıkama aşaması sonrası örnekler BDFACSAria II cihazında analiz edildi.

3.9.MKH'leri Kültüre Alınması ve Pasaj İşlemi Sonrası Flow Sitometrik Analiz ile Mezenkimal Kök Hücre Oranlarının Belirlenmesi

Adipöz dokudan elde edilen hücre süspansiyonu DMEM+ %20 FBS+%1 ABAM+ 2 mM L-glutamine içeren mediumda 37⁰C de %5 CO₂ ortamında 25 cm² flasklarda kültüre alındı. Kültür flaskında hücrelerin bir günlük inkübasyonunu takiben yapışmayan hücreler ortamdaki uzaklaştırıldı. Yapışan hücre süspansiyonunun DMEM mediumunda kültürlerine devam edildi. Kültür flaskına yapışarak çoğalan mezenkimal kök hücreler tek tabaka oluşturduklarında pasajlama işlemine geçildi. Pasaj işlemi için tek tabaka olarak çoğalan mezenkimal kök hücreler flask yüzeyinden 0.25% (w/v) Tripsin- 0.53 mM EDTA solüsyonu ile kaldırılarak ve fetal sığır serumu ihtiva eden DMEM/F-12 ve PBS (pH=7.4) solüsyonu

ile yıkama aşamalarını takiben uygun miktardaki yeni hücre süspansiyonu 25 cm² flaklara aktarıldı ve 37°C %5 CO₂'li etüvde inkübe edildi. Pasaj işlemi 10 gün boyunca 48 saatte bir tekrarlandı.

Adipöz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin karakterizasyonları için pasaj sonrası elde edilen mezenkimal kök hücreler rat anti CD45-FITC, rat anti CD90-APC ve rat anti CD29-PE monoklonal antikorlarıyla 30 dakika karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası bağlanmayan antikorların uzaklaştırılması amacıyla örnekler bir kez % 2 FBS içeren PBS ile yıkandı. Yıkama aşaması sonrası örnekler BDFACSAria II cihazında analiz edildi.

3.10.Histopatolojik Değerlendirme

Grup 1'deki sıçanlardan insizyonel herni modeli oluşturulduktan 4 hafta sonra ; Grup 2 ve 3'teki sıçanlarda ise MKH süspansiyonu enjeksiyonunu takiben 4 hafta sonra 10 mg/ kg ksilazin hidroklorid ardından 80 mg/kg ketamine hidroklorür intraperitoneal olarak verilerek genel anestezi sağlandı. İnsizyon boyutları ve fasya defektindeki iyileşme derecesini incelemek için defektine içine alan 5x5 cm fasya çıkartıldı. Daha sonra genel anestezi altında intraperitoneal 30 mg/kg sodyum pentotal uygulanarak sakrifikasyon işlemi yapıldı. Alınan doku örneği %10 formaldehit solusyon içerisinde konuldu. İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji ABD laboratuvarında 48 saat %10 formaldehit solusyonu içerisinde oda sıcaklığında bekletildi. Fiksasyon işlemi sonrası defekt alanı makroskopik olarak değerlendirildi. Yüzey ölçümleri yapıldıktan sonra materyaller parafin bloklara gömüldü. Tüm materyallerden defekt kenarlarını kapsayacak şekilde multiple (6 fragman) örnekler alındı. 3 µm kesitler hazırlanarak Hematoksilen- Eozin (H&E) ve Masson Trikrom ile boyandı. 40 ve 400 lük büyütme ile yeni oluşan kapillerler, dokunun yapısal distorsiyonu, granülasyonu derecesi, fibrozis miktarı, kollagen organizasyon tipi, adiposit ve bağ dokusu arasındaki oran, inflamatuvar hücre organizasyonunun oranı değerlendirildi. Adiposit/bağ dokusu yüzde oranı ile diğer tüm parametreler yok(0), hafif (1), orta (2); çok (3) şeklinde derecelendirilerek değerlendirildi. Kapiller dansite 20µm çapından küçük kapillerler hot spot alanda sayılarak belirlendi. Kapiller sayısı sekizin üzerinde 3 puan; beş ila sekiz kapiller olması halinde 2 puan; beşin altında olması halinde bir puan; hiç olmaması halinde ise sıfır puan verildi. Görüntüler Olympus Gx71 model mikroskop ile değerlendirildi.

3.11.İstatiksel Analiz

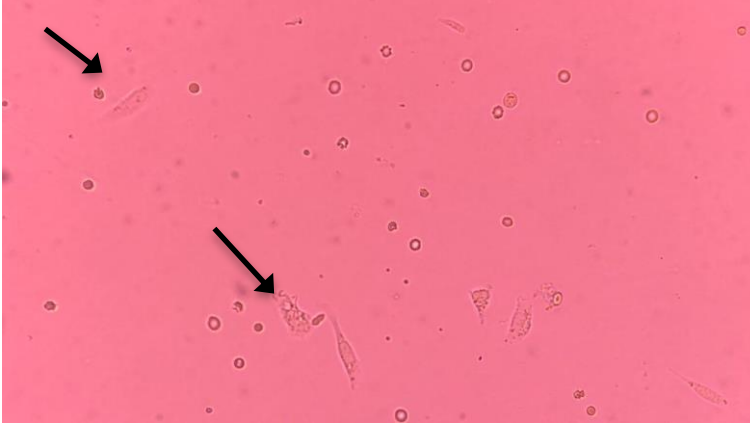
Alınan karın ön duvarı kesitlerinde fasya defektinin makroskopik boyutları, defektin tamamen açık ya da kapalı olduğu, iyileşme alanındaki yeni oluşan kapillerler, dokunun yapısal distorsiyonu, granülasyonu derecesi, fibrozis miktarı, kollagen organizasyon tipi, adiposit ve bağ dokusu arasındaki oran, inflamatuvar hücre organizasyonunun oranı gruplar arasında karşılaştırıldı.

Çalışmadan sonra elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov Simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Mann-Whitney U test kullanıldı. Tespit edilen p değeri <0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Nitel bağımsız verilerin analizinde Ki-kare test, Ki-kare test koşulları sağlanmadığında Fischer test kullanıldı.

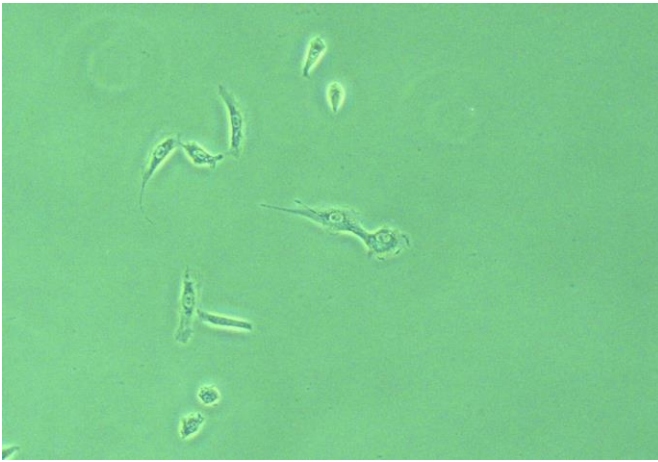
4. BULGULAR

Çalışmada toplam 32 adet Wistar-Albino cinsi, 8-10 haftalık , 200-250 gr, erkek sıçanlar kullanıldı. Grup 1 (n=8), grup 2 (n=12) ve grup 3 (n=12) olmak üzere 3 deney grubu oluşturuldu. Grup 2’de iki sıçan ve grup 3’te bir sıçan takipleri sırasında ex olduğu için çalışma dışı bırakıldı.

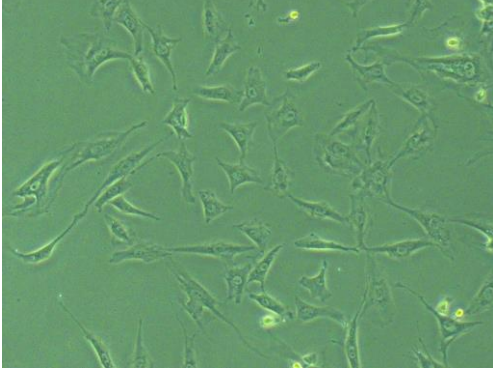
4.1.Adipoz Doku Kaynaklı Kök Hücrelerin Kültür Öncesi ve Sonrası Flow Sitometrik Analizi



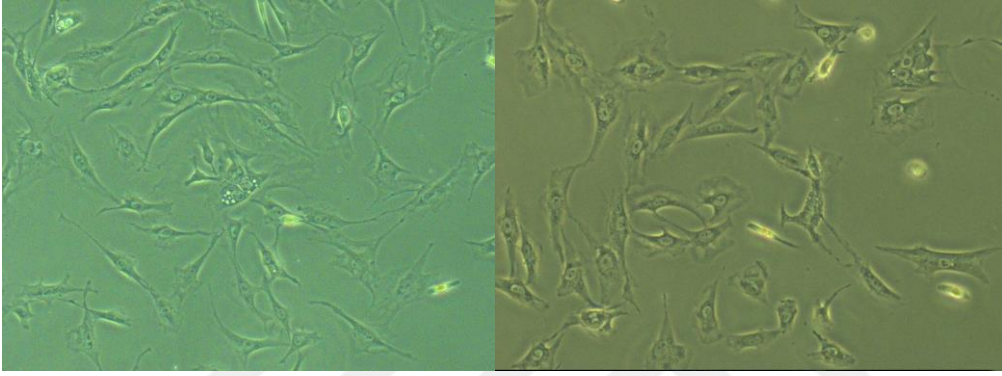
Resim 10: Lipektomi materyalinden hazırlanan serum vasküler fraksiyonunun 0.gün mikrofotografı
Siyah oklar: iğsi mezenkimal kök hücreler



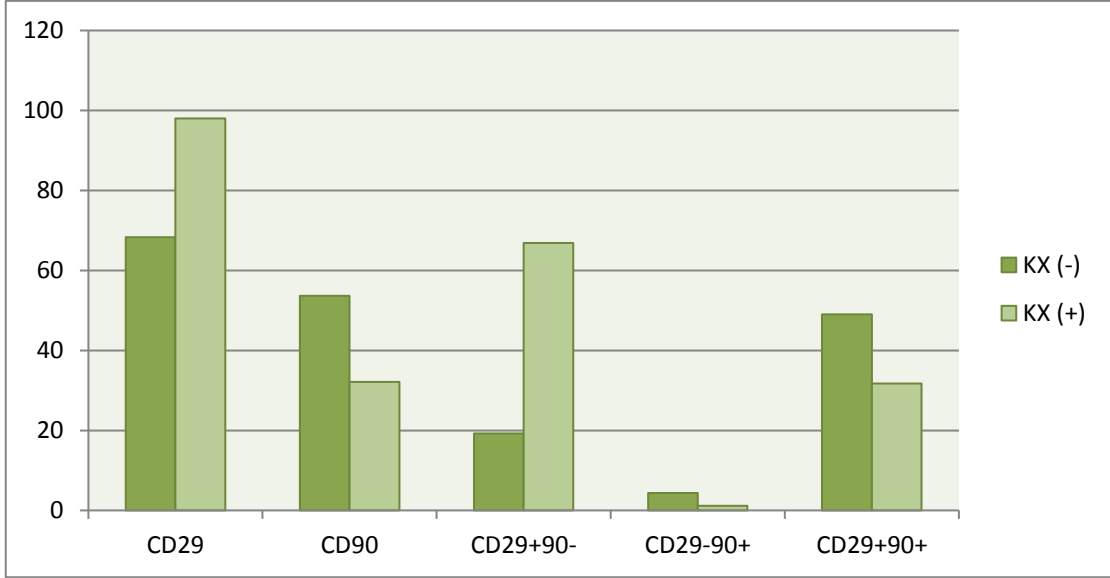
Resim 11: Kültür flaskına alınan mezenkimal kök hücrelerinin mikrofotografı (1.gün)



Resim 12-14: 10 günlük pasajlama işlemi süresince çoğalan mezenkimal kök hücrelerin mikrofotografaları

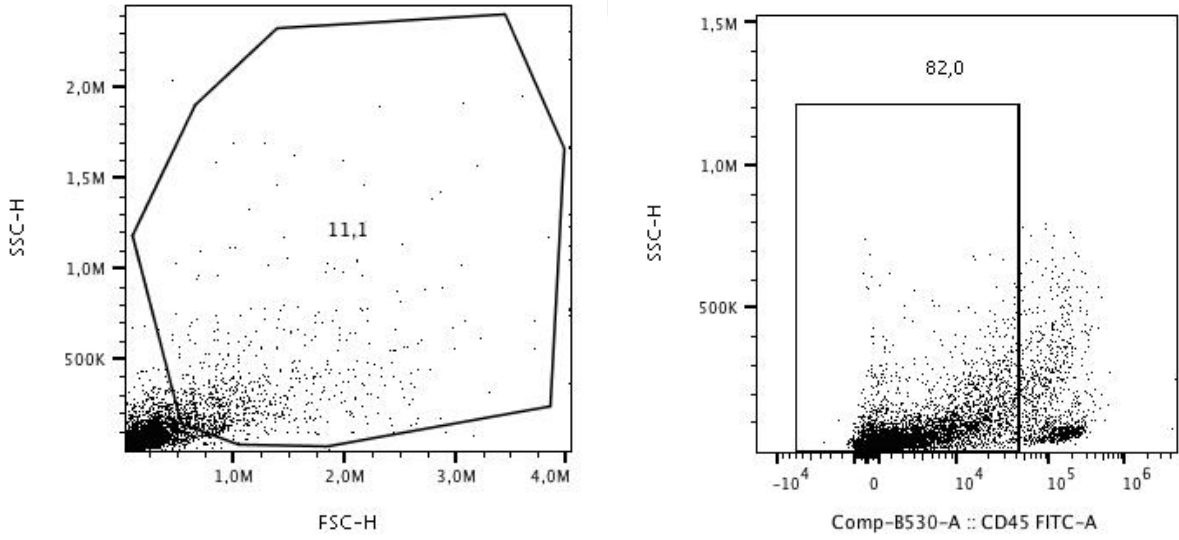


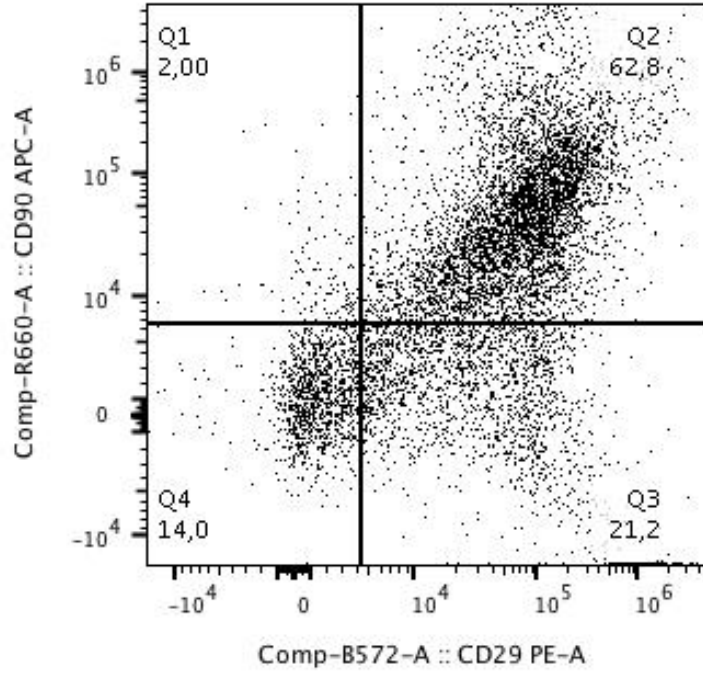
Adipöz dokudan elde edilen hücre süspansiyonu ratlara enjekte edilmeden önce 1 ml örneklenerek elde edilen fraksiyonda kök hücre olup olmadığını teyit etmek için süspansiyon rat anti CD45-FITC, rat anti CD90-APC ve rat anti CD29-PE monoklonal antikorlarıyla 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yapılan flow sitometrik analizde CD29+ hücrelerin oranı % 68,28; CD90 pozitif hücrelerin oranı % 53,69; CD29+90- hücrelerin oranı % 19,26; CD29-90+ hücrelerin oranı %4,35; CD29+90+ hücrelerin oranı %49,02 olarak saptandı. Daha sonra hücre süspansiyonu kültür flaskına alınarak 10 gün boyunca pasajlama yapıldı. Pasajlama sonrası çoğalan mezenkimal hücreler rat anti CD45-FITC, rat anti CD90-APC ve rat anti CD29-PE monoklonal antikorlarıyla işaretlenerek tekrar flow sitometrik analiz yapıldı. CD29+ hücrelerin oranı % 98; CD90 pozitif hücrelerin oranı % 32,17; CD29+90- hücrelerin oranı % 66,88; CD29-90+ hücrelerin oranı %1,12; CD 29+90+ hücrelerin oranı %31,74 olarak saptandı. CD29 ve CD90 ekspresyonunun artmış olduğu görüldü.



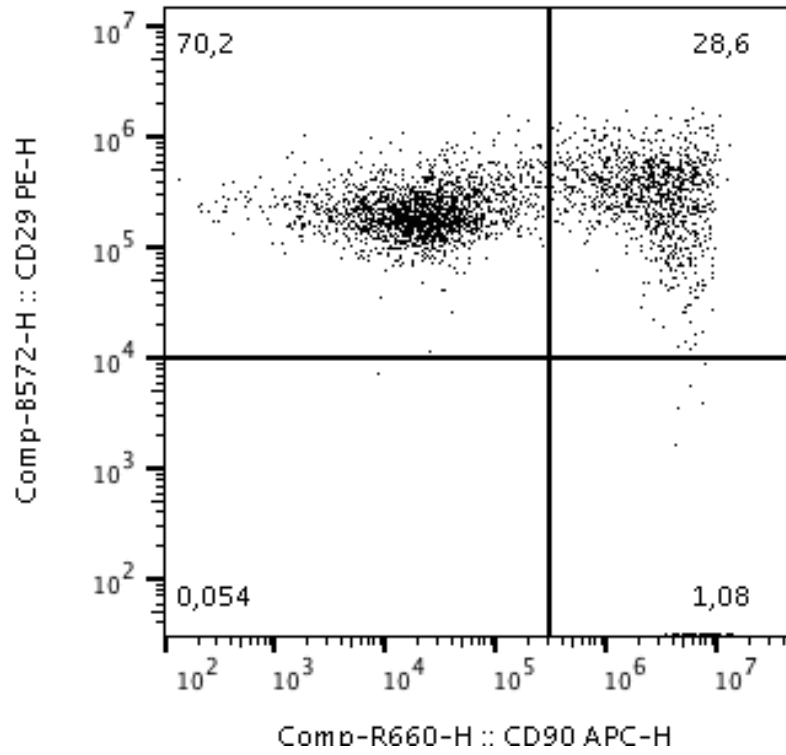
Grafik 1: Flow sitometrik analiz kültür öncesi (KX(-)) ve sonrası (KX(+)) yüzey marker oranlarının karşılaştırması

Grafik 2-3-4: Kültür Öncesi Adiposit Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerinin Flow Sitometrik Analizi





Grafik-5: Kültür Sonrası Adiposit Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerinin Flow Sitometrik Analizi

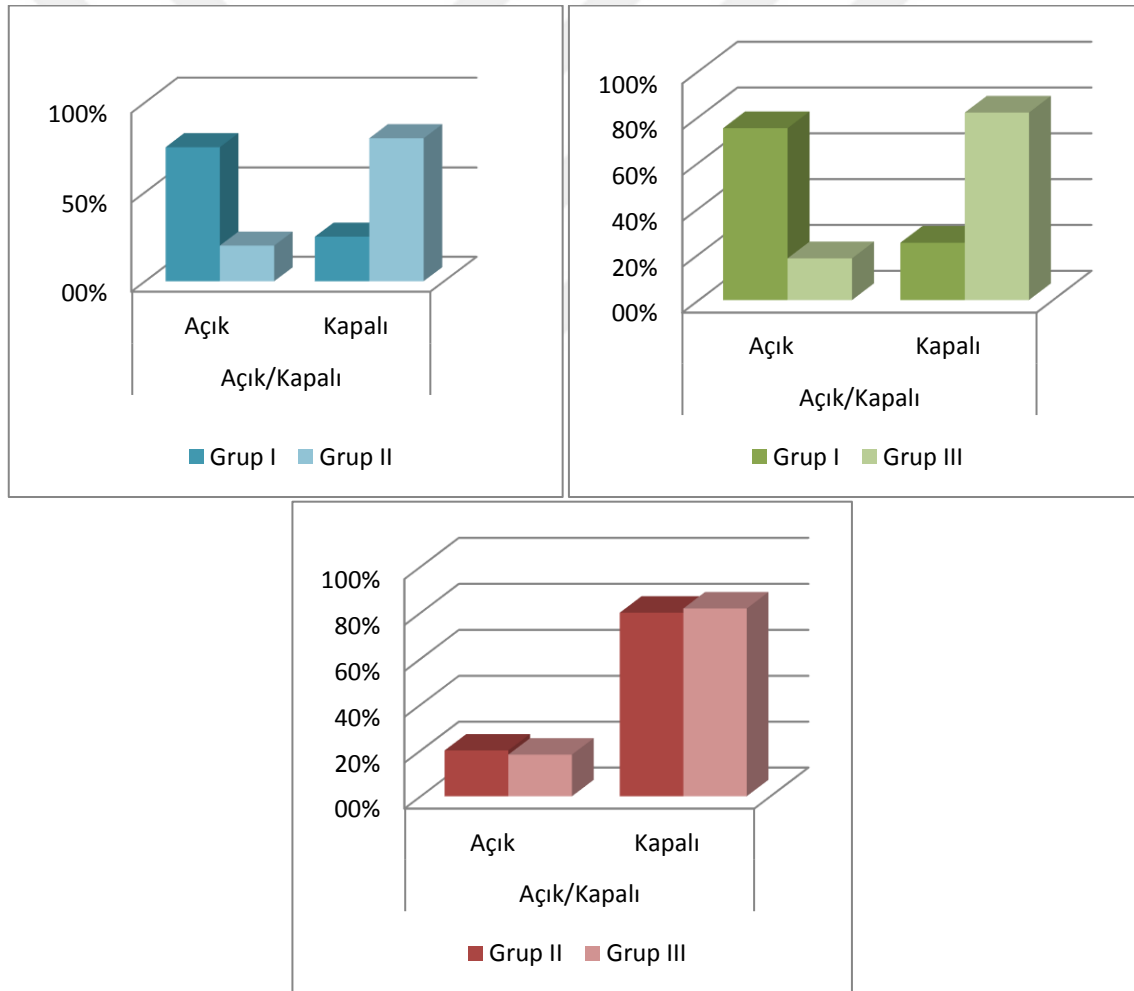


4.2.Defekt Açıklığının Makroskopik Değerlendirilmesi

Grup I'de %75 defekt açık; grup II'de defektin periton ile kapalılığı %80, grup III'de %81.8 görülmüştür.

Tablo-6 Defekt Alanının Makroskopik Değerlendirilmesi

	Grup I			Grup I			Grup III		
	Ort±s.s/	n-%	Medyan	Ort±s.s/	n-%	Medyan	Ort±s.s/	n-%	Medyan
Açık	6	75.0%	2	20.0%	2	18.2%			
Kapalı	2	25.0%	8	80.0%	9	81.8%			



Grafik 6-7-8: Defekt Açıklığı

Defekt açıklığı açısından gruplar karşılaştırıldığında Grup I' de, grup II' ye oranla anlamlı (p=0.02) olarak yüksek saptandı. Grup I de defekt açıklığı, grup III de defekt kapalılığı oranı anlamlı (p =0.031) olarak yüksek saptandı. Grup II ve grup III de defektlerin açık kapalılık oranı anlamlı (p=0.916) farklılık göstermemiştir. ADKKH kullanılan gruplarda defekt alanlarının istatistiksel olarak anlamlı olması kök hücrelerin epitelizasyon ve periton formasyonunu arttırıcı etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür.

4.3.Fıtık İyileşmesinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

Gruplardaki histopatolojik değişiklikler, gruplarda bakılan granülasyon, kapiller dansite, fibrozis, kollajen dağılımı, yapısal distorsiyon, adiposit/bağ dokusu oranı, inflamatuvar hücre oranları tablo 5-7 de gösterilmektedir. Yapılan kesitlerde gruplara ait görüntüler resim 4-11' de gösterilmiştir.

Denek No	Granülasyon	Kapiller Dansite	Fibrozis	Yapısal Distorsiyon	İnflamatuvar Hücreler			Kollajen Dağılımı		Adiposit Dokusu %	/Bağ Oranı %
					T Lenfosit	PMNL	Plasma	Düzensiz	Dağınık		
1	-	+	+	++	+	-	-	+		70	30
2	++	++	+	+++	+	+	+		+	20	80
3	+	+	++	+	+	+	+	+		40	60
4	+++	++	+	+++	+	+	+		+	60	40
5	++	+	++	++	+	+	+	+		50	50
6	+++	++	++	++	+	+	+		+	60	40
7	+++	+	++	+	+	+	+	+		60	40
8	+	+	++	+	+	+	-	+		50	50

Tablo-7 Grup I' de meydana gelen histopatolojik değişiklikler

Denek No	Granülasyon	Kapiller Dansite	Fibrozis	Yapısal Distorsiyon	İnflamatuar Hücreler			Kollajen Dağılımı		Adiposit Dokusu %	/Bağ Oranı %
					T Lenfosit	PMNL	Plasma	Düzgün	Dağınık		
1	++	+	++	+	+	+	-	+		40	60
2	++	+	+	+	+	+	+	+		60	40
3	+++	+	+++	+	+	+	+	+		30	70
4	+++	+	++	+	+	+	-	+		50	50
5	+	++	++	++	+	+	+	+		40	60
6	+	+	+	++	+	+	+		+	10	90
7	+++	++	++	+	+	+++	+		+	80	20
8	++	++	++	+	+	+	+	+		50	50
9	+	++	+	++	+	+	-	+		20	80
10	++	+	++	+	+	-	-		+	30	70

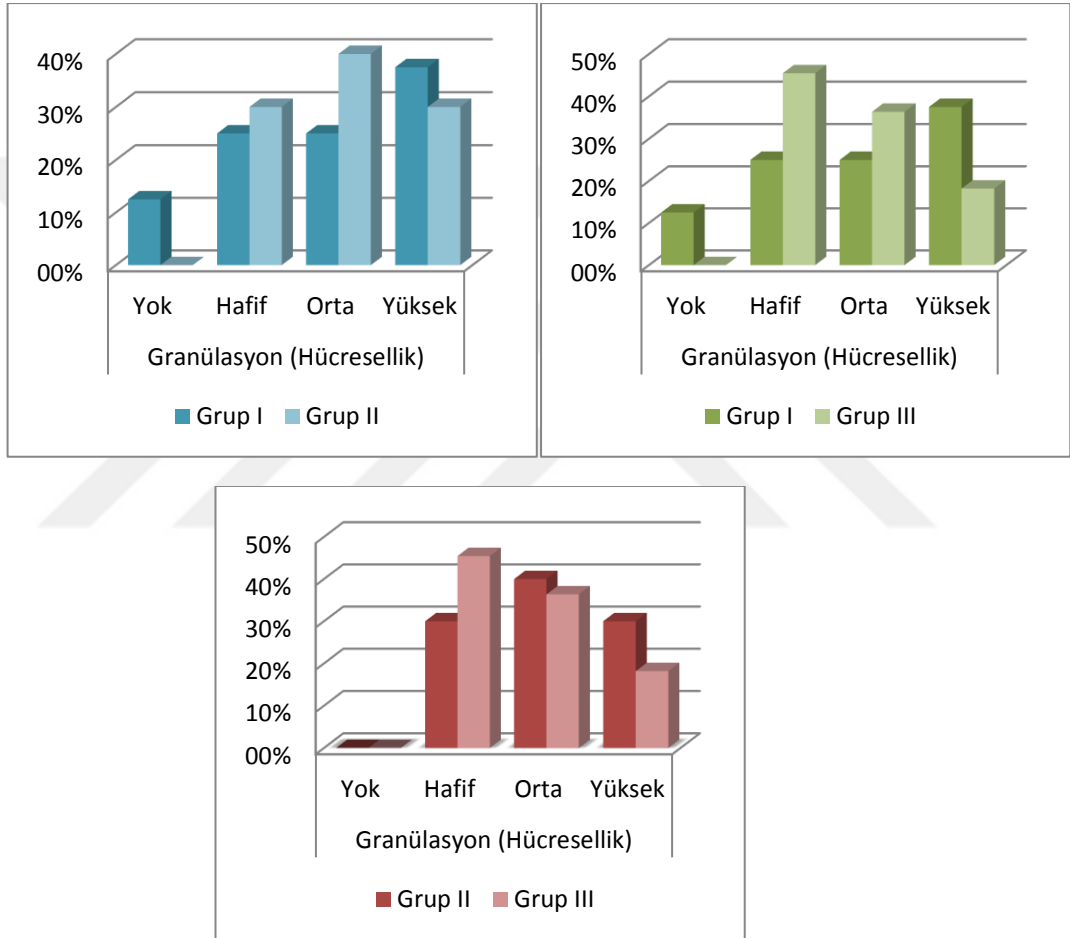
Tablo -8 Grup II'de meydana gelen histopatolojik değişiklikler

Denek No	Granülasyon	Kapiller Dansite	Fibrozis	Yapısal Distorsiyon	İnflamatuar Hücreler			Kollajen Dağılımı		Adiposit Dokusu %	/Bağ Oranı %
					T Lenfosit	PMNL	Plasma	Düzgün	Dağınık		
1	+	+	+++	+	+	-	-	+		10	90
2	+	++	+	+	+	+	+		+	50	50
3	++	++	++	+	++	+	-	+		40	60
4	+++	+	+++	+	++	+	+	+		40	60
5	++	+++	+	++	+	-	++		+	10	90
6	++	++	+	++	+	-	++		+	30	70
7	+	+	++	+	+	+	-	+		30	70
8	++	++	+	+	++	+	-	+		40	60
9	+++	+	++	+	++	-	+	+		60	40
10	+	+	++	-	+	+	-	+		70	30
11	+	+	+++	+	+	+	-	+		20	80

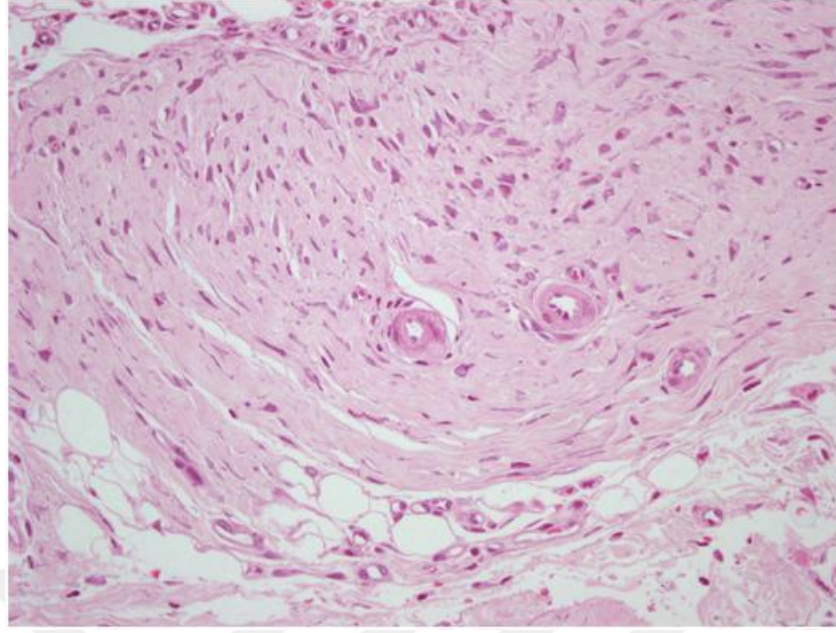
Tablo-9 Grup III'de meydana gelen histopatolojik değişiklikler

Gruplarda yukarıda bahsedilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında;

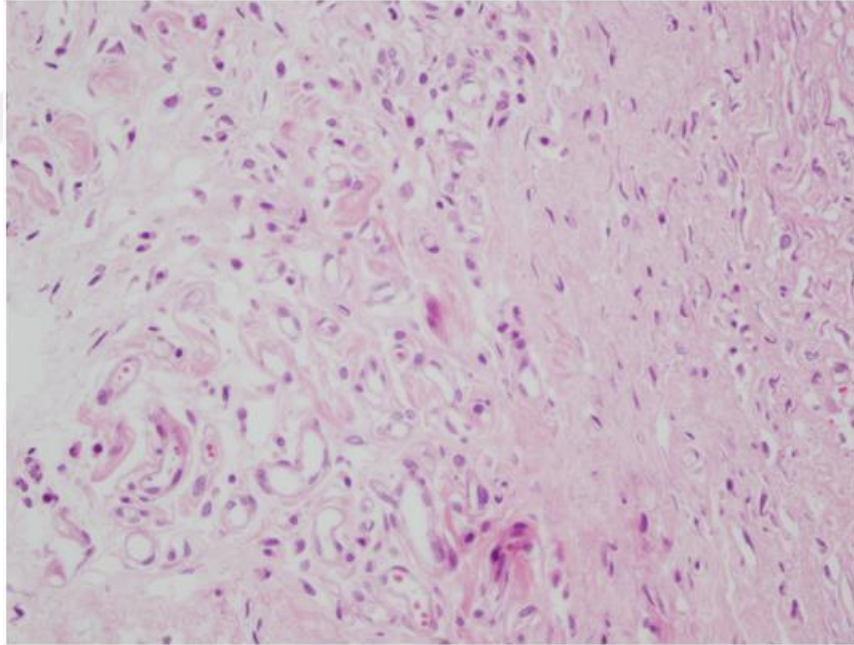
4.3.1.Granülasyon (Hüresellik):Grup I, grup II ve grup III' te granülasyon oranları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.73$, $p=0.72$, $p=0.46$).



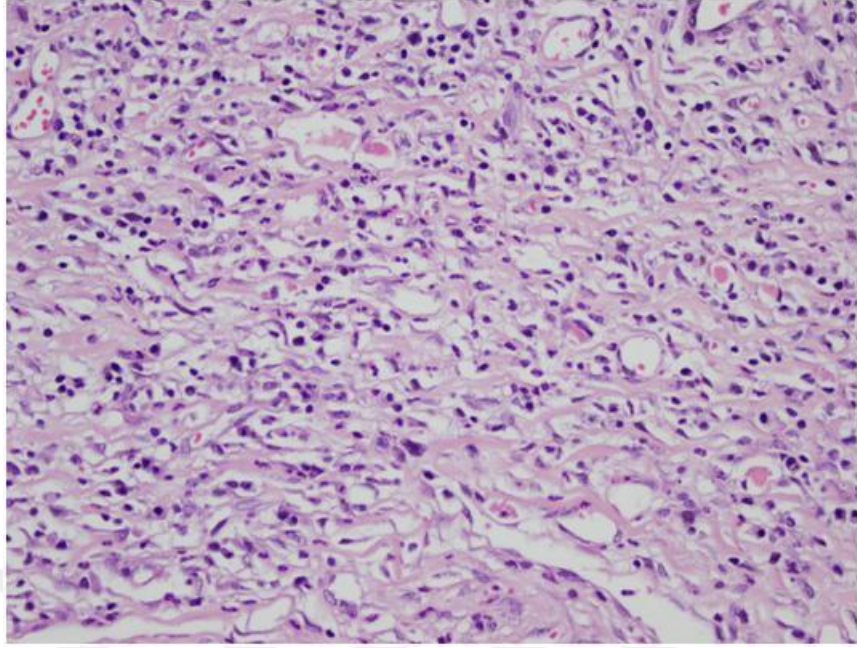
Grafi 9-10-11: Granülasyon Oranları



Resim 15: Grup I (kontrol)'de fitik hattında oluşan granülasyon dokusu (HEx400)

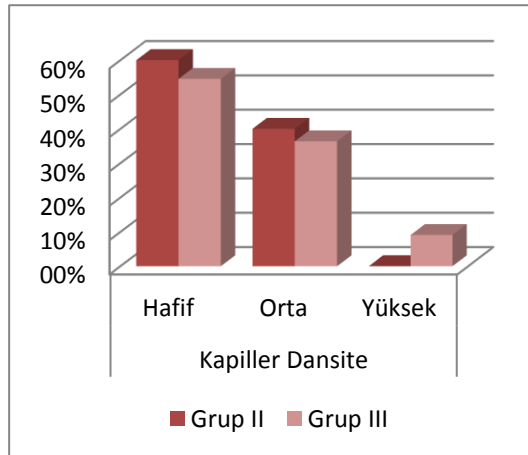
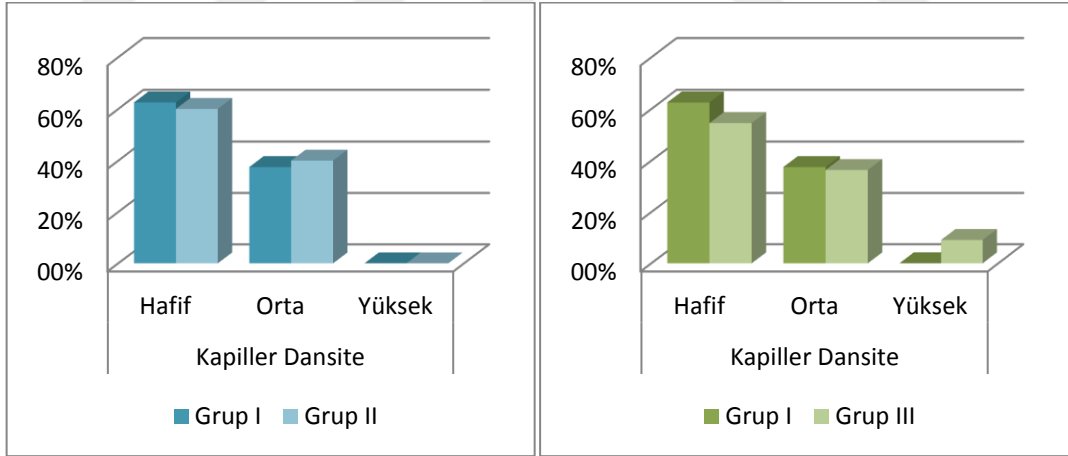


Resim 16: Grup II' de fitik kenarında oluşan granülasyon dokusu (HEx400)

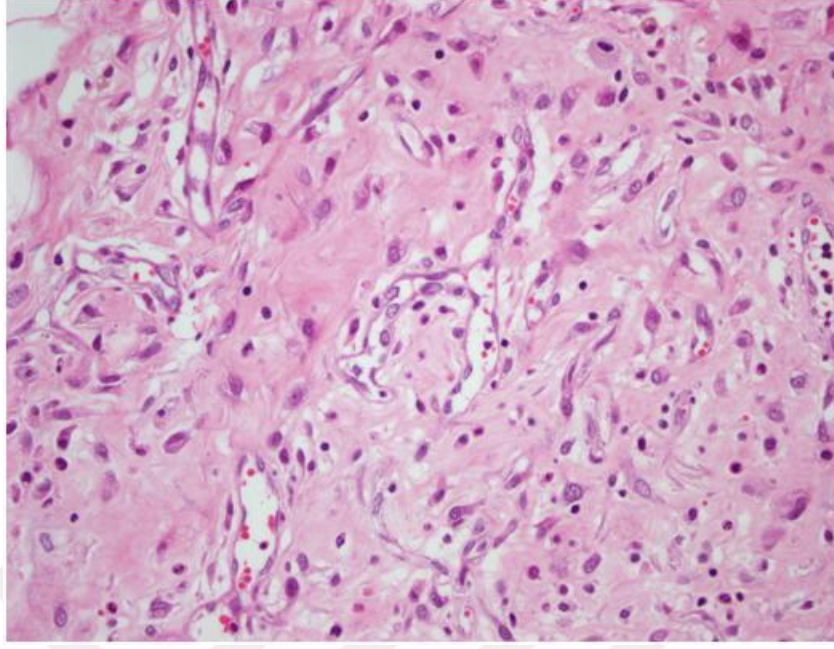


Resim 17: Grup III' te fitik hattında oluşan granülasyon dokusu (HEEx400)

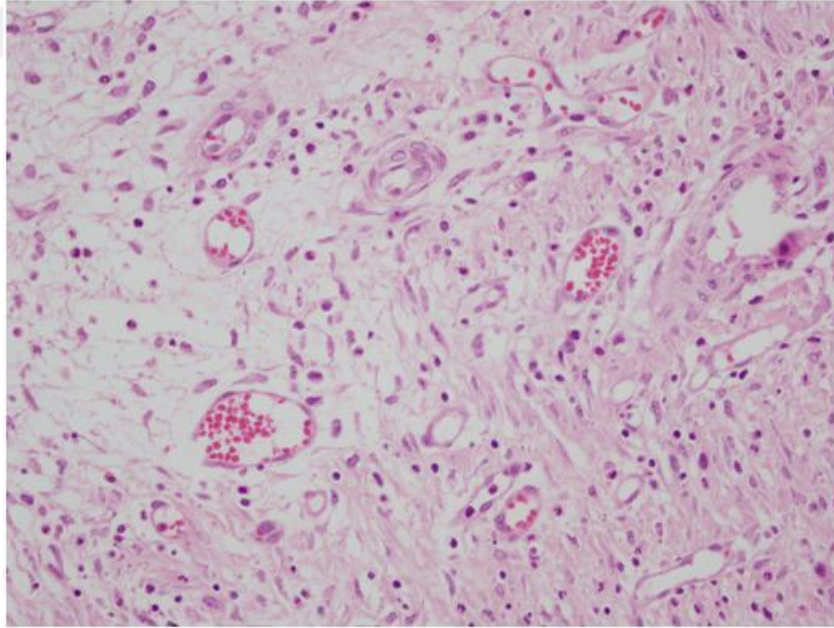
4.3.2.Kapiller Dansite: Grup I, grup II ve grup III' te kapiller dansite değerlendirmesinde tüm gruplarda hafif düzeyde artış görülürken; istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.91$, $p=0.72$, $p=0.80$).



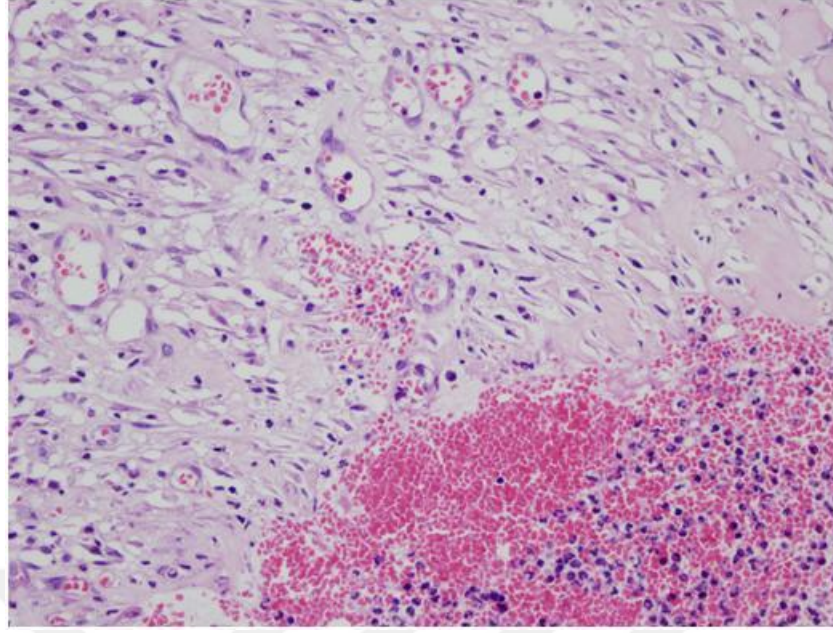
Grafik 12-13-14:Kapiller Dansite Oranları



Resim 18: Grup I' de fitik hatında oluşan kapillerler (HEx400)

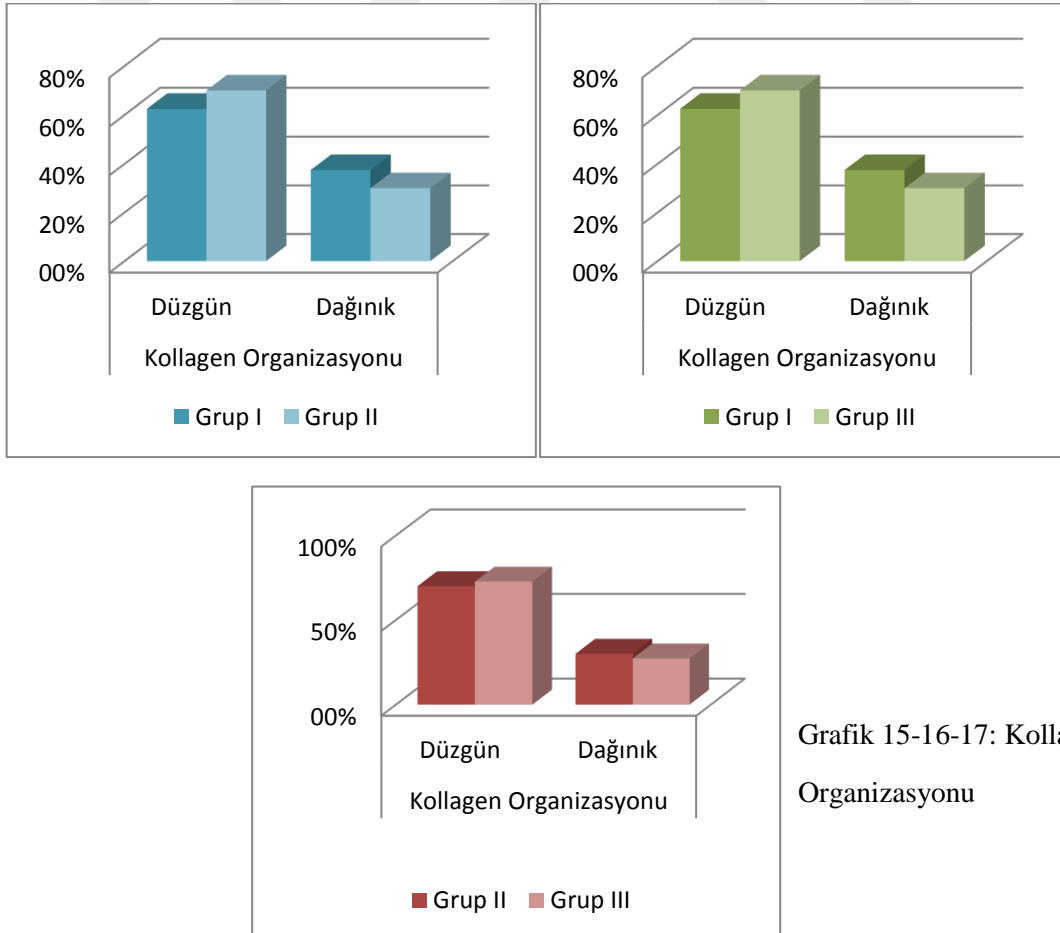


Resim 19: Grup II' de fitik hattında oluşan kapillerler (HEx400)

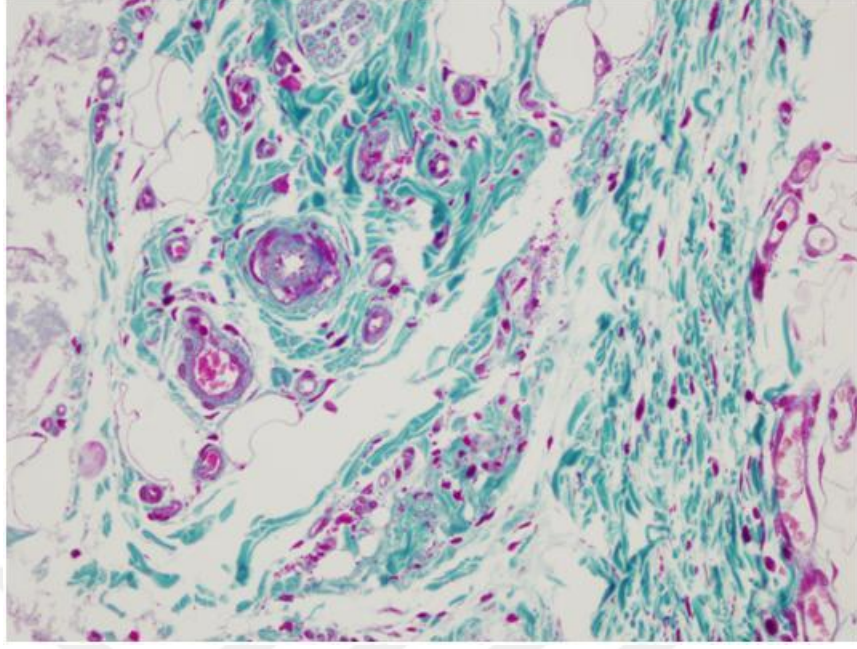


Resim 20: Grup III' te fitik hattında oluşan kapillerler (HEx400)

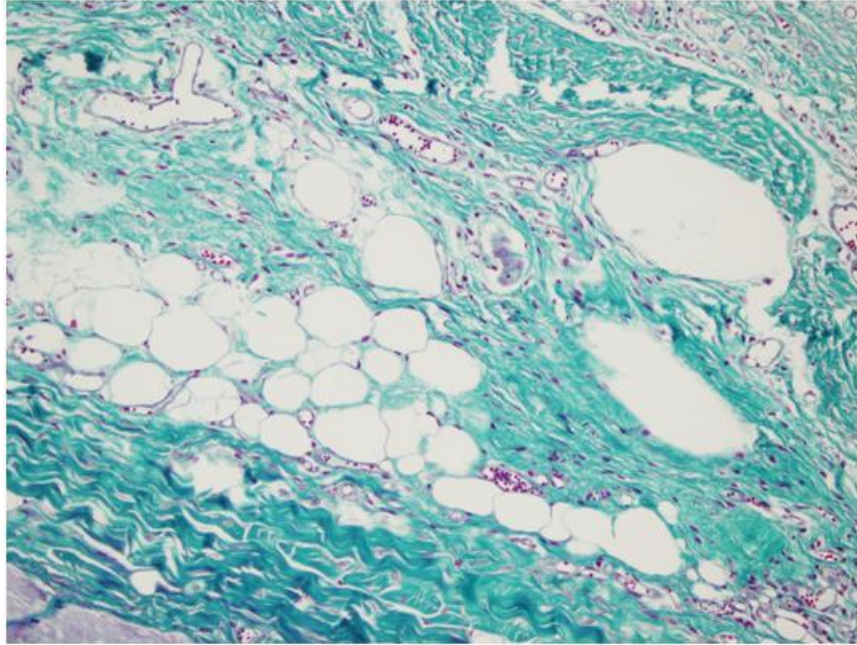
4.3.3.Kollajen Organizasyonu: Grup I, grup II ve grup III' ün kollajen organizasyonlarının değerlendirilmesinde anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.73$, $p=0.63$, $p=0.89$).



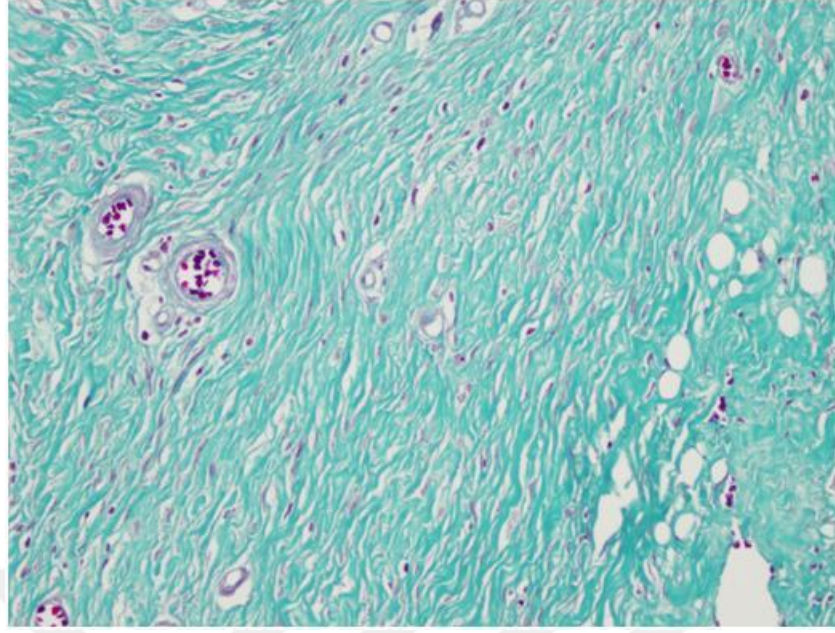
Grafik 15-16-17: Kollajen Organizasyonu



Resim 21: Grup I' de fitik hattına dağınık demetler halinde kollajen lifleri (Massonx400)

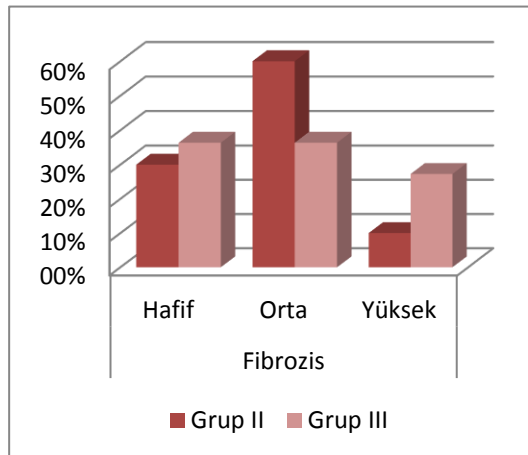
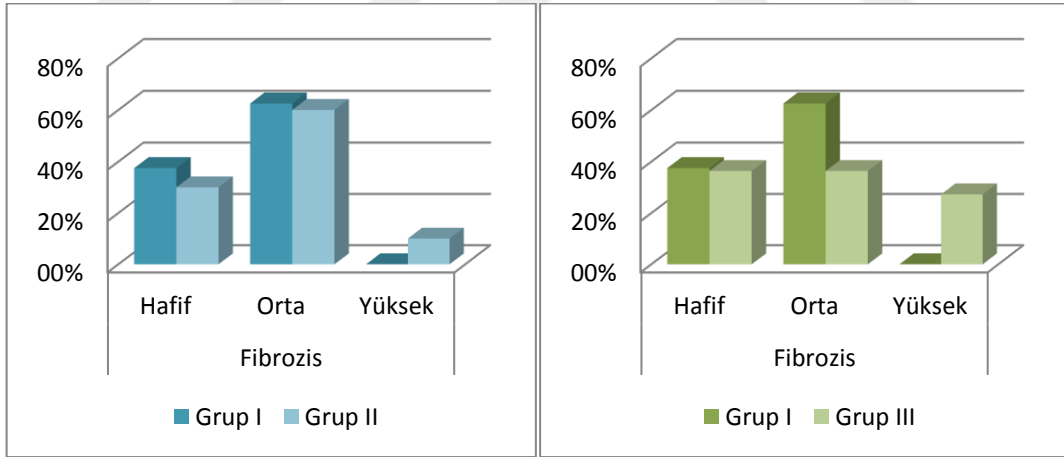


Resim 22: Grup II'de fitik kenarında dűzgűn dađılımlı kollajen lifler (Massonx400)



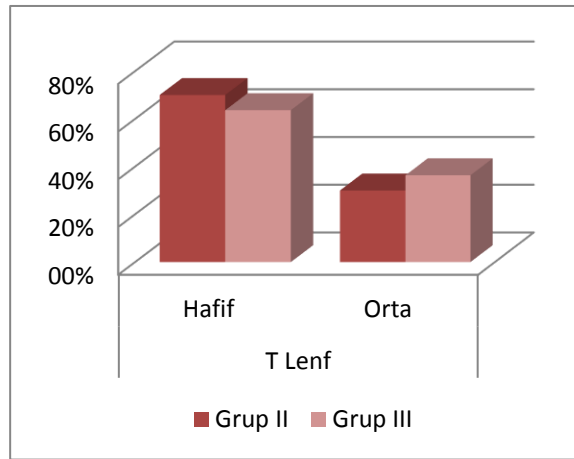
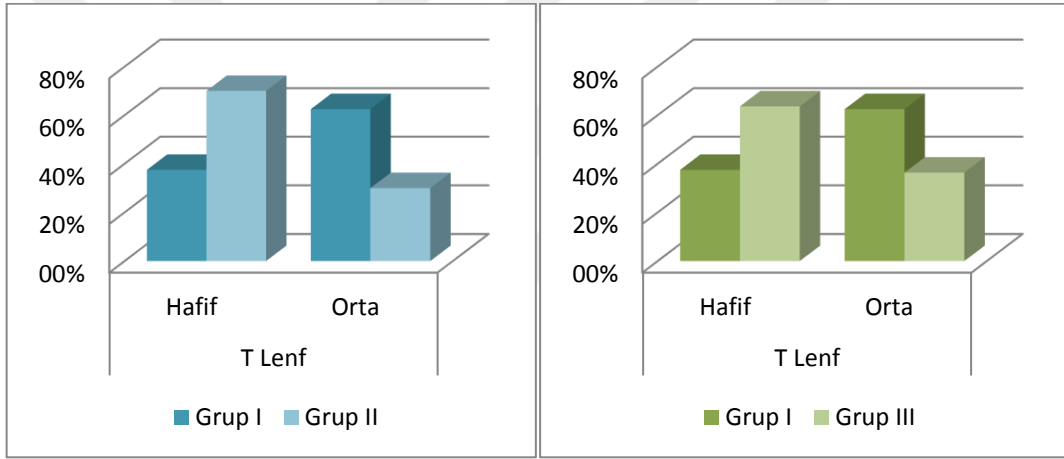
Resim 23: Grup III' te fitik hattına düzgün dağılımlı kollajen lifleri (Massonx400)

4.3.4.Fibrozinin Değerlendirilmesi: Grup I, grup II ve grup III' te yapısal fibrozis oranlarının dağılımını açısından anlamlı farklılık gösterilememiştir ($p=0.73$, $p=0.96$, $p=0.75$).

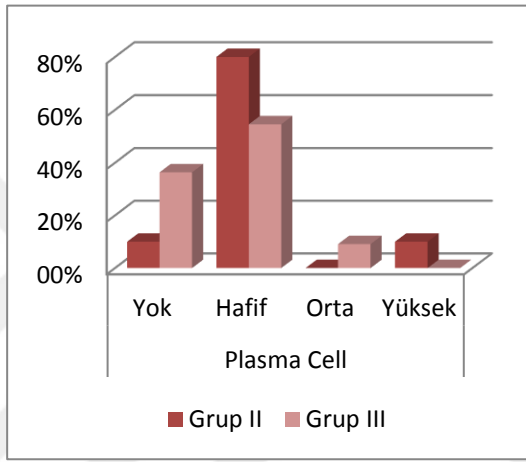
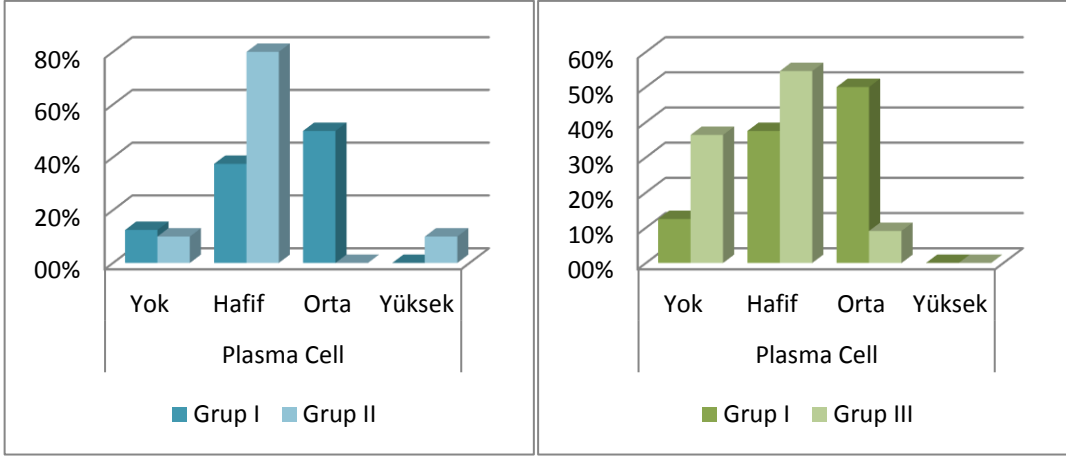


Grafik18-19-20:Fibroz Gradient

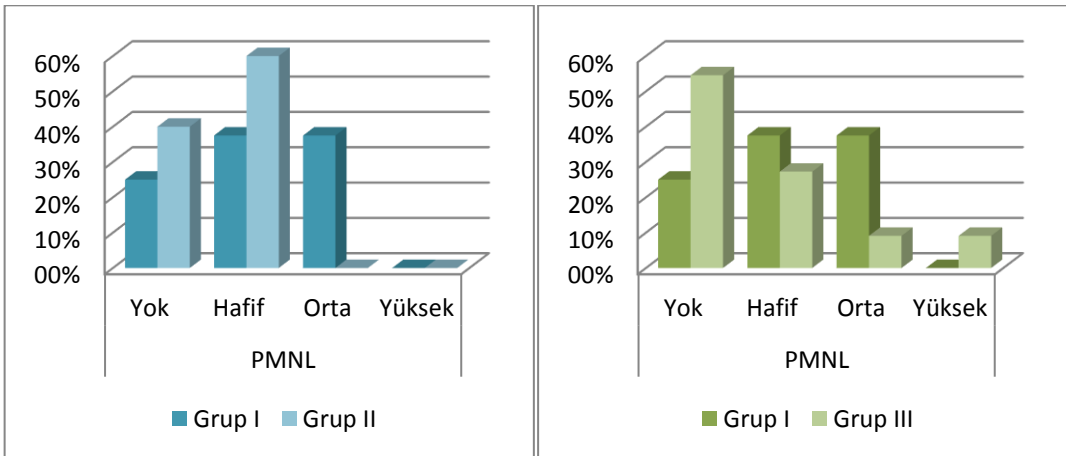
4.3.5.Inflamatuvar Hücreler: Grup I, grup II ve grup III karşılaştırıldığında T lenf oranları arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.168$, $p=0.26$, $p=0.75$). Grup I de plasma hücre oranı orta ve yüksek düzeyde grup III' ten anlamlı ($p=0.046$, $p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Bu farklılık kök hücrelerin inflamatuvar yanıtı azaltıcı etkisine bağlı olabileceği gibi; grup III (6 hafta)' ün grup I (4 hafta)' e göre yara iyileşme sahasının iki hafta daha eski olması ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Grup II , grup I ve grup III ile karşılaştırıldığında plasma hücre oranları arasında anlamlı ($p =0.60$, $p=1$) farklılık saptanmamıştır. Grup I, grup II ve grup III PMNL oranları açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.50$, $p=0.19$, $p=0.50$).

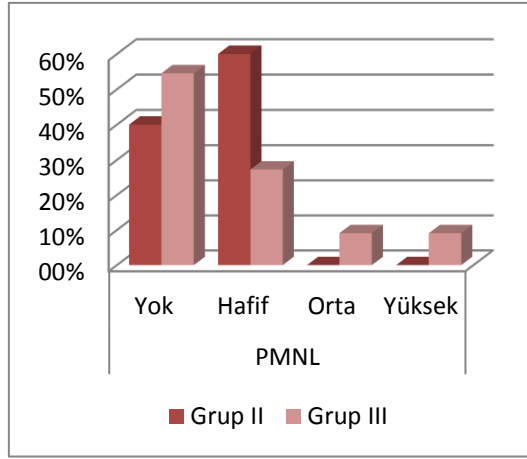


Grafik 21-22-23:
T Lenfosit Oranları



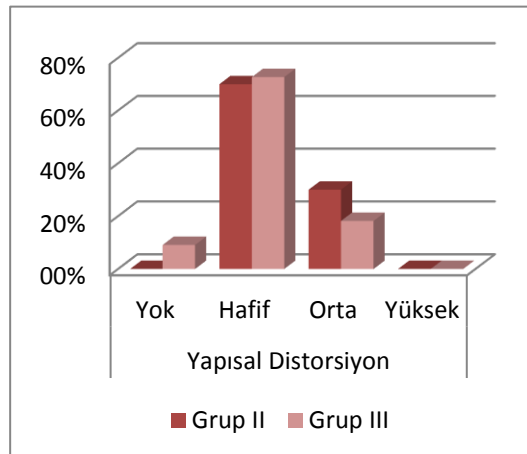
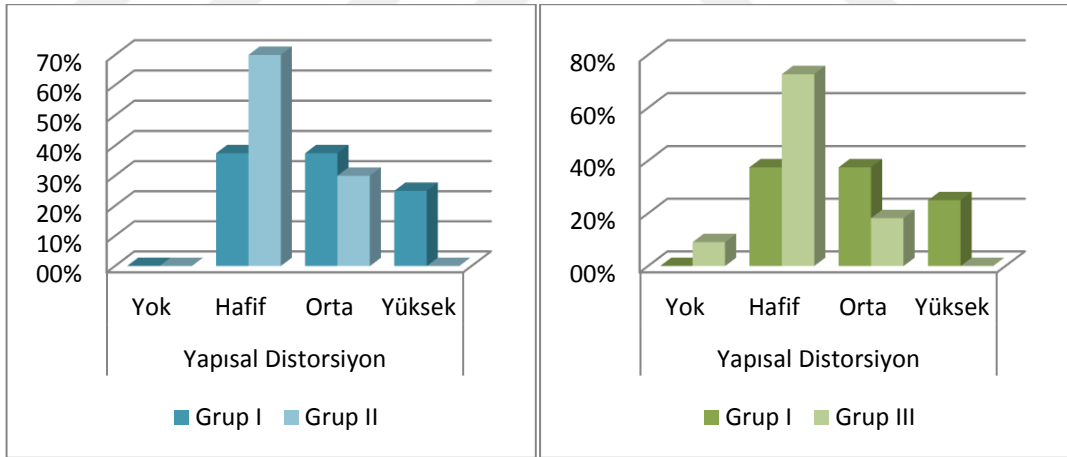
Grafik 24-25-26: Plasma Hücre Oranları





Grafik27-28-29:PMNL Oranları

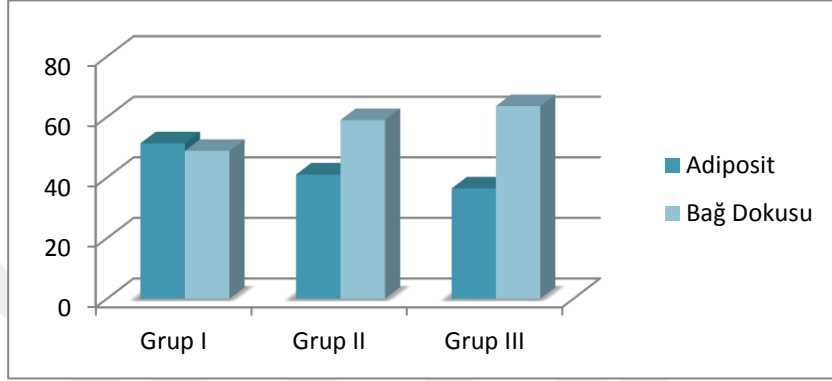
4.3.6.Yapısal Distorsiyon: Grup I ve grup II; grup II ve grup III yapısal distorsiyon açısından karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.16$, $p=0.52$). Grup I' de hafif düzeyde yapısal distorsiyon oranı grup III' ten anlamlı ($p=0.048$, $p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Bu farklılığın grup I 4. haftada; grup III 6. haftasında olan yaralardır. Yapısal distorsiyonun daha yoğun olması iyileşme açısından I. grubun daha erken dönemde olmasına ve III. grupta kök hücrelerin yara yerinin restorasyonunu artırıcı etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür.



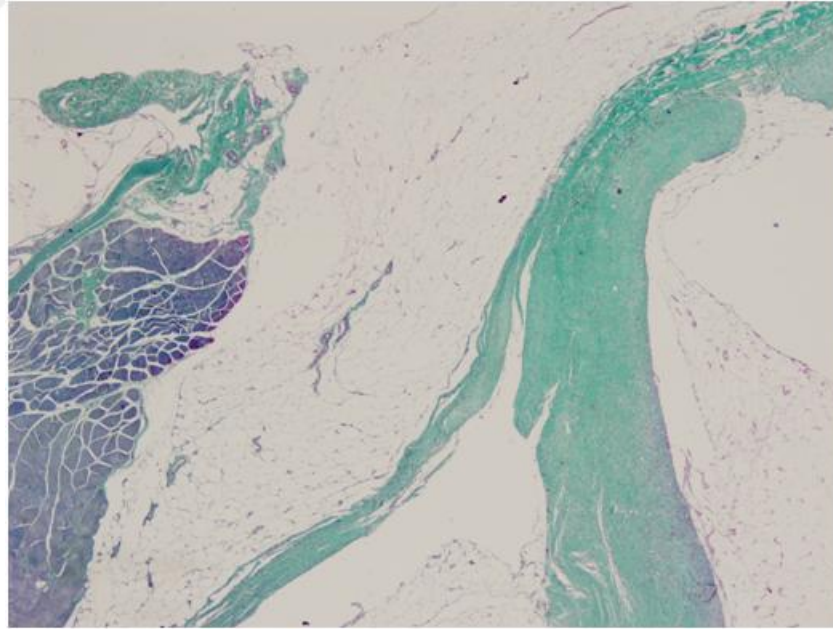
Grafik 30-31-32: Yapısal Distorsiyon Oranları

4.3.7.Adiposit/Bağ Dokusu Oranı

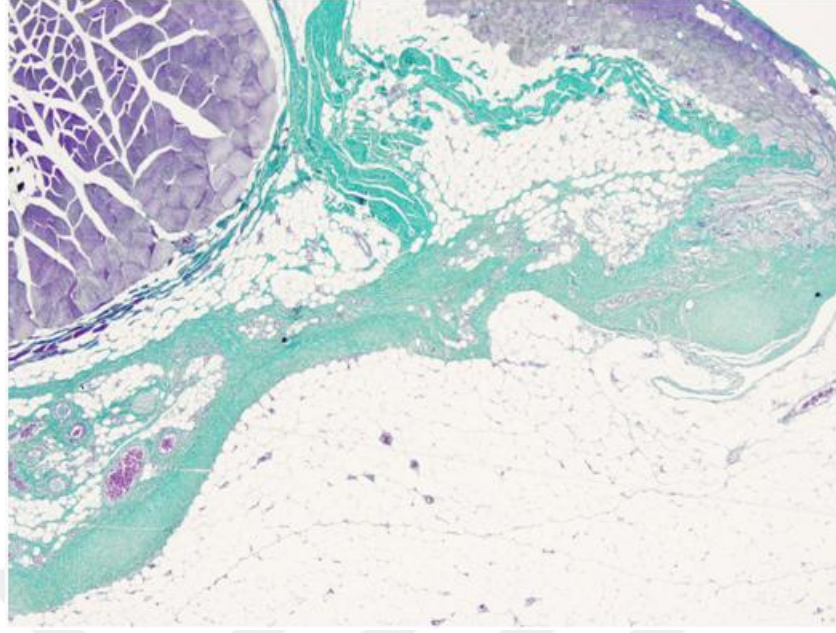
Grup I, grup II ve grup III adiposit oranları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.17$, $p=0.79$, $p=0.61$). Grup I, grup II ve grup III bağ dokusu oranları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.17$, $p=0.79$, $p=0.61$).



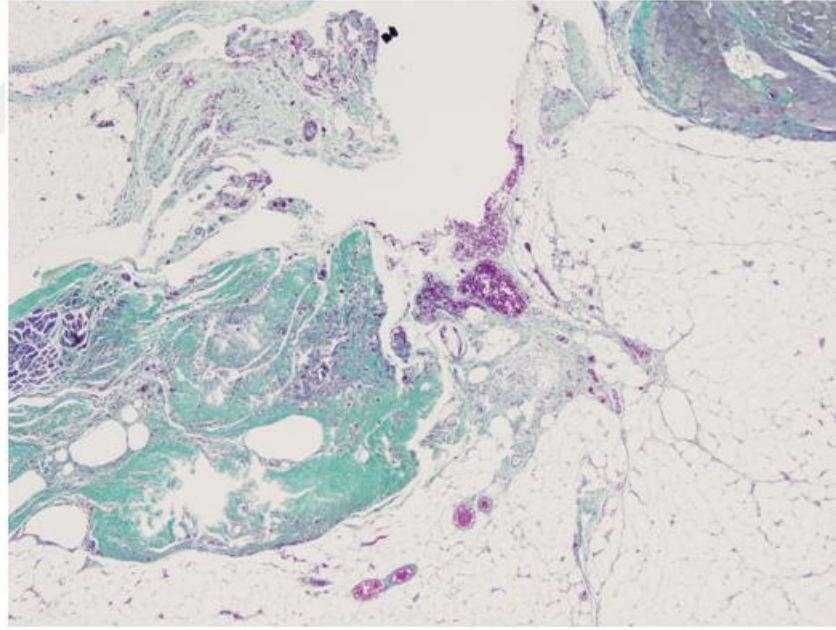
Grafik 33: Adiposit/Bağ Dokusu Oranı



Resim 24: Grup I' de fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)



Resim 25: Grup II' de fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)



Resim 26: Grup III' te fitik defektinde adiposit/ bağ dokusu dağılımının görüntüsü (Massonx40)

5. TARTIŞMA

Karın duvarı fitiklarının tedavisi cerrahlar için hala önemli bir klinik problem yaratmaktadır. Laparotomilerden sonra % 10-20 insizyonel fitik gelişme riski mevcut. Enfeksiyon olması durumundan fitik gelişme riski 5 kat artmaktadır. DM; KOAH, obezite, steroid kullanımı olan yüksek riskli hastalarda fitik ameliyatlarından sonra %51 oranında insizyonel herni rekurrensi bildirilmiştir. Abdominal fitikların güncel tedavisinde kullanılan en yaygın yöntem sentetik polimer meşler kullanılarak gerilimiz fitik tamiridir. Meşlerin kullanılmasıyla bu oran % 4-5'lere kadar gerilemiştir.

Günümüzde ideal meş bulunamadığı gibi meşin yerleştirileceği en uygun anatomik katman da henüz tam olarak belirlenememiştir. Kullanılan sentetik materyaller ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Sitotoksisite ve kronik inflamasyona bağlı adezyon, enterokutan fistül, intestinal obstruksiyon ve perforasyon, enfeksiyon , insizyonel herni rekurrensi, kronik ağrı, immun reaksiyonlara neden olabilmektedirler. Non absorbabl meşler fazla miktarda kollajen üretimiyle karakterize fibrozis formasyonuna neden olmaktadır. Çoğu hasta meşlerin karın duvarında oluşturduğu sertlikten şikayet eder (24,45,46).

Biz çalışmamızda adipoz doku kaynaklı kök hücrelerinin insizyonel herni ve akut oluşturulan defektlerde iyileşme üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Birçok araştırmacı komplikasyon riskini en aza indirmek için yeni materyal ve teknik arayışına girmiştir. Rejeneratif tıp ve doku mühendisliği alanındaki ilerlemelerle kronik yaralar, karın duvarı defektleri için natürel ya da sentetik doku iskeleleri, kök hücre nakilleri gerçekleştirilmektedir. Naturel materyaller transplante edildiği dokuda doku uyumu ve rejenerasyonunu daha iyi sağlamaktadır. Bu amaçla kollajen matrisleri, fasya flepleri, kök hücre ekilmiş sentetik materyaller kullanılmaktadır (47,48,49,50,51,52,53). Kollajen matrisleri için domuz dokuları (bağırsak submukozası gibi), kadavra derisi, domuz damar duvarı kullanılabilir. Günümüzde doku mühendisliği ile üretilen bu ürünler tamamen absorbe edilen ürünler değildir. Fibroblastların kollajen ile birleşmesi için kılıf oluşturmaktadırlar. Böylece oluşan neofasya yamanın yerini alacaktır. Yapılan çalışmalar ekstraselüler matris kılıflarının, doğal dokulardan daha güçlü doku şekillenmesi ile

bağlantılı hızlı bir degradasyon yarattığını göstermiştir. Biyolojik kökenli materyallerin kullanımı daha az inflamatuvar yanıt, artmış anjiyogenezise, azalmış enfeksiyon ve fitik nüksünde azalma sağlamaktadır (47,52,53). Ancak fistülöz drenaj içeriklerinin olması, kollajenin doğal niteliklerini bozarak proteinin sindirilmesine neden olabilmekte ve doku iskelelerinin kullanımını sınırlamaktadır (2).

Biyolojik özellik kazandırılan kök hücre implante edilmiş greftlerin fitik nüksü açısından daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (54).Y.Zhao ve ark ve Ayele ve ark yaptıkları farklı çalışmalarda tavşan derisinden hazırlanmış olan aselüler biyomateryal ve üzerine mezenkimal hücre ekilmiş dermal biyometeryal ile yapılan fitik tamirlerini karşılaştırmışlar ve aselüler dokuda fitik nüksü görürken; mezenkimal kök hücre kullanılan grupta fitik nüksü görmemişlerdir (53,55).

Kollajen doku iskeleleri domuz, sığır, kadavra dokularından hazırlanabilmektedir. Naturel biyomateryallerin daha az inflamatuvar yanıt ve enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir. Ancak allojenik hücreler ve doku matrislerinin enfeksiyonlar için vektör olduğuna dair çalışmalar da mevcuttur. Ryusuke Ae ve ark. dura greftlerinin iatrojenik Cruetefeldt Jacob Hastalığı'na neden olduğuna dair 154 vakalık çalışma yayınlamışlardır (56). Ancak otolog hücrelerle hazırlanan materyaller ve kök hücre nakilleri böyle bir risk taşımamaktadır.

Yara iyileşme sürecinin en önemli komponentlerinden birisi hasarlı dokuda anjiogenezis ve vaskulogenezis ilişkili mikrovasküler ağın oluşturulmasıdır. Mikrovasküler ağın restorasyonunda çok sayıda sitokin ve büyüme hormonu ekstraselüler matriks ile ilişki içerisinde. Hasarlı doku gibi hipoksik ortamlarda vasküler endotelial growth faktör A (VEGF-A) salınımı artarak anjiogenezis indüklenir. Adiposit kökenli kök hücrelerin yüksek VEGF ve anjiogenik sitokinler ürettikleri gösterilmiştir (53,57).Düşük doku oksijenizasyonu aynı zamanda artmış enfeksiyon riski ile de ilişkilidir (53).

Y.Zhao ve arkadaşları tavşan derisinden hazırlanmış olan aselüler biyomateryal ve üzerine mezenkimal hücre ekilmiş dermal biyometeryal ile yapılan fitik tamirlerinde kök hücre kullanılan grupta kapiller dansitenin anlamlı derecede yüksek olduğunu, bunun da kullanılan materyallerin alıcı doku ile bütünleşmesini arttırdığını vurgulamışlardır (53).

Aynı zamanda post-operatif enfeksiyonu riskini azaltarak da yara iyileşmesini arttırdı düşünölmektedir. Nowacki ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada da kök hücre içeren biyomateryallerde de kapiller dansite arttığı tespit edilmiş (45).

M.van ve arkadaşlarının çalışmasında kök hücre ekilmiş biyomateryalli gruplarında kapiller dansitenin anlamlı derecede yüksek olduğu görölmüşür. Kemik iliği kökenli ve adipoz doku kökenli mezenkimal hücre gruplarını hipoksik ortamda karşılaştırmışlar ve hipoksik ortamda ADKKH'lerin KİKKH'ler göre canlılık oranlarının daha fazla olduğunu ve hipoksik koşullarda daha fazla VEGF proteini salgıladıklarını göstermişlerdir. Yara iyileşmesinde adipoz doku kökenli kök hücrelerin kolay izole edilebilir, hipoksik şartlara daha dayanıklı olduğunu vurgulamışlardır (58,59).Buna karşılık Mestak ve ark. sıçanlarda karın duvarı fitik modeli çalışmasında ADKKH kullanılan grup ile yalnızca meş kullanılan grup arasında fark görmemişlerdir (60). Biz yaptığımız çalışmada ise üç grupta da hafif düzeyde kapiller dansite görürken (%58.6) kök hücre kullanılan ve kullanılmayan gruplar arasında anlamlı fark saptamadık.

Bizim alışmamızda periton formasyonu ADKKH kullanılan grup 2 (%75) ve 3'te (%81) kontrol grubuna göre %%25) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Y.Zhao ve ark. yaptığı çalışmada da mezenkimal kök hücre kullanılan grupta aselöler gruba göre periton formasyonu anlamlı derecede yüksek görölmüşür (53). Yine Mestak ve ark.sıçanlarda karın duvarı fitik modeli çalışmasında ADKKH kullandıkları grupta periton rejenerasyonunun artmış olduğunu vurgulamaktadırlar (60). Kök hücre kullanılan gruplarda periton formasyonu artışının, kök hücrelerinin epitelizasyonu arttırıcı etkisine bağlı olduğu düşünölmüşür. Bu durum karın duvarı tamirlerinde barsak adezyonlarını önleyici bir etki sağlayabilir.

Nowacki ve arkadaşlarının yaptığı açlışmada mezenkimal kök hücre ekilmiş biyomateryal kullanılan grupta artmış anjiogenez ve polypropylen kullanılan kontrol grubuna göre daha az inflamatuvar yanıt ve fibroid reaksiyon görölmüşür (45). Bizim alışmamızda mezenkimal kök hücre kullanılan altı haftalık grupta kontrol grubuna göre PMNL anlamlı derecede düşük bulundu. Bu durum kök hücrelerin inflamasyonu azaltıcı etkisine bağlı olabileceği gibi kontrol grubuna göre yara iyileşmesinde iki hafta eski

olmasına bağlı olabilir. Gruplar arasında fibröz gradient değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır.

Zhang ve ark. mezenkimal kök hücre kullanarak ve kullanılmadan doku iskeleleri ile yaptıkları inguinal herni tamiri çalışmasında; kök hücre kullanılan gruplarda kollejen formasyonunun daha fazla ve kollajen diziliminin daha düzenli olduğunu göstermişlerdir (61). Ancak bizim çalışma gruplarımız arasında kollejen dizilimi açısından herhangi farklılık bulunmamaktadır.

Literatürde yapılan çalışmaların çok büyük bir kısmında adipoz doku kaynaklı kök hücreler serum vasküler fraksiyon şeklinde saflaştırıldıktan sonra kök hücre kültürüne alınmış; 3-5 pasajlama sonrası kök hücreler çoğaltıldıktan sonra kullanılmışlardır. Biz serum vasküler fraksiyonunun klinikte pratik şekilde uygulanabilirliğini araştırmayı hedefleyerek hücre kültürü yapmadan uyguladık. Çalışmada kapiller dansite, kollajen dağılımı, inflamatuvar reaksiyon, granülasyon dokusu açısından anlamlı sonuçlar bulunmaması kök hücrelerinin fitik defektinin kapanması üzerine minimal etkisi olduğuna, çalışmada sınırlı sayıda veri kullanılmasına veya kök hücrelerin kültüre alınmadan serum vasküler fraksiyonu halinde kullanılmasına bağlı olabilir. Yaptığımız çalışmanın benzerine literatürde rastlanılmamış olup daha fazla deneysel ve klinik çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Karın duvarı fitıkları özellikle insizyonel herniler hala önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. İdeal meş henüz geliştirilmiş durumda değildir. Rejeneratif tıp ve doku mühendisliği adezyon, enfeksiyon, fistül, intestinal obstrüksiyon, perforasyon, immunolojik reaksiyon riskini en aza indirebilmek ve doku uyumunu arttırabilmek için biyomateryaller ve kök hücre tedavileri üzerinde durmaktadır.

Yara iyileşmesi ve neovaskülarizasyon üzerine olumlu etkileri ortaya konulan kök hücrelerin karın fasya defektlerine olan etkisi incelenmiştir. Makroskopik ve histopatolojik olarak elde edilen sonuçlar istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Mezenkimal kök hücrelerin sentetik veya doğal doku iskeleleri üzerine ekilerek fitık iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran çok sayıda deneysel çalışma mevcuttur. Ancak literatüre adipoz doku kaynaklı kök hücrelerin fitık defekti üzerine doğrudan etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Sıçanlarda yapılan bu çalışma sonucunda ADKHH'lerin insizyonel herni modelinde periton formasyonunu arttırıcı etkisi görülmüştür. ADKHH kullanılan altı haftalık grupta PMNL infiltrasyonu kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca yapısal distorsiyon kontrol grubunda ADKHH kullanılan altı haftalık gruba göre yüksek görülmüştür. Gruplar arasında granülasyon, kapiller dansite, fibröz gradient, kollajen dizilimi açısından farklılık ortaya çıkmamıştır.

Adiposit doku kökenli hücre eldesi; hazırlanması ,uygulamasıkolay güvenilir, maliyet etkin bir yöntemdir. Bu özellikleriyle ADKHH'lerin karın duvarı fitıklarının tedavisinde kullanılması arzu edilse de ADKHH'lerin in vivo yara iyileşmesi üzerine etkisi kompleks bir süreçtir. Bu metod vaka ve veri sayısı sınırlı aynı zamanda daha önce denenmemiş bir çalışmadır. Bu alanda yapılacak daha çok sayıda deneysel çalışma ile ileride karın duvarı fitıklarının tedavisinde canlı- doğal bir tedavi şekli geliştirileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Zhao Y, Zhang Z, Wang J, Yin P, Zhou J, Zhen M, Cui W, 1u G, Yang D, Liu Z. Abdominal hernia repair with a decellularized dermal scaffold seeded with autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Artif Organs* 203 Mar;36(3):247055. doi: 10.31/j.152501594.202.03143.1.
- 2- Kingsnorth AN, Leblanc KA. Fıtık onarımında yapay gereçler. Malazgirt Z, Ertem M (editör). *Karın Duvarı Fıtıkları Tedavi Yaklaşımları*. Nobel Tıp Kitabevleri, 2007; 78-104.
- 3- Altman AM, Abdul Khalek FJ, Alt EU, Butler CE. Adipose tissue derived stem cells enhance bioprosthetic mesh repair of ventral hernias. *Plast Reconstr Surg* 2010;36:845–854. doi:10.1097/PRS.0b031e3181e6044f
- 4- Petter Puchner AH, Fortelny RH, Gruber Blum S, Rdedl H, Dietz U. The future of stem cell therapy in hernia and abdominal wall repair. *Hernia* 2015 Feb;19(1):25031. doi: 10.1007/s100290014038807.
- 5- Ou Y, Qu R, Dai J. Experimental biological research on stem cells in fascia tissue. *J acupunct Meridian Stud.* 2031 Jun;6(3):39033. doi: 10.1016/j.jams.2031.03.004.
- 6- Bellows CF, Alder A, Helton WS. Abdominal wall reconstruction using biological tissue grafts: present status and future opportunities. *Elpert Rev Med Devices*. 2006 Sep;3(5):657075.
- 7- Nowacki M, Jundzi A, Nazarewski A, Kotela A, Kloskowski T, Wisniewska JS, Bodnar M, Aukasiewicz A, Nazarewski SB, Kotela I, Kucharzewski M, Pokrywczynska P, Marszalek A, Drewa T. Blood Vessel Matri1 Seeded with Cells: A Better Alternative for Abdominal Wall Reconstruction; A Long Term Study. *BioMed Research International Volume 2015, Article ID 890631, 8 pages* <http://d1.doi.org/10.255/2015/890631>
- 8- Kingsnorth AN, Leblanc KA. Karın duvarı anatomisi. Malazgirt Z, Ertem M (editör). *Karın Duvarı Fıtıkları Tedavi Yaklaşımları* içinde. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007; 17-39.
- 9- Netter FH. *İnsan Anatomisi Atlası* (3th ed). Cumhur M (editör). Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri 2005; 242-243.
- 10- Brunicaardi, FC, *et al.* Karın duvarı, omentum, mezenter ve retroperiton. Özmen M (editör). *Schwartz's principles of surgery* (10th.ed) içinde. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2016; 1449-1464.
- 11- Netter FH. *İnsan Anatomisi Atlası* (3th ed). Cumhur M (editör). Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri 2005; 244.
- 12- Carlson, M. A., Ludwig, K. A. & Condon, R. E. Ventral hernia and other complications of 1,000 midline incisions. *South. Med. J.* **88**, 450–3 (1995).
- 13- Chau, T. C., Yoshino, O. & Bohmer, R. Herniated gastric varix presenting as an epigastric hernia: a rare case report. *ANZ J. Surg.* ans.15284 (2019). doi:10.1111/ans.15284
- 14- Ponten, J. E. H., Somers, K. Y. A. & Nienhuijs, S. W. Pathogenesis of the epigastric hernia. *Hernia* 2012 (**16**); 627–633.
- 15- Fathi A. H., Soltanian, H. & Saber, A. A. Surgical anatomy and morphologic variations of umbilical structures. *Am. Surg.* 2012 (**78**); 540–544 .

- 16- Bedewi, M. A., El-Sharkawy, M. S., Al Boukai, A. A. & Al-Nakshabandi, N. Prevalence of adult paraumbilical hernia. Assessment by high-resolution sonography: a hospital-based study. *Hernia* 2012;**16**, 59–62 .
- 17- Naik, S. C. *et al.* Mesh repair versus mayo repair for paraumbilical hernia: a comparative study. *Int. Surg. J. Naik SC al. Int Surg J* 2018 (**5**); 1052–1056.
- 18- Tran, H., Tran, K., Zajkowska, M., Lam, V. & Hawthorne, W. J. Single-Incision Laparoscopic Repair of Spigelian Hernia. (2015). doi:10.4293/JSLS.2015.001644
- 19- Lamont, P. M. & Ellis, H. Incisional hernia in re-opened abdominal incisions: an overlooked risk factor. *Br. J. Surg.* 1988 (**75**); 374–6.
- 20- Majumder, A., Gao, Y., Sadava, E. E., Anderson, J. M. & Novitsky, Y. W. Cell-coating affects tissue integration of synthetic and biologic meshes: comparative analysis of the onlay and underlay mesh positioning in rats. *Surg. Endosc.* 2016 (**30**); 4445–4453.
- 21- Helton, W. S. *et al.* Short-term Outcomes With Small Intestinal Submucosa for Ventral Abdominal Hernia. *Arch. Surg.* 2005 (**140**); 549.
- 22- Minardi, S. *et al.* Biomimetic collagen/elastin meshes for ventral hernia repair in a rat model. *Acta Biomater.* 2017 (**50**); 165–177 .
- 23- Ko, R., Kazacos, E. A., Snyder, S., Ernst, D. M. J. & Lantz, G. C. Tensile Strength Comparison of Small Intestinal Submucosa Body Wall Repair. *J. Surg. Res.* 2006 (**135**); 9–17.
- 24- Drewa, T. *et al.* Abdominal wall repair using a biodegradable scaffold seeded with cells. *J. Pediatr. Surg.* 2005 (**40**); 317–321.
- 25- Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotent tail cells from Mouse embryos. *Nature* 1981; 292:154-6.
- 26- Avcılar H, Saraymen B, Özturan Oö, Köker My. Embryonic Stem Cells And Induced Pluripotent Stem Cells' Asthma Allergy Immunol 2018;16:1-10.
- 27- Erden S. Kök Hücreler Ve Klinikte Kullanımları. *Journal Of New Results In Engineering And Natural Science*, Number: 3 Year: 2014, 1-8.
- 28- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-
- 29- Ilic D, Polak JM. Stem cells in regenerative medicine: Introduction. *Br Med bull* 2011;98:117-26.
- 30- Amirkhani M. A., Mohseni, R., Soleimani, M., Shoaie-Hassani, A. & Nilforoushzadeh, M. A. A rapid sonication based method for preparation of stromal vascular fraction and mesenchymal stem cells from fat tissue. *Bioimpacts* 2016;**6**, 99–104.
- 31- Francis, M. P., Sachs, P. C., Elmore, L. W. & Holt, S. E. Isolating adipose-derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction. *Organogenesis* 2010 (**6**); 11–14.
- 32-Boquest, A. C., Shahdadfar, A., Brinchmann, J. E. & Collas, P. Isolation of Stromal Stem Cells From Human Adipose Tissue. in *Nuclear Reprogramming* **325**, 35–46 (Humana Press, 2006).
- 33- Bunnell AB, Flaatt M, Gagliardi C, Patel B, Ripoll C. Adipose derive Stem Cels: Isolation, expansion and differentiation. *Methods* Volume 45, Issue 2, June 2008; 25-30

- 34- Micheal PF,Patrick CS,Lynne WE,Shawn EH.Isolating adipose derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction .*Organogenesis* 6:1, 2014; January/February/March 2010; © 2009 Landes Bioscience
- 35- Zuk PA1, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 31:4279–4295. doi:10.1091/mbc.E0200200105
- 36- Wang, J.Q. and Bai, S.L. Research and present clinical applications of adipose derived stem cells. *Chin J Aesthet Plast Surg.* 2009; 20: 317–33
- 37- Jeffrey M.G, Adam J.K, Bruce A.B Adipose Derived Stem Cells for Regenerative Medicine. *Circ Res.* 2007;100:3490360.
- 38- Boquest AC,Shahdadfar A,Brinchmann JE,Collas P.Isolation of Stromal Stem Cells from Human Adipose Tissue. *Methods Mol Biol.* 2006;325:35046.
- 39- Owen GD, Paul RC, Richard MS, Anthony JS,Ben AS. Isolation of adipose and bone marrow mesenchymal stem cells using CD29 and CD90 modifies their capacity for osteogenic and adipogenic differentiation. *J Tissue Eng.* 2015 Jun 32;6:2041731415593256. doi: 10.2777/2041731415593256. eCollection 2015 Jan-Dec
- 40- Korbling M and Z Estrov, Adult stem cells for tissue repair-a new therapeutic concept? *N Engl J Med,* 2003;349:570-582.
- 41- Boquest, A. C., Shahdadfar, A., Brinchmann, J. E. & Collas, P. Isolation of Stromal Stem Cells From Human Adipose Tissue. in *Nuclear Reprogramming* **325**, 35–46 (Humana Press, 2006).
- 42- Ergin E, Ekici Y, Ataç FB. Tissue Engineering And Its Application Areas. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2018;38(1):70-8 Doi: 10.5336/Medsci.2017-57770
- 43- Karakeçili A, Demirtaş TT. Klinisyenler İçin Doku Mühendisliği Konsepti, Doku İskelesi Fabrikasyon Teknikleri. *Türkiye Klinikleri J Plast Surg-Special Topics* 2015;4(3):27-32
- 44- Song Z. *et al.* Reconstruction of abdominal wall musculofascial defects with small intestinal submucosa scaffolds seeded with tenocytes in rats. *Tissue Eng. Part A* 2013; **19**, 1543–53 .
- 45- Nowacki, M. *et al.* Blood Vessel Matrix Seeded with Cells: A Better Alternative for Abdominal Wall Reconstruction—A Long-Term Study. *Biomed Res. Int.* **2015**; 1–8.
- 46-Scales J. T. Tissue reactions to synthetic materials. *Proc. R. Soc. Med.* 1953 (**46**); 647–52.
- 47- Cumberland V. H. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. *Med. J. Aust.* 1952 (**1**); 143–4.
- 48- DeKoninck, P. *et al.* Routine isolation and expansion late mid trimester amniotic fluid derived mesenchymal stem cells in a cohort of fetuses with congenital diaphragmatic hernia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **178**, 157–62 (2014).
- 49- Fuchs, J. R. *et al.* Diaphragmatic reconstruction with autologous tendon engineered from mesenchymal amniocytes. *J. Pediatr. Surg.* **39**, 834–8; discussion 834-8 (2004).
- 50- Deeken, C. R. & Lake, S. P. Mechanical properties of the abdominal wall and biomaterials utilized for hernia repair. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* (2017). doi:10.1016/j.jmbbm.2017.05.008
- 51- P., G. *et al.* Experimental abdominal wall defect repaired with acellular matrix. *Pediatr. Surg. Int.* 2002 (**18**); 327–331.

- 52- Francesco, F. De *et al.* A Non-Enzymatic Method to Obtain a Fat Tissue Derivative Highly Enriched in Adipose Stem Cells (ASCs) from Human Lipoaspirates: Preliminary Results. *Int. J. Mol. Sci.* 2018 (**19**); 2061.
- 53- Zhao Y. *et al.* Abdominal Hernia Repair With a Decellularized Dermal Scaffold Seeded With Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Artif. Organs* 2012; **36**, 247–255.
- 54- Horan R. L. *et al.* Biological and biomechanical assessment of a long-term bioresorbable silk-derived surgical mesh in an abdominal body wall defect model. *Hernia* 2009; **13**, 189–199 .
- 55-Ayele, T., Zuki, A. B. Z., Noorjahan, B. M. A. & Noordin, M. M. Tissue engineering approach to repair abdominal wall defects using cell-seeded bovine tunica vaginalis in a rabbit model. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2010; **21**, 1721–1730 .
- 56- Ae, R. *et al.* Update: Dura Mater Graft-Associated Creutzfeldt-Jakob Disease - Japan, 1975-2017. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2018 (**67**); 274–278.
- 57- Strioga M, Viswanathan, S., Darinskas, A., Slaby, O. & Michalek, J. Same or Not the Same? Comparison of Adipose Tissue-Derived Versus Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem and Stromal Cells. *Stem Cells Dev.* 2012; **21**, 2724–2752 .
- 58- Van Steenberghe, M., Schubert, T., Guiot, Y., Goebbels, R. M. & Gianello, P. Improvement of mesh recolonization in abdominal wall reconstruction with adipose vs. bone marrow mesenchymal stem cells in a rodent model. *J. Pediatr. Surg.* 2017 (**52**); 1355–1362.
- 59- Lisiecki, J. *et al.* Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells from Ventral Hernia Repair Patients Demonstrate Decreased Vasculogenesis. *Biomed Res. Int.* **2014**, 1–7 (2014).
- 60- Mestak, O. *et al.* Mesenchymal Stem Cells Seeded on Cross-Linked and Noncross-Linked Acellular Porcine Dermal Scaffolds for Long-Term Full-Thickness Hernia Repair in a Small Animal Model. *Artif. Organs* 2014; **38**, 572–579.
- 61- Zhang, Y. *et al.* Preparation of a nano- and micro-fibrous decellularized scaffold seeded with autologous mesenchymal stem cells for inguinal hernia repair. *Int. J. Nanomedicine* **Volume 12**, 2017; 1441–1452.