

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**FEKAL PERİTONİT VARLIĞINDA KARIN
KAPATILMASINDA PRP'NİN (PLATELETTEN ZENGİN
PLAZMA) FASYA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Kenan BİNNETOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mustafa GİRGIN**

**ELAZIĞ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN _____

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Yavuz Selim İLHAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa GİRGIN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimim süresince destek ve yardımlarını her an yanımda hissettiğim, değerli hocalarım; başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Yavuz Selim İLHAN olmak üzere, Prof. Dr. Ziya ÇETİNKAYA, Prof. Dr. Erhan AYGEN, Doç. Dr. Refik AYTEN, Doç. Dr. Cüneyt KIRKIL, Doç. Dr. Koray KARABULUT ve tez çalışmalarım esnasında benden desteğini, sabrını ve anlayışını esirgemeyen Doç. Dr. Mustafa GİRĞİN'e minnet ve teşekkürlerimi borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmalarım esnasında bilgi ve deneyimlerine danıştığım, Fırat Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Zootekni A.D öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim ŞEKER, Fırat Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji A.D öğretim üyesi Prof. Dr. Necati TİMURKAAN'a ve saygıdeğer arkadaşım Dr. Burhan Hakan KANAT'a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca kardeş gibi gördüğüm ve hiçbir zaman unutmayacağım asistan arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Bana hayatım boyunca iyi ve kötü günlerde her türlü desteklerini esirgemeyen ve koşullar ne olursa olsun her mutluluğumda ve üzüntümde her an güvenini ve varlığını hissettiren eşim ve aileme minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yönetim birimi başkanlığı tarafından TF.12.51 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Karın ön duvarı fasyasının iyileşmesi yara iyileşmesi ile aynı prensibe dayanmaktadır . Karın ön duvarı fasyasının iyileşme hızı ve kalitesi başta enfeksiyon olmak üzere yara iyileşmesini etkileyen faktörlere bağlıdır. Fasya iyileşmesi yara iyileşmesi ve doku yenilenmesi ile yakından ilişkilidir. İnsizyonel herniler cerrahi girişimin bir komplikasyonu olarak düşünülür. Bu hernilerin büyük çoğunluğu karın ön duvarını ilgilendirir. İnsizyonel herniler önemli iş gücü kaybına, morbidite hatta mortaliteye sebep olmaktadır. Karın ön duvar fasya iyileşmesinin gerek hastaya ait gerek cerrahi işleme ait faktörlerden etkilendiği ve bunun insizyonel herni için risk oluşturduğu bilinmektedir.

Trombositlerin, çeşitli hücrelerin ve özellikle kök hücrelerin aktive edilmesinden sorumlu birçok biyoaktif proteinleri salgıladığı ve böylece doku yenilenmesini ve iyileşmesini hızlandırdığı artık iyi bilinmektedir. Trombositten (plateletten) zengin plazma (PRP) çok miktarda trombosit, büyüme ve pıhtılaşma faktörlerini içermektedir. PRP dokuların iyileşmesi ve yenilenmesi amacıyla ilgili yapıya uygulanır.

Bu çalışmada deneysel olarak fekal peritonit oluşturulmuş ratlarda daha önce denenmemiş bir tekniği uygulayarak lokal olarak kullanılan PRP'nin yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkilerini göz önünde bulundurarak fasya iyileşmesi üzerindeki etkisinin ne olacağını araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada her grupta yedişer olacak şekilde toplam 28 rat kullanıldı. Grup 1 (Kontrol grubu); fekal peritonit oluşturulmadan primer fasya tamiri yapıldı, Grup 2; Fekal peritonit oluşturulmadan primer fasya tamiri yapıldı ve lokal olarak PRP uygulandı, Grup 3; Fekal peritonit oluşturularak primer fasya tamiri yapıldı, Grup 4; Fekal peritonit oluşturularak primer fasya tamiri yapıldı ve lokal olarak PRP uygulandı. Araştırma kapsamında histolojik olarak; hücre infiltrasyonu, neovaskülarizasyon, fibroblast aktivasyonu ve kollajen birikimi, biyokimyasal olarak ise doku hidrokspirolin, TNF α ve TGF β düzeyleri ölçüldü.

TNF α düzeyleri PRP uygulanan gruplarda kontrol gurubuna kıyasla yüksek tespit edildi (P<0.001). TGF- β değerleri ise sadece peritonit varlığında PRP uygulanan grupta yüksek tespit edildi. Doku hidrokspirolin düzeyleri bakımından gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmadı (P>0.05). Yangısal hücre

infiltrasyonu ve kollajen birikimi bakımından gruplar arasında farklılıklar önemli bulunmadı ($P>0.05$). Ancak, neovaskülarizasyon ve fibroblast aktivasyonunun, PRP uygulanan ve peritonit varlığında PRP uygulanan gruplarda önemli düzeyde arttığı, peritonitli grupta ise azaldığı saptandı.

PRP'nin histolojik ve biyokimyasal yara iyileşme parametrelerinden hücre infiltrasyonu, kollajen birikimi ve doku hidroksiprolin seviyesinde belirlenen artışın önemli olmadığını, aksine neovaskülarizasyon, fibroblast aktivasyonu ve TNF α düzeyinde artışın saptanmasının ise önemli olduğu ve iyileşmeyi hızlandırdığı tespit edilmiştir.

PRP'nin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini göstermek için birçok cerrahi alanda yapılacak çalışmalar ile klinik uygulamalarda önemli bir yer alacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Plateletten zengin plazma, fasyaiyileşmesi, yara iyileşmesi,

ABSTRACT

THE EFFECT OF PRP (PLATELET RICH PLASMA) ON FASCIAL HEALING DURING ABDOMINAL WALL CLOSURE IN THE PRESENCE OF FECAL PERITONITIS

Healing of abdominal wall fascia is based on the same principle with wound healing. The rate of recovery of the anterior abdominal wall fascia and quality such as infection depends on factors affecting wound healing. Fascia wound healing, tissue repair and healing are closely related. Incisional hernia occurred in a previous surgical area is considered to be a complication of surgery. The majority of this type of hernia is related to the anterior abdominal wall. Incisional hernias with significant loss of manpower, are causes of morbidity and even mortality. Anterior abdominal wall fascia healing influenced either by surgical factors or influenced by patient specific factors, these conditions are known as risk factors for incisional hernia.

It is known today, platelets are responsible for the activation of a variety of cells, especially stem cells, by secreting many bioactive proteins accelerating tissue regeneration and healing. Platelet Rich Plasma (PRP) includes high level of platelets, growth and clotting factors. PRP is applied to responding structures for tissue healing and regeneration.

In this study we performed a unique experimental technique on rats. After performing fecal peritonitis, PRP was applied locally to see effects on fascia healing with the consideration of positive effect on wound healing.

This study has used 28 rats, as being 7 rats in each group. Group 1 (control group): Primary fascia repair has done without peritonitis performed. Group 2; Fascia repair has done and local PRP has given without peritonitis performed. Group 3; Primary fascia repair has done with fecal peritonitis performed. Group 4; Fascia repair has done and local PRP has given with fecal peritonitis performed. In the study; histologically, cellular infiltration, neovascularization, fibroblast activation, collagen accumulation observed. Biochemically, tissue hydroxyproline, TNF Alfa, TGF Beta levels were observed.

TNF Alfa levels were higher in PRP given groups according to control group ($p < 0.001$). TGF Beta levels were higher only in PRP given group with fecal peritonitis performed. Tissue hydroxyproline levels were not statistically different in

groups ($p>0.05$). Inflammatory cellular infiltration and collagen accumulation were not statistically different in groups ($p>0.05$). Neovascularization and fibroblast activation were increased statistically different in PRP given and PRP has given with fecal peritonitis performed groups. Neovascularization and fibroblast activation were decreased statistically in peritonitis performed group.

When PRP has given histologically and biochemically as wound healing parameters cellular infiltration, collagen accumulation, and tissue hydroxyproline levels were not increased but neovascularization, fibroblast activation and TNF Alfa levels were increased and PRP accelerated wound healing.

We suggest that clinical application and surgical studies will be important in the future to show positive effects of PRP on wound healing.

Keywords: Platelet rich plasma, fascia healing, wound healing

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Yara İyileşmesi	2
1.1.1.1. Hemostaz ve İnflamatuar evre	3
1.1.1.1.1. PMN lökositler	4
1.1.1.1.2. Makrofajlar	4
1.1.1.1.3. Lenfositler	7
1.1.1.2. Proliferatif faz	8
1.1.1.2.1. Anjiyogenezis	8
1.1.1.2.2. Fibroplazi	9
1.1.1.2.3. Epitelizasyon	10
1.1.1.2.4. Ekstrasellüler matriks	10
1.1.1.2.5. Kollajen yapı	11
1.1.1.2.6. Elastik lifler	12
1.1.1.2.7. Glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar	12
1.1.1.2.8. Bazal lamina	13
1.1.1.2.9. ECM yıkımı	14
1.1.1.3. Matürasyon fazı	14
1.1.2. Yara iyileşmesini geciktiren intrinsik faktörler	15
1.1.2.1. İskemi ve Hipoksi	15
1.1.2.2. Enfeksiyon	15

1.1.2.3. Yabancı cisim	16
1.1.2.4. Radyasyon	16
1.1.2.5. Malignite	16
1.1.3. Yara iyileşmesini geciktiren ekstrinsik faktörler	16
1.1.3.1. Kardiyovasküler yetmezlik	16
1.1.3.2. Steroidler	17
1.1.3.3. Kemoterapi	17
1.1.3.4. Malnütrisyon	17
1.1.3.5. Tütün kullanımı	18
1.1.4. Matriks proteinleri, Metalloproteinazlar ve İnhibitörleri	18
1.1.5. Plateletten Zengin Plazma (PRP)	19
1.1.5.1. Trombositlerden Salgılanan Sitokinler	21
1.1.5.1.1. PDGF (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü)	21
1.1.5.1.2. TGF- β (Transforme Edici Büyüme Faktörü- β)	21
1.1.5.1.3. IGF-I (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I)	22
1.1.5.2. Lökositler Tarafından Salgılanan Sitokinler	22
1.1.5.2.1. IL-1 β (Interlökin-1 β)	22
1.1.5.2.2. IL-6 (Interlökin-6)	23
1.1.5.4.3. TNF- α (Tümör Nekroze Edici Faktör α)	23
1.1.5.2.4. IL-4 (Interlökin 4)	23
1.1.5.2.5. VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)	23
1.1.5.2.6. Plateletten zengin plazma hazırlama yöntemleri	25
2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1. Deney Modeli ve Cerrahi İşlemler	27
2.2. Deney gruplarının oluşturulması	28
3.2. Plateletten zengin Plazma' nın Hazırlanması	32
3.3. Biyokimyasal İnceleme	36
3.4. Histopatolojik inceleme	36
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	36
3. BULGULAR	37
3.1. Biyokimyasal bulgular	37
3.2. Histopatolojik bulgular	38

4. TARTIŞMA	43
5. KAYNAKLAR	49
6. ÖZGEÇMİŞ	61

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Yara İyileşmesindeki Büyüme Faktörleri, Sitokinler ve Diğer Moleküller	6
Tablo 2. Trombositlerin Granül İçerikleri	20
Tablo 3. Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri	24
Tablo 4. PRP hazırlama yöntemleri	25
Tablo 5. Biyokimyasal bulgular	37
Tablo 6. Histopatolojik bulgular	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Yara İyileşmesi Evreleri	3
Şekil 2.	Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı	7
Şekil 3.	Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı	12
Şekil 4.	İnsan Trombosit Elektron Mikroskopik Fotoğrafi .	19
Şekil 5.	Cerrahi sahanın örtülmesi	28
Şekil 6.	Cilt insizyonu	29
Şekil 7.	Fasya insizyonu	29
Şekil 8.	Fasya kapatılması	30
Şekil 9.	Cilt kapatılması	30
Şekil 10.	Sakrifiye edilmiş ratta cilt insizyon hattı	31
Şekil 11.	Sakrifiye edilmiş ratta fasya insizyon hattı	31
Şekil 12.	Fasya insizyon hattının histopatolojik değerlendirme için eksizyonu	32
Şekil 13.	Kanın alınması	33
Şekil 14.	Kanın EDTA'lı tüpe alınması	33
Şekil 15.	Santifüj Aleti	34
Şekil 16.	Santrifüj sonrası oluşan trombosit fakir ve zengin alanlar	34
Şekil 17.	Plateletten zengin katmanın pipetle alınması	35
Şekil 18.	Plateletten zengin Plazmanın fasyaüzereine lokal olarak uygulanması	35
Şekil 19.	Kontrol grubunun (grup 1) yara bölgesi mikroskopik görünümü;	39
Şekil 20.	Peritonit oluşturulmadan PRP uygulanan grubun (grup 2) yara bölgesinin mikroskopik görünümü	39
Şekil 21.	Peritonit oluşturularak primer fasya tamiri yapılan grupta (grup 3) yara bölgesinin mikroskopik görünümü;	40
Şekil 22.	Peritonit oluşturulduktan sonra fasya tamiri yapılan ve lokal PRP uygulanan grubun (grup 4) yara bölgesinin mikroskopik görünümü;	40
Şekil 23.	Kontrol grubunun (grup 1) yara bölgesi mikroskopik görünümü;	41
Şekil 24.	Peritonit oluşturulmadan PRP uygulanan grubun (grup 2) yara bölgesinin mikroskopik görünümü;	41
Şekil 25.	Peritonit oluşturularak primer fasya tamiri yapılan grupta (grup 3) yara bölgesinin mikroskopik görünümü	42
Şekil 26.	Peritonit oluşturulduktan sonra fasya tamiri yapılan ve lokal PRP uygulanan grubun (grup 4) yara bölgesinin mikroskopik görünümü;	42

KISALTMALAR LİSTESİ

ECM	: Ekstrasellüler Matriks
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
HA	: Hyaluronik Asit
IFN	: İnterferon
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PECAM	: Platelet Endotelyal Hücre Adhezyon Molekülü
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositler
PRP	: Plateletten Zengin Plazma
TGF α-β	: Transforming Büyüme Faktörü Alfa ve Beta
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
VCAM	: Vasküler Hücre Yüzey Adhezyon Molekülü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ

Yara; dokunun travma, cerrahi veya çeşitli hastalıklar sonucu bütünlüğünün bozulmasıdır. İyileşmenin oluşabilmesi, ekstrasellüler matriks (ECM), anjiyogenez ve epitelizasyona bağlıdır. İyileşme sürecinde, inflamatuvar hücreler, fibroblastlar, keratinositler, bu hücreler arasında iletişimi sağlayan sitokinler ve büyüme faktörleri önemli rol oynamaktadır (1).

Yaralar akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılırlar. Akut yaralar iyileşme sürecine bağlı olarak kendiliğinden iyileşirler. Kronik yaralarda ise iyileşme süreci çeşitli noktalarda kesintiye uğrayabildiğinden dokunun bütünlüğü ve fonksiyonu tekrar sağlanamaz (2).

Kronik yaralar çoğunlukla cilt ülserleri şeklinde görülür. Bası ile oluşan yaralar, diyabetik ayak ülserleri ve venöz staz ülserleri kronik yaraların %70'ini oluşturmaktadır (3).

Kronik yaralar sağlık sistemi için düşünüldüğünde tedavi sürecinde büyük bir maddi yük oluşturmaktadır. Yaraların iyileşme süresi uzadıkça ülke ekonomisi de etkilenmektedir. Oluşan maddi sorunların yanında, iyileşmenin uzaması, hastaların psikolojik durumlarını da olumsuz etkilemektedir (4). Bu nedenlerden dolayı, kısa zamanda iyileşme sağlamak ve hastaları günlük yaşamlarına döndürebilmek için, yara tedavisinde kullanılan topikal ajanlar ve yara kapama malzemeleri günümüzde oldukça önem kazanmaktadır.

Plateletten Zengin Plazma (PRP); Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), Transforming büyüme faktörü alfa ve beta (TGF α - β), Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), Fibroblast büyüme faktörü (FGF), Epidermal büyüme faktörü (EGF), İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve lokal büyüme faktörlerini ihtiva etmektedir. Kanın farklı devirlerde santrifüjü ile elde edilir. Tüm büyüme faktörlerini içeren PRP'nin fasya iyileşmesi üzerinde olumlu yönde etkisi olacağını düşünmekteyiz. Son yıllarda yapılan çalışmalarda PRP'nin farklı dokular üzerinde olan etkileriyle beraber otolog kandan kolay elde edilebilmesi onun ilgi odağı haline gelmesini sağlamıştır. Yapılan klinik çalışmalarda yara iyileşmesini hızlandırdığı, ödemi ve şişliği azalttığı, kanama kontrolüne yardımcı olduğu, enfeksiyon ve skar oluşumunu azalttığı iddia edilmektedir (5, 6).

Günümüzde ilerlemiş anestezi ve cerrahi teknikleri sayesinde karın operasyonları geçmiş yüzyıllara göre rahatlıkla yapılabilmekte ve buna bağlı olarak laparotomilere ikincil gelişen hernilerin sayısı da artış göstermektedir. Geçirilmiş bir cerrahi işlem veya travma sonrası gelişen hernilere insizyonel herniler adı verilmektedir. Herniler içinde iyatrojenik gelişen tek herni tipi insizyonel hernilerdir. Günümüzde ilerlemiş anestezi ve cerrahi teknikleri sayesinde karın operasyonları geçmiş yüzyıllara göre rahatlıkla yapılabilmekte ve buna bağlı olarak laparotomilere ikincil gelişen hernilerin sayısı da artış göstermektedir. İnsizyonel hernilerin oluşumu ve onarımı cerrahi pratiğinde önemli bir yer tutmakta olup, önlenbilir faktörleri indirgeyerek insizyonel herni gelişimini azaltmak oldukça önemlidir (7, 8).

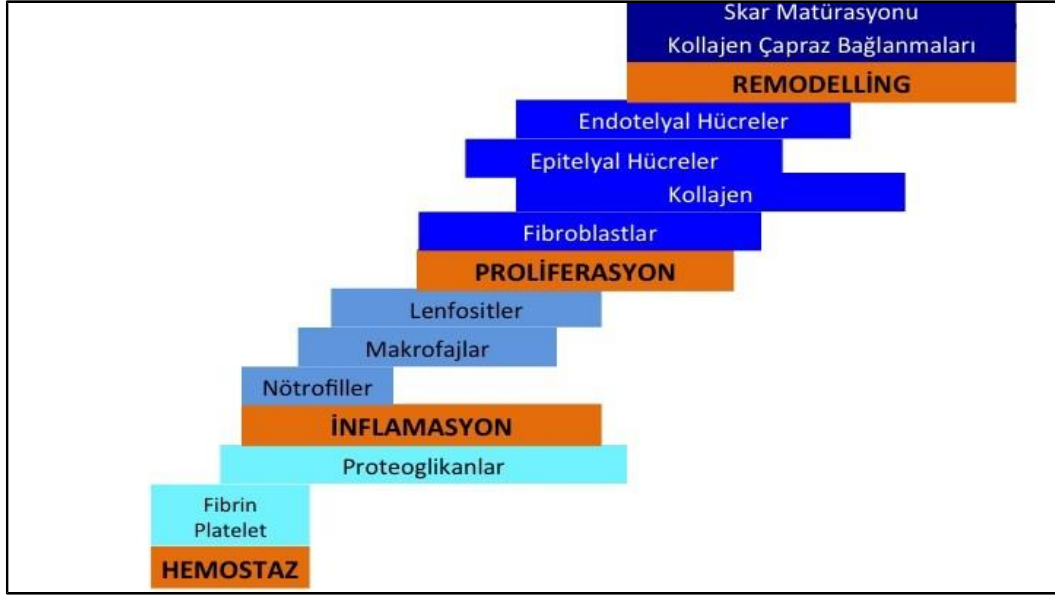
Çalışmamızın amacı, yara iyileşmesinde olumlu etkileri olan PRP'nin peritonit oluşturulmuş fasya iyileşmesinde de olumlu etkilerinin olup olmadığını görmek, fasya iyileşme eksikliğiyle oluşan, hayat kalitesini olumsuz etkileyen, önemli oranda iş gücü kaybına ve morbiditeye neden olan insizyonel hernilerin de oluşumunu azaltmaya katkı sağlamaktır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi ve tedavisi tıptaki en eski konulardan biridir. Yaralanmanın çeşidinden ve doku tipinden bağımsız olarak her yara iyileşmesinde aynı olaylar meydana gelmektedir. Örnek olarak cerrahi kesiler ve travmatik yaralar, ülserler, enfarktüsler, vb. olaylar iyileşme sürecinde aynı onarım aşamalarından geçerler. Hücresel ve moleküler düzeyde yara iyileşmesi konusundaki yeni bulgular, yarayı manipüle edip iyileşmeyi hızlandırması açısından faydalar sağlasa da, iyileşmeyen yaralar, aşırı iyileşme gösteren yaralar ve tümörler gibi kontrolsüz büyüyen yaraların patofizyolojisi hala tam olarak anlaşılammıştır (9).

Yara iyileşmesi çeşitli medyatörler, kan hücreleri, ekstrasellüler matriks ve parankimal hücreleri kapsayan, karmaşık bir süreçten geçmektedir. Yara iyileşmesinin inflamasyon, proliferasyon ve matürasyon olmak üzere üç ana evresi vardır.



Şekil 1. Yara İyileşmesi Evreleri

1.1.1.1. Hemostaz ve İnflamatuvar evre

Hemostaz ve inflamatuvar evre, yara iyileşmesinin ilk basamağını oluşturmaktadır. Yaralanma sahasında, hasarlanmış olan damarlarda hızlıca vazokonstriksiyon meydana gelir. Endotel altındaki katmandan trombotik doku faktörleri salınır ve böylece trombositler agregre olarak ilk pıhtı tıkaçı oluşmuş olur. İntrinsik ve ekstrinsik koagülasyon yolları ile protrombin trombine, fibrinojen fibrine dönüşür, böylece oluşan pıhtı daha sağlam bir yapı halini alır (10). Burada fibrinin faktör XIII yoluyla direkt trombositlere bağlanmasının da rolü bulunur. Faktör XIII eksikliğine bağlı pıhtılaşma bozukluğunda yara iyileşmesi de olumsuz yönde etkilenir (11).

Fibrinojenin eksikliğinde, yara iyileşmesinin engellenmediği ancak yara sağlamlılığının ve kuvvetinin azaldığı gösterilmiştir (12). Fibrin ise hücre göçü ve ekstrasellüler matriks oluşumunda önemli rol oynar. Monosit, nötrofil, endotelial hücreler ve fibroblast üzerinde bulunan reseptörlere integrin vasıtasıyla bağlanır. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) -2 ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) fibrine bağlanarak anjiyogenezi uyarırken, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-1 fibrine bağlanarak stromal hücrelerin fonksiyonunu ve proliferasyonunu artırır (11, 13).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) makrofaj ve fibroblastların uyarılmasını sağlayarak ortama çeker. Yaralanmalarda kanama yok ise parankimal

hücrelerden salınan medyatörler ve kemotaktik faktörler ile polimorfonükleer (PMN) lökositler yaralanma bölgesine çekilir. Trombositler yara iyileşmesinde önemli rol oynamalarına rağmen trombositopenik ratlarda yara iyileşmesinde problem saptanmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (14).

1.1.1.1.1. PMN lökositler

Hemostaz oluşumu tamamlandıktan sonra trombositlerden salınan serotonin ve mast hücrelerinden salınan histamin vasıtasıyla damar geçirgenliği artar. İnflamasyonun klinik bulguları olan eritem, ödem, ısı artışı ve ağrı bulguları, damar geçirgenliğinin artması ile meydana gelir (9). Yaralanma bölgesine gelen nötrofiller, ortamda bulunan bakteri ve yabancı maddeleri temizledikten sonra eskar dokusu tarafından yüzeye itilirler veya makrofajlar tarafından fagosite edilirler. ECM protein fragmanları, transforme edici büyüme faktörü- β ve monosit kemoatraktan protein-1 gibi sitokinlere yanıt veren monositler olay yerine gelerek, PDGF ve VEGF salgılayan aktif makrofajlara dönüşürler (1).

1.1.1.1.2. Makrofajlar

Makrofajlar birçok farklı sitokin salgılayarak keratinositleri, endotelial hücreleri ve fibroblastları uyarırlar. Makrofajlar düzenleyici rol oynamalarından dolayı yara iyileşmesi sürecindeki en önemli inflamatuvar hücrelerdir (10). Aktive olmuş makrofajlar tromboksan-A₂, prostoglandin-F₂ α , lökotrien-B₄ ve lökotrien-C₄ salgırlar. Lökotrien-B₄ nötrofiller için kemotaktiktir ve nötrofillerin endotelial hücrelere yapışmasını arttırır (9).

Makrofajlar ayrıca ECM'i parçalayan, yabancı maddeleri uzaklaştıran, doku boşlukları arasında hücre hareketini kolaylaştıran ve ECM'in yeniden yapılanmasını sağlayan matriks metalloproteinazlarını (MMP) salgılamaktadır.

Makrofajlardan salgılanan bir diğer mediatör de akut faz sitokini olan interlökin (IL)-1dir. Deneysel yara modellerinde proinflamatuvar bir sitokin olan IL-1 seviyesinin 24 saatte artmaya başladığı, 72. saatte en yüksek değerlere ulaştığı ve birinci haftanın sonuna doğru hızla azaldığı gözlenmiştir. Hem lenfosit aktivasyonu hem de hipotalamusun uyarılmasını sağlayarak febril yanıtın ortaya çıkışından da sorumludur. Etkileri endotelial hücrelerin ürettiği tümör nekrozis faktör (TNF)- α ve

endotoksin varlığında artar. Nötrofilleri aktive eder, adhezyon moleküllerini düzenler, kemotaksisi kolaylaştırır, kollajenaz üretimini artırır, kıkırdak yıkımını ve kemik geri emilimini uyarır ve diğer hücrelerden inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına neden olur. IL-1'in etkileri proliferasyon fazında da devam ederek kollajen sentezininin artmasını, keratinosit ve fibroblast büyümesini sağlar (16). Çalışmalarda kronik yaralarda artmış IL-1 düzeyleri tespit edilmiş ve bunun yaraların inflamasyon fazında takıldığına bir göstergesi olduğu öngörülmüştür (17).

Makrofajlardan salınan başka bir sitokin olan TNF- α yarada 12. saatte ortaya çıkar ve 72. saatte tavan yapar. Damar geçirgenliği, hemostaz ve endotelial proliferasyonu üzerinde etkilidir. IL-1 gibi ateşi tetiklemektedir, kollajenaz üretimini arttırarak kıkırdak yıkımını ve kemik geri emilimini uyarır ve PDGF salınımını arttırır. İnflamasyon fazında önemli bir sitokin olmasına rağmen TNF- α seviyesinin devamlı yüksek seyretmesi yara matürasyonunda bozulmaya neden olur (17).

Monosit, makrofaj, fibroblast ve PMN lökositlerden salınan IL-6; B ve T hücrelerinin uyarılmasını ve kök hücrelerin büyümesini sağlar. IL-6 düzeyi yarada 12. saatte tespit edilir ve bir haftadan uzun bir süre yüksek konsantrasyonda seyrederek. Ayrıca fibroblast çoğalmasını uyarır (18).

Makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılanan IL-8; PMN lökositler ve monositler üzerine kemotaktik etki gösterir. İlk 24 saatte yüksek konsantrasyona ulaşır. PMN lökositlerin degranülasyonu ve endotelial hücre adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır (19).

İnterferon (IFN)-gama T lenfosit ve makrofajlardan salgılanan diğer bir proinflamatuvar sitokindir. Makrofaj ve PMN lökositleri uyarır, lokal yara kontraksiyonunu azaltır ve dokuların yeniden yapılanmasına (remodeling) yardım eder. IFN-gama hipertrofik skar ve keloid tedavisinde kollajen üretimini ve çapraz bağlanmayı yavaşlatıcı etkileri nedeniyle kullanılmıştır.

Makrofajlar ayrıca fibroblast, endotelial hücre ve keratinosit çoğalmasını sağlayan büyüme faktörlerini de salgılamaktadır. PDGF; kollajen ve proteoglikan sentezini uyarır. Rekombinant PDGF'nin topikal kullanımının yara kırılma gücünü arttırdığını ve iyileşme süresini azalttığını gösteren deneysel çalışmalar mevcuttur (20). PDGF hayvanlarda ve insanlarda diyabetik ve kronik yaralarda olumlu etkiye sahipken, steroid tedavisi alan hayvanlarda etkisi gösterilememiştir (21).

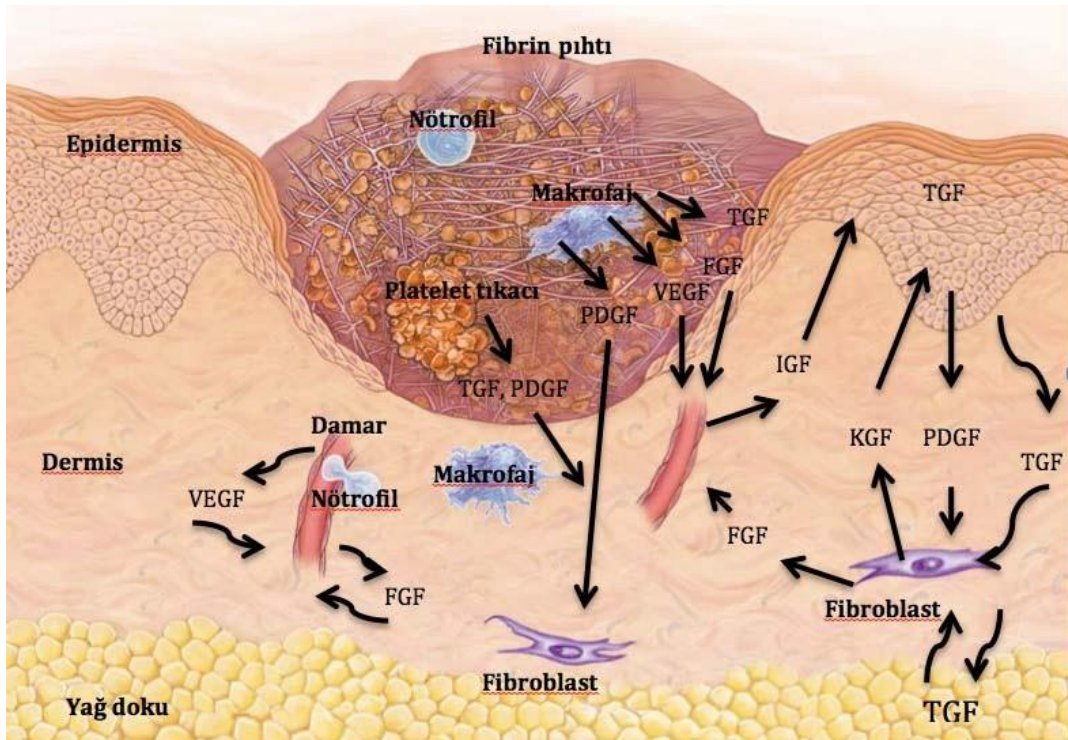
TGF- α ve TGF- β makrofajlardan salınır. TGF- α epidermal büyümeyi ve anjiyogenezisi uyarır. TGF- β ise monositleri uyararak TGF- α , PDGF ve IL-1 salınımını arttırır. β 1, β 2 ve β 3 olmak üzere 3 izomeri vardır. TGF- β 1'in kollajen metabolizmasında, gastrointestinal anastomoz ve yaraların iyileşmesinde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (22). Deneysel çalışmalar TGF- β 1 kullanımının akut, kronik ve radyasyon yaralarının iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir. TGF- β fibroplaziyi uyaran başlıca sitokindir. Hipertrofik skar ve keloid oluşumunda TGF- β 1 üretiminin arttığı saptanmıştır (23). TGF- β 2 doku fibrozisini sağlar ve yaralanma sonrası nedbe oluşumunda rol alır. TGF- β 3 ise skar oluşumunu sınırlamaktadır. TGF- β düzeylerindeki artış, inflamasyon fazından proliferasyon fazına geçişi sağlar.

Tablo 1. Yara İyileşmesindeki Büyüme Faktörleri, Sitokinler ve Diğer Moleküller (23).

Ad	Kaynak	Başlıca Görevleri
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	Endotelial Hücreler	Anjiyogenezi arttırır
Fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2)	Makrofajlar, mast hücreleri, endotelial hücreler, T lenfositler	Anjiyogenezi arttırır. Endotelial hücre göç ve büyümesini uyarır
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)	Trombositler, makrofajlar, endotelial hücreler	Proteoglikan ve kollajen sentezini arttırır. Makrofaj ve fibroblastları toplar
Keratinosit büyüme faktörü (KGF)	Fibroblastlar	Keratinosit büyüme ve matürasyonunu kontrol eder. Diğer büyüme faktörlerinin salgılanmasını arttırır.
Epidermal büyüme faktörü	Trombositler, makrofajlar	Fibroblastların kollajenaz salgılamasını uyarır
Transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β)	Trombositler, makrofajlar, T ve B lenfositler	Anjiyogenezi arttırır. Adhezyon molekülünü ekspresyonunu uyarır. Lökosit ve fibroblast göçünü uyaran proinflamatuvar molekülleri arttırır. Proteaz aktivitesini inhibe ederek, kollajen ve proteoglikan sentezini arttırarak ECM sentezini indükler.
Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α)	Makrofajlar, T ve B lenfositler, natural killer hücreler	Kollajen sentezini arttırır. PMN lökosit marjinasyon ve sitotoksitesini düzenler
İnterferon -gama (IFN-gama)	Makrofajlar, T ve B lenfositler, fibroblastlar, epitelyal hücreler	Makrofajları aktive eder. Fibroblast proliferasyonunu inhibe eder
İnterlökin-1 (IL-1)	Makrofajlar, keratinositler, endotelial hücreler, lenfositler	Proinflamatuvar peptiddir. PMN lökositlerin, fibroblastların, keratinositlerin kemotaksisini indükler. PMN lökositleri aktive eder

1.1.1.1.3. Lenfositler

T lenfositler yarada 5. günde ortaya çıkar ve sayıları 7. günde tavan yapar. B lenfositlerinin ise yara iyileşmesinde belirgin bir rolleri yoktur. Lenfositlerin esas etkileri fibroblast proliferasyonu üzerinedir. IL-2 ve fibroblast etkinleştirici faktör (FAF) gibi uyarıcı, TGF- β , TNF- α , IFN-gama gibi inhibe edici faktörleri salgırlar. Makrofajlar, bakterileri ve yabancı maddeleri işleyerek bunları antijen olarak lenfositlere sunarlar. Bu durum lenfosit çoğalmasını ve sitokin salınımını uyarır. T lenfositlerin ürettiği IFN-gama, makrofajların uyarılmasını sağlayarak TNF- α ve IL-1'in de içinde bulunduğu birçok sitokin salınmasına neden olur. IFN-gama aynı zamanda prostoglandinlerin sentezini azaltarak inflamatuvar medyatörlerin etkisini arttırır. Ayrıca kollajen sentezini baskılar ve makrofajların yara alanından uzaklaşmasını engeller. Böylece IFN-gama kronik iyileşmeyen yaralarda önemli bir sitokindir ve varlığı T lenfositlerin esas olarak kronik yara iyileşmesinde rol oynayan hücreler olduğunu düşündürmektedir. İmmüsupresan ve steroid gibi T lenfositlerin fonksiyon ve çoğalmasını bozan ilaçların yara iyileşmesini bozduğu tespit edildikten sonra T lenfositlerin akut yara iyileşmesi için esansiyel olmadığı görüşü azalmıştır (24).



Şekil 2. Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı (1)

1.1.1.2. Proliferatif faz

Akut inflamasyon fazından sonra anjiyogenez, fibroplazi ve epitelizasyon aşamalarını içeren proliferatif faz başlamaktadır. Bu faz; granülasyon dokusu ve kapiller damar ağının oluşumu, fibroblastlar, makrofajlar, gevşek düzenlenmiş kollajen, fibronektin ve hyaluronik asit ile karakterizedir (25).

1.1.1.2.1. Anjiyogenezis

Anjiyogenez, yeni damar oluşumudur ve yara iyileşmesi için gereklidir. Yaralanmadan sonra, etkinleşmiş endotelial hücreler, postkapiller venüllerin bazal membranını aşındırarak hücrelerin bu boşluktan göç etmesine imkan sağlarlar. Hücrelerin göçü FGF, PDGF ve TGF- β ile yönetilir. Göç eden bu endotelial hücrelerin çoğalması tübül ve lümen oluşumuyla sonuçlanır. Bazal membran birikimi meydana gelerek kapiller olgunlaşma sağlanır.

Yaralanmadan sonra hasarlı olan endotele kan hücreleri yapışır. Bu ilişki hücrelerin yüzeyinde, vasküler hücre yüzey adhezyon molekülü (VCAM)-1 gibi adhezyon moleküllerinin sentezlenmesine neden olur. Matriksin parçalanmasını sağlayan plazmin ve metalloproteinazlar, endotel bazal membranı tarafından salınıp etkinleştirilirler. Hasarlanan endotelial hücreler, fibrin, fibronektin ve fibrinojene bağlanmayı sağlayan $\alpha\beta3$ gibi yüzey adhezyon molekülleri sentezler. Bunu takiben endotelial hücreler geçici matriks iskelesine tutunarak ilerlerler. Platelet endotelial hücre adhezyon molekülü (PECAM)-1, endotelial hücrelerde bulunan ve göç sırasında hücrelerin birbiriyle iletişimini sağlayan bir diğer adhezyon molekülüdür (25).

Kapiller tüpün meydana gelmesi, karmaşık hücre-hücre, hücre-matriks iletişimi gerektiren, endotelial hücrelerin yüzeyinde bulunan adhezyon moleküllerince düzenlenen karmaşık bir süreçtir. Hücre-hücre temasına PECAM-1 aracılık ederken, $\beta1$ integrin reseptörleri bu bağlanmayı sağlamlaştırır. Oluşmuş kapillerlerden bazıları arteriyol ve venüllere dönüşürken bazıları apoptozise uğrar veya makrofajlar tarafından ortamdan uzaklaştırılır.

Anjiyogenez, çoğunlukla makrofaj ve plateletlerden salınan sitokinlerle uyarılır ve kontrol edilir. Makrofajlardan salınan TNF- α , inflamatuvar fazda ortamı anjiyogeneze hazırlar. Heparin, bir takım anjiogenik faktörlere bağlanarak kapiller

endotelial hücre göçünü sağlar. Makrofaj, keratinosit ve fibroblastlar tarafından salınan VEGF güçlü bir anjiyogenik fonksiyona sahiptir. Anjiogenezi en çok hücre hasarı ve hipoksi sırasında salınan sitokinler sağlamaktadır.

Hasara uğramış parankim hücrelerinden salınan FGF-1 ve FGF-2 anjiyogenezin erken uyarılarından. İlk üç günde anjiogenezi FGF-2 uyarırken uzun süreli uyarı 4. ve 7. günler arasında VEGF tarafından sağlanır (26). VEGF ve FGF-2'nin anjiyogenezi üzerindeki etkileri doza bağımlı olmaktadır (26). Endotelial hücre çoğalmasını ise TGF- α ve epidermal büyüme faktörü (EGF) uyarır. TNF- α endotelial hücreler için kemotaktiktir ve kapiller tüp oluşumunda önemli rol oynar (27).

TGF- β fibroblastlar için kemotaktiktir ve fibroblastlardan daha fazla FGF salınmasından sorumludur. Anjiyogenezi görev alan diğer sitokinler; anjiyogenin, IL-8 ve laktik asittir (28, 29). Kollajen, fibronektin ve hyaluronik asit gibi bazı matriks elemanları da anjiyogenik etki gösterir. Fibronektin ve fibrin makrofajlar ve hasarlanmış endotelial hücreler tarafından salınır. Sonuç olarak anjiyogenezi, sitokinler ve ECM arasında oluşan karmaşık etkileşim ile gerçekleşir (29).

1.1.1.2.2. Fibroplazi

Fibroblastlar, farklılaşmış bağ doku kaynaklı özel mezankimal hücrelerdir. Hasarlı dokuya dolaşımdaki hücreler gibi ulaşmazlar. Yaralanmayı takiben aktif olmayan fibroblastlar yara alanına giderek çoğalmaya ve ECM bileşenlerini üretmeye başlar. Fibroblastlar normalde hücre siklusunun G0 fazında beklerler ancak makrofajlar ve trombositlerden salınan sitokinler ve büyüme faktörleri ile uyarıldıktan sonra replikasyon ve proliferasyon safhalarına geçer. Çoğalmaya devam etmeleri için ise EGF ve IGF-1 uyarımına ihtiyaç duyarlar (30).

Fibroblastların başlıca fonksiyonu kollajen sentezlemektir. Yaralanan dokunun tipine göre mezankimal hücrelerin fibroblastlara farklılaşması 3 veya 5 gün sürer ve bu döneme gecikme evresi denir. Kollajen sentezinin hızı 4. haftadan sonra giderek azalır ve kollajenaz (MMP-1)'in yaptığı yıkımla denge sağlanmış olur. Bundan sonra yara kollajen matürasyonu evresine girer. Matürasyon evresi aylar boyunca sürer. Bu süreçte glikoprotein ve mukopolisakkarit düzeyleri azalır, yeni

kapillerlerin bir kısmı geriler. Oluşan tüm bu değişiklikler yaranın görünümünü değiştirirken doku sağlamlığını artırır (30).

1.1.1.2.3. Epitelizasyon

Fiziksel bir bariyer olan epidermis sıvı kaybı ve bakteri invazyonunu önler. Epitel hücreleri arasındaki yapısal bağlantılar epidermin geçirgenliğine katkıda bulunurken, bazal membran ise yapısal destek sağlar ve epidermis ve dermis bağlantısını oluşturur.

Bazal membran üç tabakadan oluşur:

1. Lamina lucida: Laminin ve heparan sülfat içeren tabakadır.
2. Lamina densa: Tip IV kollajen içeren tabakadır.
3. Lamina retikularis: Lamina densa ve dermis arasında uzanan tabaka olup tip IV kollajen ve retiküler liflerden oluşur.

Yaralanmadan saatler sonra reepitelizasyon başlar. İlk başta yaranın üzeri pıhtıyla kaplanır ve epitel hücreleri defekte doğru hareket etmeye başlarlar. Yara kenarlarında bulunan epidermin bazal tabakasındaki keratinositler yara yüzeyine doğru hareket ederler. Epitelizasyon esnasında, keratinositlerde sırasıyla ayrılma, göç, çoğalma, farklılaşma ve katmanlaşma gibi değişiklikler meydana gelir. Eğer bazal membran bütünlüğü bozulmamışsa epitelizasyon daha hızlı gerçekleşir. Bazal membran bütünlüğü bozulmuşsa önce bazal membranın onarılması gerekmektedir. Epidermal hücreler tarafından integrin reseptörleri eksprese edilerek fibronektin gibi ECM proteinleriyle etkileşimde bulunurlar (31). ECM, MMP-1 ve plazminojen aktivatörü ile yıkıldıktan sonra hücrelerin eskar ile dermis arasında kolay hareket etmesini sağlar (32). EGF, TGF- α ve keratinosit büyüme faktörü (KGF) düzeylerindeki artma hücrelerin migrasyonunu ve çoğalmasını uyarır. Yığın halinde biriken hücreler epitelizasyon tamamlandıktan sonra kolumnar şekillerini alırlar ve çok katlı yassı epitel oluşturacak şekilde düzenlenirler (30).

1.1.1.2.4. Ekstrasellüler matriks

Ekstrasellüler matriks dokuların bütünlüğünü sağlayarak kendisine temas eden hücrelerin davranışlarını düzenlemektedir. ECM; glikozaminoglikanlar, polisakkarid zincirler, proteoglikanlar ve kollajen, elastin, fibronektin, laminin gibi fibröz proteinlerin bileşiminden oluşmaktadır (9).

Bağ dokuda, proteoglikan molekülleri jelimsi yapıda “temel madde”yi oluştururlar. Yüksek oranda su içeren bu jel yapı besin, metabolit ve hormonların kan ve hücreler arasında diffüzyonuna izin verirken diğer yandan da basınç oluşturan kuvvetlere karşı bariyer olarak görev yapar. Kollajen lifler matriksin sağlamlığını ve elastin liflerin esnekliğini sağlarlar (9).

Yaradaki matriksin yapısı biriken ve yıkılan maddeler etkisiyle iyileşme döneminde değişime uğrar. İyileşmenin başlamasıyla yara matriksinin yapısı, hücrelerin göçünü sağlayacak şekilde oluşan fibrin, fibrinojen, fibronektin ve vibronektinden oluşur. İlerleyen dönemlerde ise glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar sentezler (33).

ECM ve fibroblastlar arasında karşılıklı dinamik bir ilişki söz konusudur. Fibroblastların sitokinler sayesinde uyarılması ECM yapısının değişmesine neden olur. Fibroblastlar sitokinlerle uyarıldıktan sonra matriksi parçalayan kollajenazların sentezi artar. Kollajenaz (MMP-1), IL-1 ile uyarılarak TGF- β tarafından inhibe edilir. ECM enzimlerce yıkıma uğradığında hücre göçü kolaylaşır (25).

1.1.1.2.5. Kollajen yapı

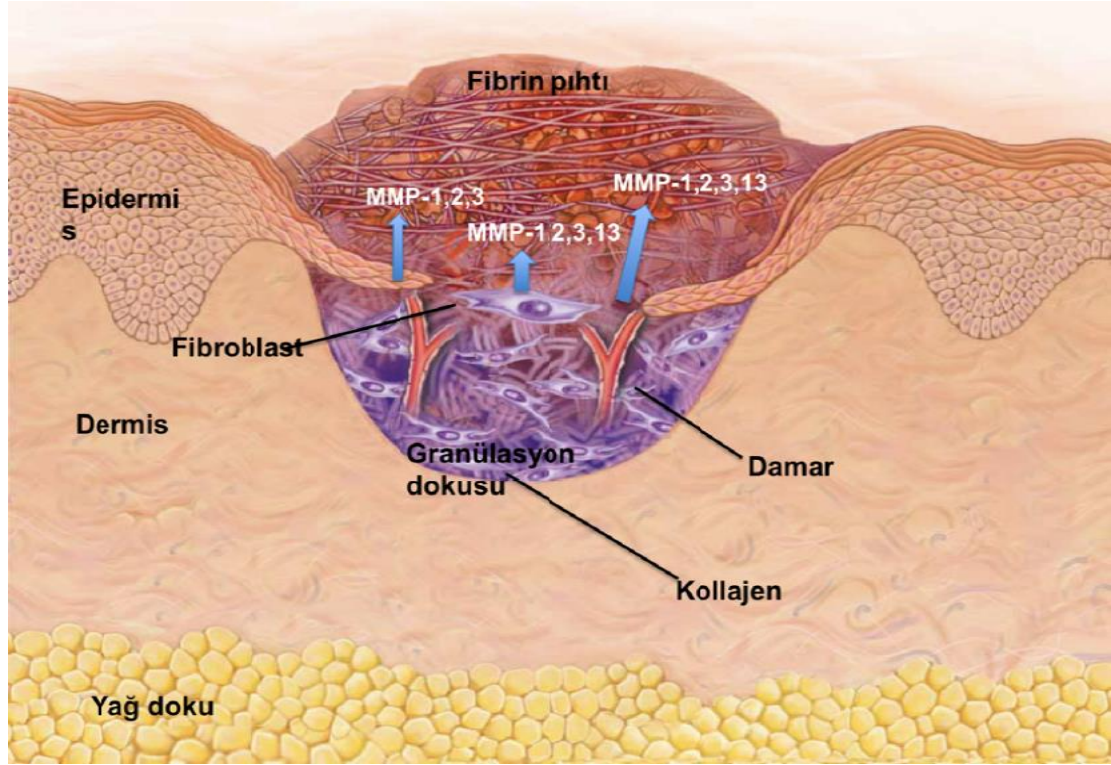
Kollajen deri ve kemik gibi yapıların önemli bir bileşenidir. Yirmiden fazla kollajen tipi bulunmaktadır. Bağ dokuda en çok bulunan kollajenler tip I, II, III, V ve XI'dir. Tip I deri ve kemikte en fazla bulunan kollajenlerdir. Erişkinlerde ciltteki kollajenin %80'i tip I, %20'si ise tip III'tür. Yenidoğanlarda oranı yüksek olan kollajen tip III kollajendir. Yara iyileşmesinin erken döneminde tip III kollajen sentezi artar (34). Tip I kollajen fibril yapısındadır ve gruplaşarak kalın demetler oluştururlar. Bu oluşan yapılara kollajen lifler denir.

Tip IV kollajen bazal laminanın önemli bir bileşenidir. Tip VII kollajen bazal laminanın bağ dokuya tutunmasında görev alır ve deride fazla miktarda bulunur (9).

Kollajenin polipeptid yapıdaki zincirleri ribozomlarda sentezlenir ve proalfa zincirleri şeklinde endoplazmik retikuluma geçerler. Endoplazmik retikulum içerisinde lizin ve prolin aminoasitlerinin bir kısmı hidroksilasyonla hidroksilizin ve hidroksiproline dönüşür. Oluşan bu hidroksilasyonla üç bantlı heliks yapısı oluşur ve bu yapıya prokollajen adı verilir. Prokollajen ECM'e salgılandıktan sonra proteazlar

sayesinde kollajen monomerlerine ayrıştırılır. Bu monomerler ECM içerisinde birleşerek kollajen lifleri oluştururlar. Kollajenin kuvveti kovalent bağlarla artırılır ve bu çapraz bağlar dokudan dokuya değişiklik gösterir (35).

Askorbik asit (C vitamini), TGF- β , IGF-1 ve IGF-2 kollajen sentezini artırır. Glukokortikoidler prokollajen gen transkripsiyonunu inhibe ederek kollajen sentezini azaltır (30).



Şekil 3. Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı (1)

1.1.1.2.6. Elastik lifler

Elastik liflerin merkezinde hidrofobik bir protein olan elastin bulunur. Elastinin çevresi fibrillin gibi glikoproteinlerle sarılıdır. Elastin ve fibrillin arasındaki bağlar elastik liflerin sağlamlığından sorumludur (36).

1.1.1.2.7. Glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar

Glikozaminoglikanlar (GAG) disakkarid ünitelerinden oluşan dallanmamış polisakkarid zincirleridir. Sülfat ve karboksil grupları sayesinde negatif yüklüdürler. Hyaluronik asit (HA), kondroitin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat ve keratan sülfat olmak üzere beş tipi vardır (37). Yükleri negatif olduklarından sodyum gibi

katyonlarla birleşerek ortama su çeker ve böylece ECM turgorunun artmasıyla basınç uygulayan faktörlere de dayanıklı hale gelir (35).

Hyaluronik asit en basit olan GAG'dır. Tekrarlayan sülfatsız disakkarid birimlerinden meydana gelir. Fetal dokularda daha fazla bulunmakla beraber yetişkin dokularında da bulunur. Fetal dokularda hyaluronik asitin yüksek oranda bulunmasının yara iyileşmesinde skar oluşumunu azalttığı düşünülmektedir (38). Yara iyileşmesinde hyaluronik asit fazla miktarlarda üretilir ve su tutucu özelliği nedeniyle ECM'i genişleterek hücre göçünü kolaylaştırır. Ekstarsellüler matriksin genişleyip yoğunluğunun azalması ile adhezyon kuvveti azalan hücrelerin daha kolay ilerlemesine olanak sağlar. Hücre göçü tamamlandığında ise HA'in fazlası hyaluronidaz enzimi tarafından ortamdan uzaklaştırılır.

Proteoglikanlar; proteazlar, büyüme faktörleri ve proteaz inhibitörleri gibi sitokinlere bağlanarak bunların işlevlerini ayarlarlar. Başlıca görevleri:

1. Proteinleri sabitleyerek hareket alanını kısıtlarlar.
2. Gecikmiş salınımlarda protein rezervuarı sağlarlar.
3. Proteinleri farklılaştırarak hücre yüzey reseptörlerine daha fazla sunulmalarını sağlarlar.
4. Proteinleri enzimatik yıkımın etkisinden koruyarak etki sürelerini uzatırlar.
5. Proteinlerin işlevini değiştirirler (37, 39).

Fibronektin diğer makromoleküllere ve hücre reseptörlerine bağlanabilen ve hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan bir proteindir. Çözünür formu ve ve fibriller formu vardır. Çözünür formu vücut sıvılarında bulunarak pıhtılaşma olayında, fagositozun artmasında ve yara iyileşmesinde görev alır. Fibriller formu ise hücre yüzeyinde ve ECM'te bulunur. Fibroblastların yüzeyinde bulunan fibronektin transmembranöz integrin reseptörleri sayesinde hücre içinde bulunan aktin lifleriyle ilişki kurar. Aktin, fibronektin liflerinin düzenlenmesini sağlar (35).

1.1.1.2.8. Bazal lamina

Bazal lamina epitel tabakasını alttaki bağ dokudan ayıran bir ECM katmanıdır. Bazal lamina bağ dokuya kollajen fibriller sayesinde sıkıca bağlıdır. Kollajen ve bazal laminanın beraber oluşturduğu yapıya bazal membran denir.

Bazal laminanın görevleri;

1. Filtre görevi sayesinde makromoleküllerin geçişini engeller.
2. Bariyer yapısı oluşturur.
3. Yeni hücreler için iskelet sağlar.
4. Dokuların yenilenmesine yardımcı olur.

Bazal lamina genellikle tip IV kollajen, laminin ve nidojen glikoproteinlerinden oluşur (35).

1.1.1.2.9. ECM yıkımı

Yaralanma alanında ECM'in MMP'lar ile yıkılması, hücrelerin bazal laminadan yara sahasına gelmelerine olanak sağlar. Matriks yıkımı ile matriks içerisinde hücre göçüne izin verecek bir alan açılır. Hücrelerin bağlanacağı noktalar ortaya çıkarılarak hücrelerin bağlanmasını kolaylaştırıcı etki oluşur. Yıkım esnasında oluşan sinyal proteinleri hücrelerin hareketini yönlendirir.

Protein yıkımı çok kontrollü işleyen bir olaydır. İnaktif durumda olan birçok prekürsör, ihtiyaç duyulduğunda aktif duruma gelir. Hücre yüzeyindeki özel reseptörler sayesinde proteazların sadece istenen alanlarda işlev görmesi sağlanır. Ayrıca proteazları engelleme özelliğine sahip olan doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) ile proteaz aktivitesi sınırlanır (35).

1.1.1.3. Matürasyon fazı

Matürasyon fazı, yara iyileşmesinin en uzun fazıdır. Yaranın granülasyon dokusuyla dolarak reepitelizasyon sağlanmasını takiben başlar. Yara iyileşmesinin her döneminde olduğu gibi, bu aşama da diğerleriyle üst üste binmiştir (40).

İnsanlarda yara matürasyonu, klinik olarak, yara kontraksiyonunun artması, kızarıklık oluşması, yara kalınlığının azalması ve yara kuvvetinin artması ile karakterizedir. Yara kontraksiyonu, yaralanmadan sonra 4-5. gün içinde başlar (40-43). Myofibroblastlar sayesinde kontraksiyon oluşur. Myofibroblastlar, hücre içi aktin filamentleri içerirler ve kontraksiyon fonksiyonuna sahiptirler. Üzerlerindeki integrin molekülleri sayesinde ECM'ye tutunurlar.

Matürasyon fazında yara kalınlığı azalırken, yaranın tensil kuvveti artar (41). Bu durum ECM'nin remodelizasyonu ile alakalıdır. Kollajen üretimi yaralanmadan sonra 21. güne kadar artış gösterir. Bu dönemden sonra kollajen sentezi azalır (40).

ECM'deki artmış kollajen miktarının geri beslemeyle fibroblastlardaki kollajen sentezini azalttığı düşünülmektedir (43). Bunun yanında interferon gama ve TNF- α fibroblastların kollajen sentezini azaltmada etkilidir (44). Yara iyileşmesinin 21. gününde maksimum kollajen miktarına ulaşılsa da, yaranın tensil kuvveti normalin ancak % 20'si kadardır. 6. haftada yaranın tensil kuvveti, olması gerekenin % 80'ine ulaşır. 21. günle 6. hafta arasında geçen ve yara kuvvetinin arttığı bu dönemde gerçekleşen asıl olay, kollajen yıkımı ve yeniden düzenlenmesidir (40, 41).

1.1.2. Yara iyileşmesini geciktiren intrinsik faktörler

1.1.2.1. İskemi ve Hipoksi

Oksijenizasyon yaralanmış dokunun iyileşmesi için çok önemlidir. Doku oksijenizasyonunu etkileyen vasküler veya sistemik problemler olabilir. Çoğunlukla tıkaçıcı arter hastalıkları ve venöz yetmezlikler oksijenizasyonu engeller. Kan akımının engellenmesi yaradaki oksijen perfüzyon basıncının düşmesine neden olur. Kronik hipoksi, yaranın iyileşmesini engelleyerek yarayı enfeksiyona açık hale getirir. Hipoksi ve enfeksiyon yara iyileşmesinde güçlü bir kısır döngü oluşturarak iyileşmeyi olumsuz yönde etkiler (45). Yaradaki oksijen basıncının düşük olduğu durumlarda hiperbarik oksijen tedavisi, hem oksijenizasyonu artırır hem de fibroblast ve kollajen sentezini artırarak yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler (46). Tıkalı damarların cerrahi yöntemlerle açılması ekstremitelerin dolaşımının düzeltilmesini sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırır (47).

1.1.2.2. Enfeksiyon

Açık yaralar, cildin örtücü görevinin kaybı nedeniyle çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olurlar. Kontaminasyon yarada çoğalmayan mikroorganizmaların bulunması, kolonizasyon çoğalan mikroorganizmalara rağmen doku hasarının olmaması durumudur. Eğer çoğalan mikroorganizmalar doku hasarı oluşturuyorsa, o zaman enfeksiyondan söz edilir. Nekrotik dokulara ve cerrahi implantlara yapışan polisakkarid, protein ve bakteri içeren tabakaya biyofilm denir. Biyofilm kronik yaralarda, bakterilerin çoğalabilecekleri bir ortam sağlar. Bu tabaka içerisinde antibiyotiklere direnç gösterebilen bakteriler enfeksiyonun da kronikleşmesini sağlar (46). Enfeksiyon varlığında yara iyileşmesinin inflamatuvar

evresi uzar. Bakterilerden salgılanan enzimler ve maddeler etkisiyle fibrin ve büyüme faktörü gibi iyileşmeyi sağlayan bileşenler yıkılır. Yaralanmış olan bir gram dokuda 10^5 'ten fazla bakteri bulunuyorsa o zaman enfeksiyonundan söz edilir (7). Bu sayıdan daha fazla bakteri bulunduran yaraların greft veya flep ile onarılmasının uygun olmadığı söylenmiştir (48, 49).

1.1.2.3. Yabancı cisim

Dokularda yabancı cisim varlığı bakterilerin üreyebileceği bir ortam sağlar. Ortopedik cihazlar, damar greftleri, devitalize kemik fragmanları, çeşitli sentetik yamalar enfeksiyona yatkınlık yaratır ve iyileşme sürecini uzatır (50).

1.1.2.4. Radyasyon

Eksternal radyoterapi, akut ve kronik etkilere yol açmaktadır. Akut olarak, sınırlı eritem oluşmakta ve rezorbe olabilmektedir. Radyasyonun kronik etkileri daha önemlidir. Fibroblast, keratinosit ve endotel hücreleri etkilenerek bu hücrelerde DNA hasarları oluşabilmektedir. Endotel hücre hasarı ve progresif endarterit nedeniyle atrofi, fibrozis ve doku onarımında azalma olmaktadır. Bu etkiler geri dönüşlüdür ancak tekrarlayan radyoterapi orta derecede hasar oluşturmaktadır. Tedavide hiperbarik oksijen terapisi gerekebilir (51).

1.1.2.5. Malignite

Malignite olan hastalarda malnütrisyon ve artmış katabolik aktivite nedeniyle yara iyileşmesinde gecikme meydana gelir. Hastanın kemoterapi, radyoterapi görmüş olması da yara iyileşmesini uzatır. Uzun süredir mevcut olan yaralardan mutlaka biyopsi alınmalı ve tümör varlığı araştırılmalıdır (47).

1.1.3. Yara iyileşmesini geciktiren ekstrinsik faktörler

1.1.3.1. Kardiyovasküler yetmezlik

Kardiyovasküler yetmezlikte yara oksijenizasyonu da azalır ve yara iyileşmesi gecikir (47).

1.1.3.2. Steroidler

Glukokortikoidler uzun yıllardır kullanılan ilaçlardır. Etkileri doz ve süre bağımlıdır. Kısa süreli kullanımlarda yara iyileşmesi etkilemez. Sistemik steroid kullanımı inflamatuvar cevabı azaltarak yara iyileşmesinin tüm evrelerini etkiler. Steroidler makrofaj aktivitesini, anjiyogenezi ve yara kontraksiyonunu engeller. Steroidlerin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin A vitamini ile engellenebileceği bildirilmiştir (52).

1.1.3.3. Kemoterapi

Antineoplastik ilaçlar hızla çoğalan hücreleri hedef aldıkları için kanser tedavisinde kullanılırlar. Bu ilaçların yan etkileri olan anemi, granülositopeni ve trombositopeni gibi durumlar yara iyileşmesi için gerekli olan dengeleri altüst eder. Bağışıklık sistemi zayıflayan hasta enfeksiyonlara açık hale geldiği için bir kısır döngü başlar. Yara kapama işlemi yapılan bir hastaya kemoterapi başlanacaksa araya iki hafta gibi bir süre koymakta fayda vardır (47).

1.1.3.4. Malnütrisyon

Yara iyileşmesinde metabolik hız ve nutrisyonel gereksinim artmaktadır. Kronik protein deplesyonu iyileşmeyi engellemektedir. Protein deplese ratlarda yara iyileşmesinin geciktiği gösterilmiştir ancak bu durum protein replasmanı ile geri dönmektedir.

Vitamin C (askorbik asit) eksikliğinde fibroplazi fazı etkilenir, yeterli miktarda ve kalitede kollajen üretimi gerçekleşmez. Vitamin C, prolin hidrosilasyonu ve lizin depolanması için gereklidir. Hidroksiprolin eksikliğinde sentezlenen kollajenin hücrelere transportu engellenmektedir. Hidroksilizin eksikliğinde ise kollajen fibriller arasında bağlanma engellenmektedir (53).

Vitamin A (retinoik asit) eksikliğinde kollajen sentezi ve epitelizasyon etkilenir.

Vitamin B6 (piridoksin) eksikliğinde kollajen cross bağlanma etkilenmektedir.

Bakır ve çinko, birçok enzimin kofaktörüdür ve eksikliklerinde epitelizasyon azalmakta ve iyileşmeyen yaralar oluşmaktadır (53).

1.1.3.5. Tütün kullanımı

Tütün kullanımı vazoaaktif kan akımında, doku oksijenasyonunda, kollajen depozitlerinde ve nötrofil öldürme mekanizmalarında azalmaya neden olur. Aynı zamanda büyüme faktörleri ve metalloproteinazlarda da azalmaya neden olur. Postoperatif yara enfeksiyonlarının önlenmesi açısından tütün kullanımı cerrahi prosedürlerden 4 hafta önce kesilmelidir . Her ne kadar tütün kullanımı bırakılsa danegatif etkileri tam olarak önlenememektedir (54).

1.1.4. Matriks proteinleri, Metalloproteinazlar ve İnhibitörleri

Metalloproteinazlar (MMP) ECM bileşenlerinin yıkılmasını sağlayan, çinkoya bağımlı endopeptidazlardır (55). ECM'in MMP'lar ile yıkılması, hücrelerin ayrılması ve göç etmesi açısından önemlidir (56). MMP'ların sentezi hastalık veya yara iyileşmesi durumunda artar. Proteazlar, yara iyileşmesinin tüm fazlarında rol alırlar (57). MMP'lar fibroblastlar,keratinositler, makrofajlar ve endotelial hücreler tarafından sentezlenmektedir (58).

Metalloproteinazlar toplam 23 enzimden oluşur. Kollajenaz, jelatinaz, stromelizin ve membrana bağı MMP şeklinde özgül oldukları substratlara göre sınıflandırılırlar (59).

Stromelizin grubundan olan MMP-3 ve MMP-10, fibronektin, Tip IV, V, IX, X kollajen, elastin, laminin, jelatin ve proteoglikan gibi pek çok substratın yıkımında etkilidir.

Jelatinaz grubundan MMP-2 ve MMP-9 bölünmüş kollajen üzerinde daha güçlü etkiye sahiptirler ve ECM'in yeniden şekillenmesinde önemli rol oynarlar (60).

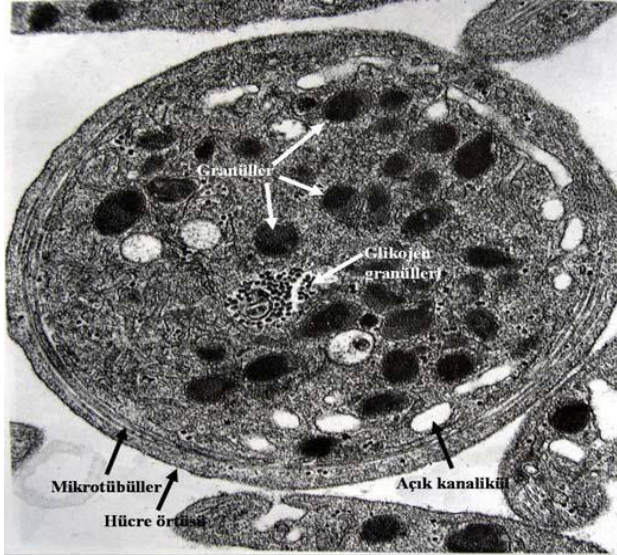
MMP-7 (matrilizin) MMP ailesinin en küçük molekülüdür. Elastin, fibronektin, laminin tip IV kollajen ve proteoglikan yıkımında etkilidir (61). MMP-12 (makrofaj metalloelastaz) elastin, tip IV kollajen, laminin, fibronektin, vitronektin ve heparan sülfatı parçalar (62).

Ekstrasellüler matriksin yıkımı yara iyileşmesinin önemli bir bölümünü oluşturur. Bu süreç, yara debridmanını, kapiller tomurcukların gelişimini, matriksin yeniden oluşumunu ve uzun dönemde dokunun yeniden yapılanmasını içerir. Kronik yaraların oluşumunda ECM'in yıkımındaki dengenin bozulmasının önemi vardır.

ECM elementlerinin sentezinde yetersizlik, aktif MMP seviyelerinin çok yüksek olması ve TIMP düzeylerinin görece düşük seyretmesi dengeleri bozar (63).

1.1.5. Plateletten Zengin Plazma (PRP)

Trombositler kemik iliğinde megakaryositlerin ürettiği 2-4 µm çapında mitokondri ve mRNA içermesine rağmen çekirdek içermeyen sitoplazma parçalarıdır. İstirahat halinde disk şeklindedir ancak aktive olduklarında çapları 5 µm'ye kadar ulaşabilmektedir. İstirahat halinde dalakta depo edilen trombositler periferik dolaşıma geçtiklerinde 8-10 gün süreyle canlı kalmaktadırlar. Periferik yaymadadaki incelemelerde kümeler halinde görülen trombositler açık mavi boyanan periferik hyalomere, mor granüller ve mitokondriden oluşan santral granülomer parçalarından oluşur (64).



Şekil 4. İnsan Trombosit Elektron Mikroskopik Fotoğrafı (64).

PRP günümüzde kas-iskelet sistemi ve cilt hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamış ve yeni yapılan çalışmalarda intestinal anastomozlar, perianal fistüller, bası yaraları gibi birçok dokunun iyileşmesinde de etkinliği araştırılmaktadır. PRP otojen olarak hazırlanan bir ajandır. Trombositler alfa, delta ve lambda granülleri içermektedir ve bu içerikleri sayesinde artık alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır (65). Trombositler kollajen, trombin ve kalsiyuma maruz kaldıklarında büyüme faktörleri granülleri içinden salınır. PRP ile ilgili araştırmalar üretim ve uygulanabilirliğinin kolay olmasından dolayı son zamanlarda gittikçe artmaktadır.

Tablo 2. Trombositlerin Granül İçerikleri (65).

Alfa Granül	Delta Granül (yoğun cisim)	Lambda granül (lizozomlar)
Glikoproteinler	Nükleotidler	Asit Proteazlar
• Fibronektin, vWF, Trombospondin, vb.	• ATP, ADP • GTP, GDP	• Katepsin D, E • Karboksipeptidazlar
Hemostaz Faktörleri	Aminler	• Kollajenaz • Asit Fosfataz
• Fibrinojen, Faktör V, VII, XI, XIII, Protein S, Plazminojen, vb.	• Serotonin • Histamin	• Arisülfataz
Hüresel Mitojenler	Çift değerlikli Katyonlar	Glikohidrolazlar
• PDGF, TGF- β , IGF, EGF, VEGF, FGF-II, vb.	• Kalsiyum • Magnezyum	• Heparinaz • Diğerleri
Proteoglikanlar		
• PF4, HRGP, PBP, vb.		
Proteaz İnhibitörleri		

Trombositlerin granülleri içerisindeki bu büyüme faktörleri sayesinde doku iyileşmesinde önemli etkileri bulunurken, öte yandan salınan ADP ve Tromboksan A2 gibi moleküller sayesinde adezyon sağlayarak pıhtılaşma mekanizmasında rol oynamaktadır (66, 67).

Alfa Granüller: Çapları 200-400 nm olup tek kat zarla çevrili büyük organeller olup, sayısal olarak da trombositlerin başlıca granülleridir. Hemostaz, enflamasyon, kemik ve yara iyileşmesinde görevli pek çok protein ve büyüme faktörünü içerir. Trombositlerin yoğunlaştırılarak klinikte yara iyileşmesinde kullanımının gündeme gelmesine neden olmuştur.

Delta Granüller: Çapları 250-300 nm olup kalsiyum, pirofosfat, ADP, ATP gibi molekülleri içeren ve serotonin deposu olarak görev yapan granüllerdir.

Lambda Granüller: Çapları 175-250 nm olup içinde asit hidrolazlar gibi lizozomal enzimleri ve bakterisidal etkileri olan glikozidaz, proteaz gibi proteinleri de içermektedirler.

İyileşme dönemi hücre-hücre ve hücre-makromolekül arasında bir dizi etkileşimleri gerektiren bir süreçtir. Yara iyileşmesinde birçok büyüme faktörü bölgede bulunan ve komşu bölgelerde bulunan hücrelerin aktivasyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (68). Cerrahi uygulanan bölgelerde trombositler aktive olurlar ve stabil bir pıhtı meydana getirirler (67, 69). Stabil pıhtı oluştuktan

sonra trombositler granüllerini salarak iyileşme ve dönüşüm sürecini hızlandırmak için ortama birçok büyüme faktörleri salgırlar (70).

Plateletten zengin plazmada plateletlerin aktive olmasıyla ortama salınan Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor (TGF), Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF), Insulin Like Growth Factor (IGF) ve Epidermal Growth Factor (EGF) olarak adlandırılan büyüme faktörleri bulunmaktadır. Bu faktörler hücresele kemotaksi, çoğalma, farklılaşma, debrislerin uzaklaştırılması, anjiogenez ve ekstraselüler matriks oluşumu gibi hücre iyileşmesinin birçok basamağında rol oynamaktadırlar (71, 72).

1.1.5.1. Trombositlerden Salgılanan Sitokinler

Trombositlerin α (alfa) granüllerinden PDGF, TGF- β ve IGF gibi bazı sitokinler salınır. Faktörlerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinden dolayı, PRP ve plateletten zengin fibrin kullanımı yaygınlaşma eğilimi göstermektedir (73, 74).

1.1.5.1.1. PDGF (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü)

PDGF'ler plateletlerin α (alfa) granüllerinden pıhtılaşma sırasında salınırlar. Plateletler dışında monositler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinde de bulunurlar. Yara iyileşmesi sırasında ortaya çıkan ilk polipeptid hormondur.

PDGF'nin en önemli etkisi protein sentezini arttırması ve hücre çoğalmasını sağlamasıdır. Hücreleri bölünmeye hazır hale getiren bir factor olarak bilinmektedir. Mezenkimal hücreler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar üzerinde güçlü mitojenik etkilerivardır. PDGF'nin etkileri diğer büyüme faktörlerinin varlığında artmaktadır. PDGF makrofajlar, lökositler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar için güçlü bir kemotaktik ajandır. Bu görevlere ek olarak, anjiogenezi arttırma özellikleri sayesinde kollajen ve matriks formasyonunu stimüle eder (73-75).

1.1.5.1.2. TGF- β (Transforme Edici Büyüme Faktörü- β)

TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere üç formu bulunur. TGF- β 1'in trombositlerde ve kemikte yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu söyleyen bildiriler vardır. TGF- β otokrin ve parakrin olarak etkisini gösteren önemli bir düzenleyici moleküldür.

TGF- β 'nın fonksiyonları sadece lokal ve çevresel etkilerle sınırlı değildir. TGF- β formlarının endokrin sirkülasyonunun otoimmün hastalıklar ve kronik fibrotik patolojilerde önemli bir rolü olduğu görülmüştür. Artık günümüzde de aterosklerozis ve karsinogenezisi de içeren pek çok patolojilerde prognostik marker olarak kullanılmaktadır. Makrofajlar, plateletler ve endotelial hücrelerin salgıladığı TGF- β formları etkilerini çevredeki fibroblastlar, kemik iliği kök hücreleri, endotelial hücreler ve preosteoblastlar üzerinde gösterirler.

TGF- β 'lar angiogenezisi arttırmaktadırlar. Konnektif dokulardaki fibronektin, glikozaminoglikan ve kollajen yapımını artırır. TGF- β 'nın önemli görevlerinden biri de osteoblast öncülerinin mitojenezini ve kemotaksisidir.

TGF- β aynı zamanda osteoklast yapımını ve rezorpsiyonu azaltarak kemik oluşumunu arttırmaktadır.

TGF- β PDGF ile birlikte fibroblastların büyümesini artırırken EGF birlikteyken inhibe etmektedir (73-75).

1.1.5.1.3. IGF-I (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I)

IGF-I insülin ile %47 oranında benzerlik göstermektedir. En fazla kemik dokusunda bulunan büyüme faktörüdür. Kemik matriksi içinde depolanarak rezorpsiyon esnasında ortama salınır ve yeni kemik oluşumunu artırır. Kıkırdak hücrelerinin ve osteoblastların büyümesini, kemik matriks oluşumunu preosteoblastların osteoblastlara farklılaşmasını artırır.

IGF-I osteoblastlar ve trombositler başta olmak üzere makrofaj ve monositlerden de salgılanmaktadır. IGF-I in PDGF ile kombinasyonu yara iyileşmesinin kalite ve kantitesini arttırabilmektedir (74, 75).

1.1.5.2. Lökositler Tarafından Salgılanan Sitokinler

Enflamasyonda önemli görevleri olan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ile yara iyileşmesinde görev yapan IL-4 ve VEGF gibi sitokinlerdir (73).

1.1.5.2.1. IL-1 β (Interlökin-1 β)

Enflamasyonunun kontrolünde önemli rol oynar. IL-1'in α ve β formları vardır. IL-1 β dominant olan formudur. IL-1 β üretilmesi TNF- α , İnferon α , β , γ ve bakteriyel endotoksinler varlığı ile kontrol edilmektedir. Başlıca görevi Yardımcı T

lenfositlerinin stimulasyonudur. TNF- α ile beraber çalıştığında ise osteoklastik aktiviteyi arttırmış olur (73).

1.1.5.2.2. IL-6 (Interlökin-6)

IL-6, IL-1 β ve TNF- α ile iletişim halinde çalışan bir sitokindir. Esas olarak kaynağı aktif monosit, fibroblast ve epitelyal hücreler olupmakrofaj, T ve B lenfositler, granüosit, mastosit, kondrosit ve osteoblast hücreleri de IL-6 salgırlar. Ayrıca IL-6 kendisi salgılanmasını aktive veya inhibe edebilir.

IL-6, B lenfositlerin değişimini ve T lenfositlerin de aktive olmasını sağlar. IL-2 ile beraber T lenfositlerinin sitotoksik T lenfositlere dönüşmesini sağlar. Bundan başka IL-4 ile etkileşerek IL-6, B lenfositlerin son farklılaşmasında rol oynayıp salgılayıcı plazmositlere dönüşmesini sağlar. İL-6 B lenfositlerin antikörlerin salgılanmasını da uyarır. IL-6'nın IL-3 ile sinerjik etki göstererek hematopoetik hücreleri arttırdığı tespit edilmiştir.

IL-6 immün hücrelerin aktive olmasında ve buna bağlı olarak enflamasyon, yıkım ve remodeling olaylarında önemli görevler yapmaktadır (73, 75).

1.1.5.2.3. TNF- α (Tümör Nekroze Edici Faktör α)

TNF- α , bakteriyel endotoksin varlığında ilk salgılanan sitokinlerdendir. Bakteriyel antijenler tarafından aktive olduktan sonra makrofaj, nötrofil, polimorfonükleer lökosit ile T lenfositler tarafından salgılanırlar. TNF- α , monositleri aktive ederler ve fibroblastların fonksiyonlarını arttırlar (75).

1.1.5.2.4. IL-4 (Interlökin 4)

Aktive olan T hücreleri tarafından salgılanmaktadır. IL-4, aktifleşen B hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasında görev almaktadır. Başlıca görevi ise iyileşme esnasında enflamasyonun şiddetini azaltmaktır (74).

1.1.5.2.5. VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)

Vasküler büyüme faktörleri arasında en çok bulunan ve en güçlü faktördür. Epitel hücrelerinin çoğalması, migrasyonu, özelleşmesi gibi fonksiyonlarda başlıca kontrol görevi yapmaktadır. Tek başına anjiogenezisin başlaması ve ağın büyümesi için yeterlidir (74, 75).

PRP yüksek konsantrasyonda trombosit içeren küçük bir plazma volümü olarak adlandırılır. PRP hazırlanmasındaki temel amaç, büyüme faktörleri içeren trombositlerin konsantrasyonunun artırılmasıdır. PRP içinde biyolojik olarak oranları belirlenmiş, doğal büyüme faktörleri bulunur. Bu, PRP'yi rekombinant büyüme faktörlerinden ayıran özelliktir. Rekombinant büyüme faktörleri saf insan büyüme faktörleridir, ancak doğal büyüme faktörü değildirler (77, 78).

Tablo 3. Yara İyileşmesinde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri (76).

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-derived growth factor, PDGF)	Trombositler, makrofajlar endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, anjiogenez
Transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming growth factor β , TGF- β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis indirekt anjiogenez, diğer büyüme faktörlerinin
Epidermal büyüme faktörü (Epidermal growth factor, EGF)	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması
Transforme edici büyüme faktörü α (Transforming growth factor α , TGF- α)	Aktive makrofajlar, trombosit, keratinosit, bazı dokular	EGF'ye benzer
İnterlökinler (Interleukins 1-2, IL-1,2)	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi
Tümör nekroz faktörü (Tümör necrosis factor, TNF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (Leucocyte derived growth factor, LDGF)	Makrofaj, mast hücresi T lenfositleri	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor, CTGF)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factors, FGF)	Beyin, pitüiter bez, makrofaj diğer doku ve hücreler	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matriks depolanmasını uyarır, anjiogenez, yara kontraksiyonu
Keratinosit büyüme faktörleri (Keratinocyte growth factors,	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (İnsülin-like growth factor-1, IGF-1)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Sülfath proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonunu uyarır
İnsan büyüme hormonu (Human growth hormone, HGH)	Pitüiter bez, plazma	Anabolizma, IGF-1 'i uyarır
İnterferonlar (Interferons, IFN)	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

1.1.5.2.6. Plateletten zengin plazma hazırlama yöntemleri

Literatürde kullanılan başlıca PRP hazırlama yöntemleri Apheresis, Platelet Concentrate Collection System (PCCS), Harvest SmartPREP, Curasan, Friudent-Schütze, Platelet Rich-in-Growth Factors (PRGF), Sorin Angel, Arterioocyte Magellan (Medtronic, Minneapolis, MN), BioMet GPSII, Depuy Symphony olarak sayılabilir (70). Bu yöntemlerin yanı sıra literatürde araştırmacıların kendi geliştirdikleri farklı hazırlama yöntemlerine de rastlanılmaktadır (Tablo 5).

Tablo 4. PRP hazırlama yöntemleri

Yöntem	1.Santrifüj	2.Santrifüj
Butterfield ve diğ. (2005)	150 g 20 dak	400 g 10 dak
Anitua ve diğ. (1999)	1500 rpm 6 dak	---
Marx ve diğ. (1998)	5600 rpm	2400 rpm
Dugrillon ve diğ. (2002)	205 g 20 dak	805 g 15 dak
Everts ve diğ. (2006)	1720 g 12 dak	---
Everts ve diğ. (2006)	1660 g 15 dak	305 g 3 dak
Annunziata ve diğ. (2005)	300 g 10 dak	---
Shen ve diğ. (2005)	1000 rpm 10 dak	3000 rpm 15 dak
Lucarelli ve diğ. (2003)	1000 g 15 dak	3000 g 10 dak

PRP elde etmenin temel yöntemi santrifüj işlemidir (79). Hastadan alınan kan, antikoagülan solüsyon içine alındıktan sonra kullanılacak tekniğe göre bir seri santrifüj işlemlerinden geçirilir. Santrifüj ile trombositten fakir plazma, eritrositleri ve trombositleri içeren sarımtırak katmandan ayrılır. Santrifüj işleminin diğer basamakları ile eritrositler ortamdan ayrılır ve PRP elde edilir (80). Kandaki normal trombosit sayısı 150.000–350.000/µl kadardır. Santrifüj işlemleri sonucunda trombosit sayısı kandaki normal degerin 3–8 katına kadar çıkarılabilir (81). PRP’de trombosit sayısı ise ortalama 1.000.000/µl kadardır. Yapılan çalışmalarla PRP’nin doku iyileşmesi sağlayabilmesi için gerekli trombosit konsantrasyonunun 1.000.000/µl olması gerektiği konusunda fikir birliği sağlanmıştır (80, 82)

PRP, fibrin yapıştırıcı değildir. PRP’de trombosit konsantrasyonu fibrin yapıştırıcıya göre daha fazladır. Ayrıca PRP’deki fibrinojen konsantrasyonu fibrin yapıştırıcıya oranla daha azdır. Daha az fibrinojen içerdiği için uygulandığı ortamda çok katı bir fibrin oluşmaz, bu nedenle yara iyileşmesini engellemeyip, aksine içindeki büyüme faktörleri sayesinde bu olayı hızlandırdığı düşünülmektedir. PRP’nin içindeki doğal fibrinojen konsantrasyonu PRP’nin cerrahi alana uygulanmasını kolaylaştıran jelatinöz, yapışkan kıvamını verir (82).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Rektörlüğü Deneysel Hayvanları Etik Kurulu Başkanlığı'nın 10.01.2012 tarih ve 09 sayılı izni ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirildi.

Çalışmada iskelet sistemi gelişimini tamamlamış Wistar albino tipi ratlar kullanılmıştır. Denekler arası genetik farklılıkları azaltmak için ratların tamamı aynı hayvan laboratuvarından temin edilmiştir.

Çalışmada hepsi 5 aylık, vücut ağırlıkları 223-264 gr arasında değişen Wistar Albino türü 28 adet rat kullanıldı. Deneysel grubundaki tüm hayvanlar standart laboratuvar yemi ve musluk suyu ile beslendi. Ratlar uygun kafeslerde 22±2 derece sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Cerrahi sonrasında tüm hayvanlara kendilerine ayrılmış olan odaya alınıp, yedişerli olarak toplam dört grup halinde kafeslere konularak uzman veteriner kontrolünde izlenmiştir.

2.1. Deneysel Modeli ve Cerrahi İşlemler

Çalışmamızda ratlara Ketamin hidroklorid 50 mg/kg (Ketalar), Ksilazin hidroklorid 5 mg/kg (Rompun) intramusküler olarak uygulanarak anestezi işlemi yapıldı. Uygun anestezi derinliği sağlandıktan sonra abdomen duvarı traş edilerek %10 povidin iyodin solüsyonu ile temizlendi ve temiz örtü ile örtüldü. Tüm gruptaki ratlara batın orta hattın 4 cm'lik kesi ile laparotomi yapıldı. Cilt, ciltaltı, fasya incelenerek batın açıldı. Lokal PRP uygulanacak gruplardan vena kava düzeyinden 1.5 ml kan alındı. Her rat fasyası 3-0 polyglactin suture ile devamlı şekilde primer kapatıldı. Cilt ise 3-0 ipek suture ile devamlı olarak kapatıldı. Birinci grup, kontrol grubu olarak kabul edildi ve laparotomi sonrasında fasya primer olarak kapatıldı. İkinci gruptaki ratlarda karın kapatılırken fasya üzerine lokal olarak PRP uygulandı. Üçüncü gruba laparotomi yapıldıktan sonra fekal peritonit oluşturuldu ve fasya kapatıldı. Dördüncü gruba ise laparotomi yapıldıktan sonra fekal peritonit oluşturuldu ve fasya üzerine lokal olarak PRP uygulandı. Tüm ratlar 1 hafta sonra kurban edildi. Anestezi altında dekapite edilen ratlardan biyokimyasal parametreleri çalışmak üzere her rattan toplam 5 ml kan alındı. Histopatolojik

inceleme ve doku hidrokspirolin düzeyini araştırmak için cilt insizyonu açılarak fasya insizyon hattı, 2 cm sağlam dokuyu da içine alacak şekilde alındı.

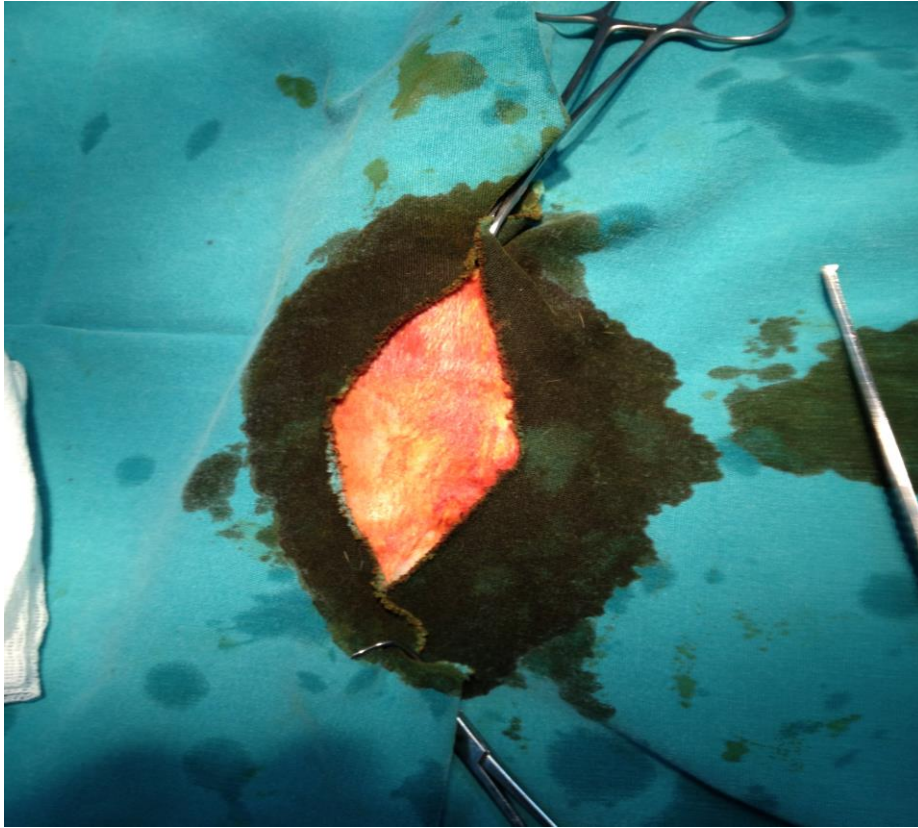
2.2. Deney gruplarının oluşturulması

Grup I (Kontrol Grubu, n=7); Bu gruptakilere laparotomi sonrası sadece primer fasyatamiri yapıldı.

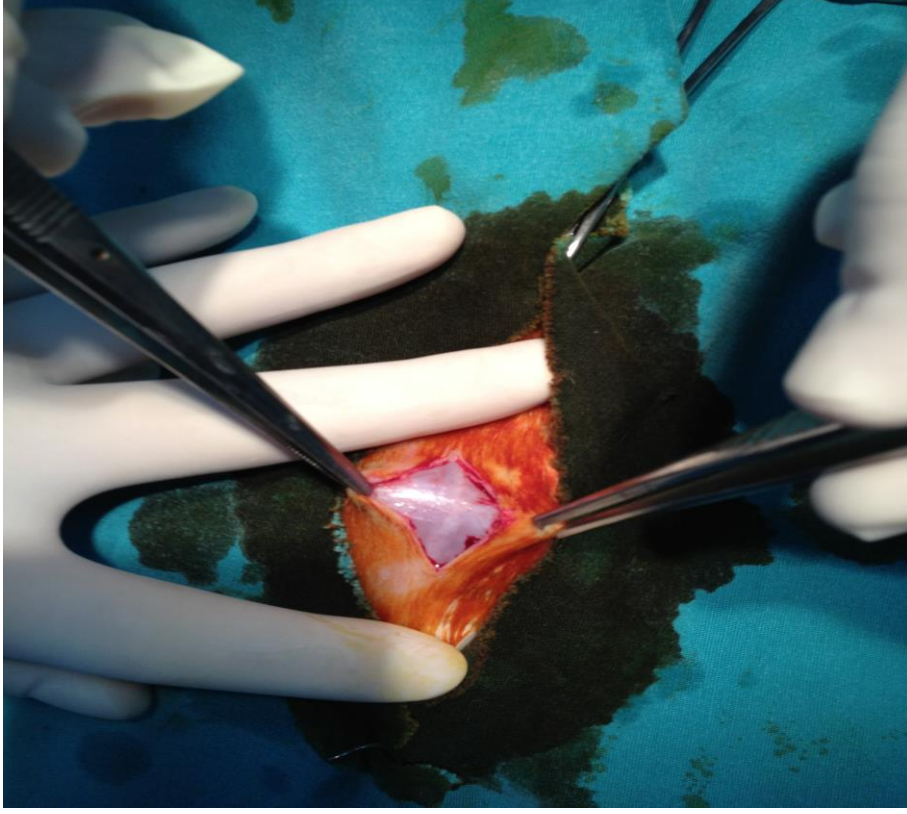
Grup II (PRP grubu, n=7); Bu gruptakilere laparotomi sonrası primer fasyatamiri ve kan alınarak elde edilen PRP fasyaüzerine uygulandı.

Grup III (Fekal peritonit grubu, n=7); Bu gruptakilere laparotomi sonrası fekal peritonit oluşturuldu ve primer fasyatamiri yapıldı.

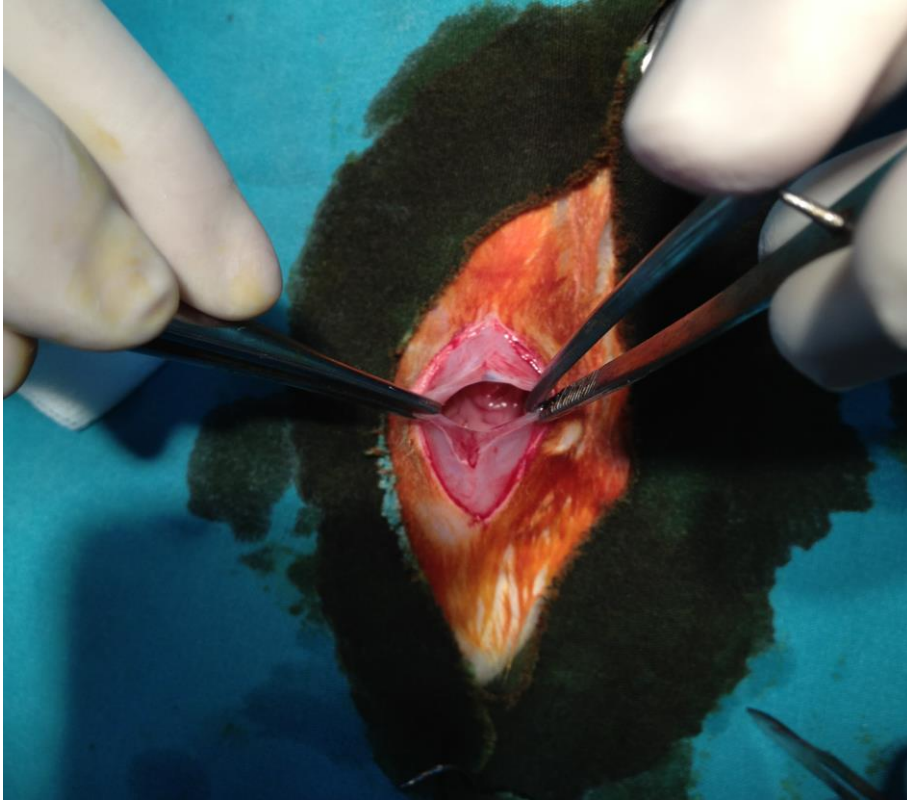
Grup IV (Fekal peritonit+PRP grubu, n=7); Bu gruptakilere laparotomi sonrası fekal peritonit oluşturuldu, primer fasyatamiri yapıldıktan sonra kan alınarak elde edilen PRP fasyaüzerine uygulandı.



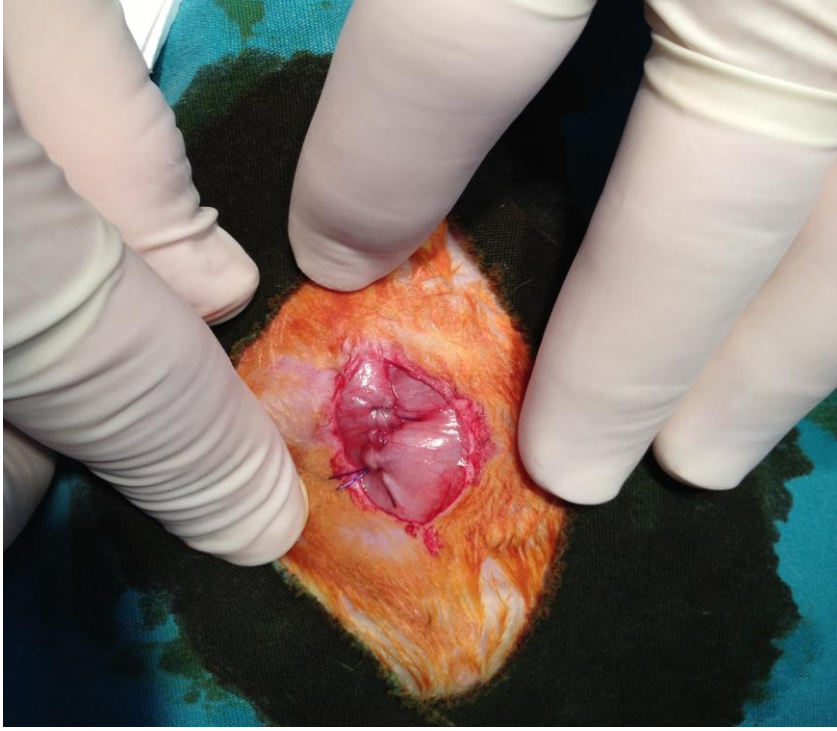
şekil 5. Cerrahi sahanın örtülmesi



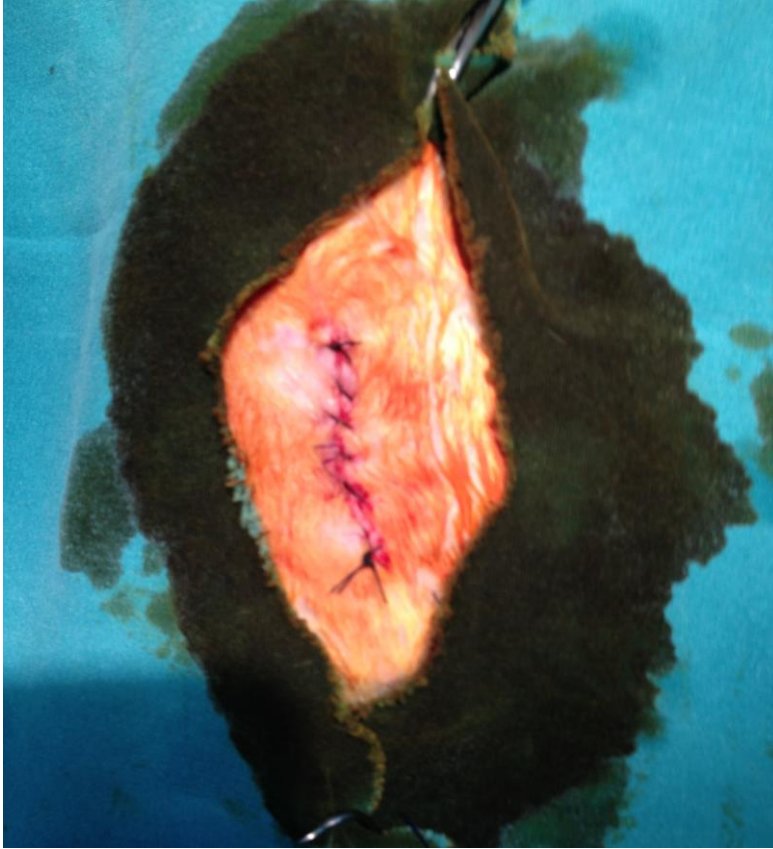
Şekil 6. Cilt insizyonu



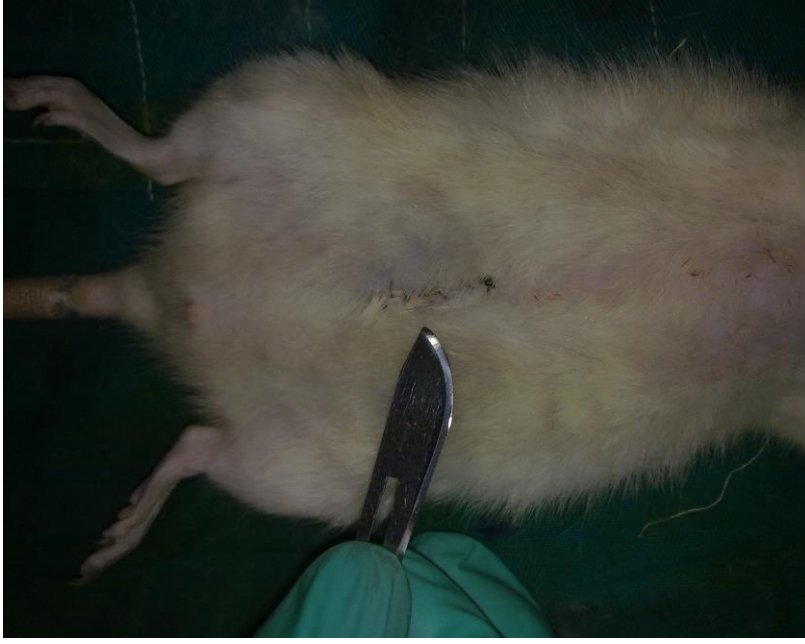
Şekil 7. Fasya insizyonu



Şekil 8. Fasya kapatılması



Şekil 9. Cilt kapatılması



Şekil 10. Sakrifiye edilmiş ratta cilt insizyon hattı



Şekil 11. Sakrifiye edilmiş ratta fasya insizyon hattı



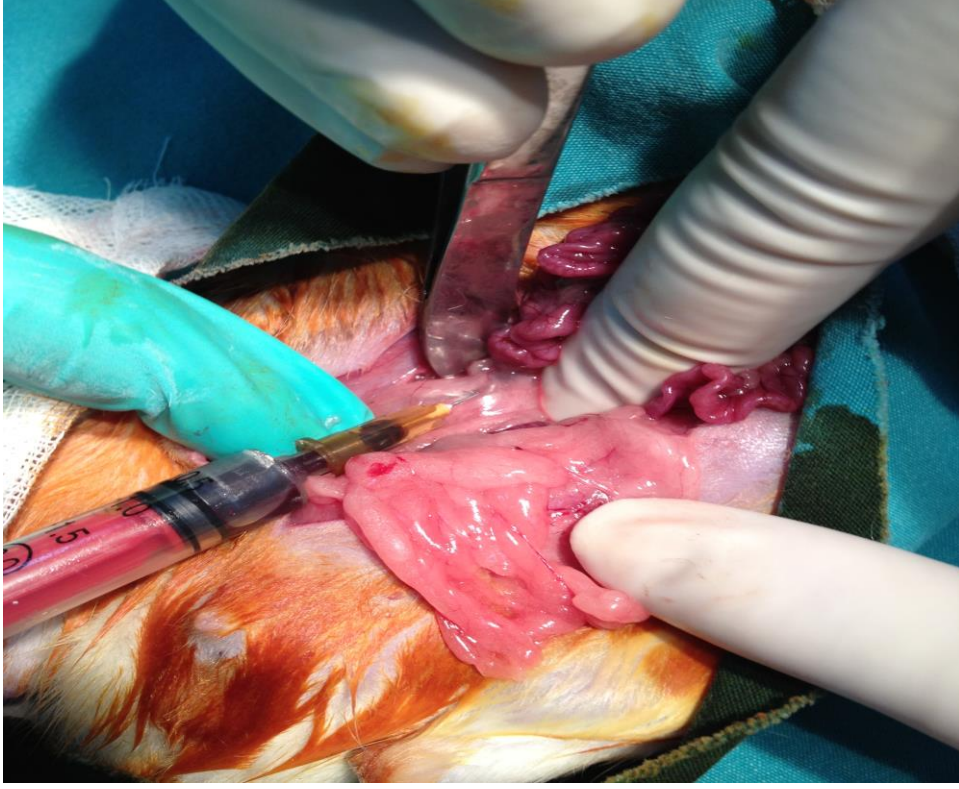
Şekil 12. Fasya insizyon hattının histopatolojik değerlendirme için eksizyonu

3.2. Plateletten zengin Plazma' nın Hazırlanması

Çalışmada az miktarda alınacak kan ile PRP temin edileceği için Marx ve ark. larının kullandığı klasik santrifüj aleti ile iki defa santrifüj işlemi uygulanarak PRP elde edildi (70).

Plateletten zengin plazma hazırlamak için her bir rattan kendilerinde kullanılmak üzere böbrekler düzeyinde vena kavadan alınan 1.5 ml kan EDTA'lı tüp içine kondu. Tüpler 5600 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutuldu ve işlem sonucunda kan trombositten fakir plazma, eritrositler ve trombositleri içeren sarımtırak kısım olmak üzere üç katmana ayrıldı. Üstte toplanan açık sarı renkli plazma ile alt tabakada kalan eritrositler arasında kalmış olan trombositler ve beyaz küreler tarafınca oluşturulmuş 'buffy coat 'izlendi. Trombositten fakir plazma kısmı atılarak geri kalan kısma tekrar 2400 rpm'de santrifüj işlemi yapıldı. Bu işlem sonunda eritrositler de ayrılarak plateletten zengin plazma elde edildi.

Yapılan çalışmalarda PRP'nin doku iyileşmesi sağlayabilmesi için gerekli trombosit konsantrasyonunun 1.000.000/ μ l olması gerektiği konusunda fikir birliği sağlanmıştır (80-82). Bizim çalışmamızda da yapılan analizlerde ortalama trombosit konsantrasyonu 1.000.000/ μ l olarak ölçüldü (80-82).



Şekil 13. Kanın alınması



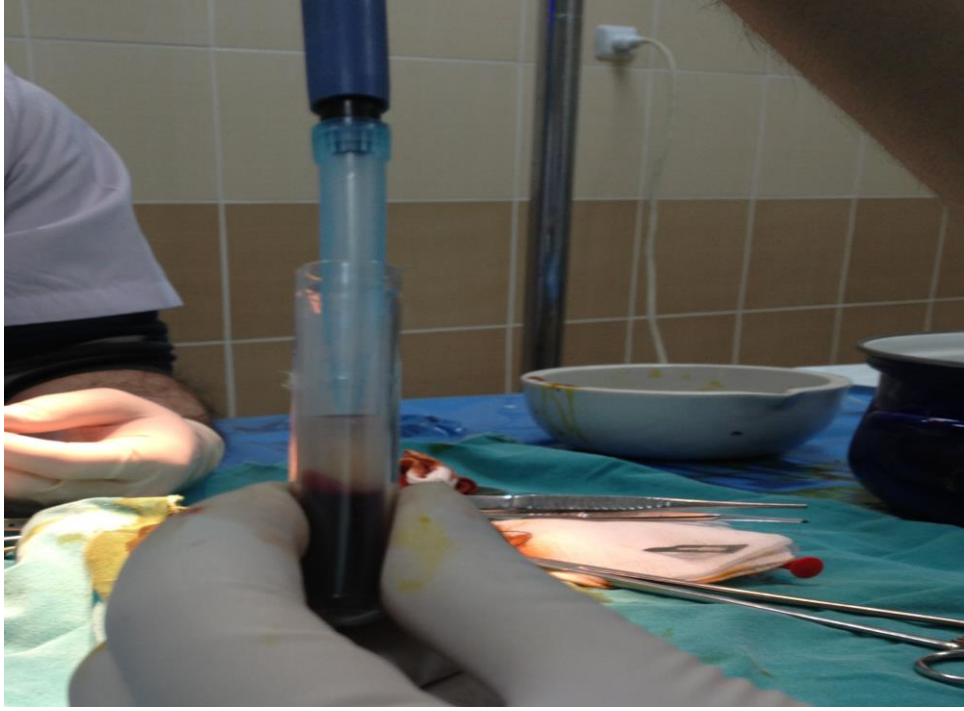
Şekil 14. Kanın EDTA'lı tüpe alınması



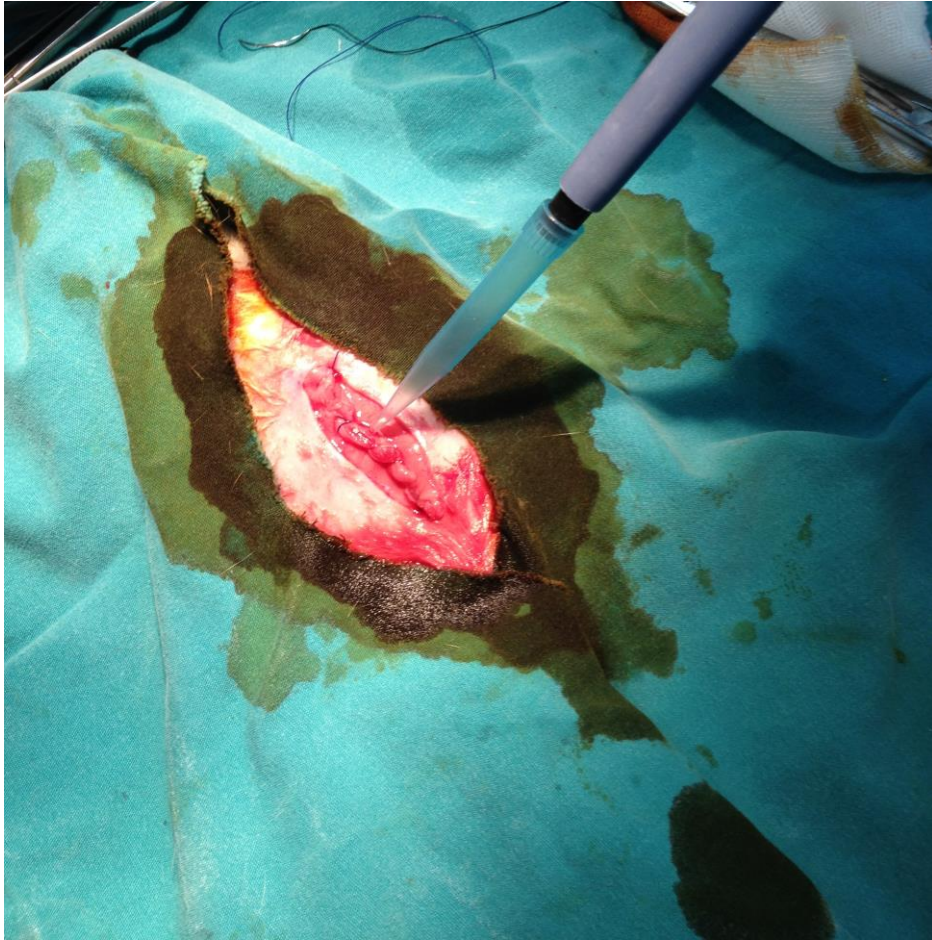
Şekil 15. Santifüj Aleti



Şekil 16. Santrifüj sonrası oluşan trombositten fakir ve zengin alanlar



Şekil 17. Plateletten zengin katmanın pipetle alınması



Şekil 18. Plateletten zengin Plazmanın fasyaüzerine lokal olarak uygulanması

3.3. Biyokimyasal İnceleme

Tüm gruptaki ratlar 1 hafta sonra sakrifiye edildikten sonra her rattan biyokimyasal olarak TNF- α ve TGF- β aktivitesini çalışmak üzere EDTA içeren vakumlu kan alma tüplerine 5 ml kan ve doku hidrokisprolin ölçümü için fasyainsizyon hattından doku örnekleri alındı. Plazma örneklerinde; TNF- α ve TGF- β düzeylerini ölçmek için örnekler çalışma gününe kadar -80°C 'de derin dondurucuda saklandı. Plazma örneklerinde; TNF- α (Katalog No: CK-E30635) ve TGF- β düzeyleri (Katalog No: CK-E30636) Eastbiopharm marka test kitleri kullanılarak Eliza yöntemi ile tayin edildi. Doku hidrokisprolin düzeyleri için (Katalog No: CK-E30191) dokular kit içeriğine uygun olarak homojenize edilerek elde edilen supernatantlarda hidrokisprolin düzeyleri ölçüldü.

3.4. Histopatolojik inceleme

Postoperatif olarak, bütün deneme gruplarında ensizyon bölgelerinden doku numuneleri alındı ve % 10'luk tamponlu formalin solusyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerden geçirildikten sonra hazırlanan parafin bloklardan alınan kesitler haematoxylin–eosin (H&E) ve kollajen birikim için Crossman's trichrome boyama metotları ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Yara bölgesindeki yangısal hücre infiltrasyonu, neovaskularizasyon, fibroblast aktivasyonu ve kollajen birikimi yöntemine göre skorlanarak değerlendirildi. Kısaca histopatolojik değişiklikler şu şekilde skorlandı: 0: değişiklik yok, 1: hafif, 2. Orta, 3: şiddetli.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler toplanarak, SPSS (v.16,0,0) yazılımı kullanılarak istatistiksel değerlendirme yapıldı. Gruplara göre, bulguların karşılaştırılmalarında Kruskal-Wallis Variance analizi, bu teste göre farklılığın önemli olduğu verilerin ikili karşılaştırmalarında da Mann Whitney U testi kullanıldı.

3. BULGULAR

Takip sırasında IV. grupta 1 rat öldüğü için çalışma dışı bırakıldı. Diğer gruplarda ölüm olmadı. Böylece IV. grupta 6, diğer gruplarda 7 rat çalışmaya dahil edildi.

3.1. Biyokimyasal bulgular

Çalışmanın 7. gününde deneklerden alınan kandan TNF- α ve TGF- β seviyeleri ölçüldü. İnsizyon yaralarından alınan biyopsi örnekleri isebiyokimyasal incelemeye tabi tutularak hidrokspirolin miktarları ölçüldü. Elde edilen veriler tabloda gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Biyokimyasal bulgular

Biyokimyasal bulgular	Gruplar				P
	Grup I (Kontrol Grubu, n=7)	Grup II (PRP grubu, n=7)	Grup III (Fekal peritonit grubu, n=7);	Grup IV (Fekal peritonit + PRP grubu, n=6);	
TNF- α	272.10 \pm 45.77 ^a	358.41 \pm 42.03 ^b	362.60 \pm 43.36 ^b	389.23 \pm 28.70 ^b	**
TGF- β	93.13 \pm 19.86 ^a	97.85 \pm 12.65 ^a	123.37 \pm 32.92 ^a	137.04 \pm 30.17 ^b	**
Doku Hidrokspirolin	23.41 \pm 8.59	32.90 \pm 24.41	22.29 \pm 7.49	18.04 \pm 2.61	-

- : p>0.05; * : p<0.05; ** : p<0.001; ^{a,b} : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli.

Araştırmada, biyokimyasal sonuçlar değerlendirildiğinde, TNF- α düzeyleri kontrol grubuna (grup 1) kıyasla tüm gruplarda anlamlı olarak yüksek çıktı (P<0.001). En yüksek fekal peritonit oluşturulmuş PRP uygulanan grupta (grup 4) tespit edildi. Fekal peritonit oluşturulmadan PRP uygulanan grupta (grup 2) TNF- α seviyesi an az yüksek çıktı. TGF- β değerleri ise sadece grup 4 te anlamlı olarak yüksek tespit edildi (P<0.001). Grup 2 de sayısal olarak TNF- α değeri yüksek tespit edilse de farklılıklar anlamlı izlenmedi (P<0.05). Doku hidrokspirolin seviyesi sayısal olarak grup 2 de en yüksek çıkmasına rağmen aralarındaki farklılıklar anlamlı izlenmedi (P<0.05).

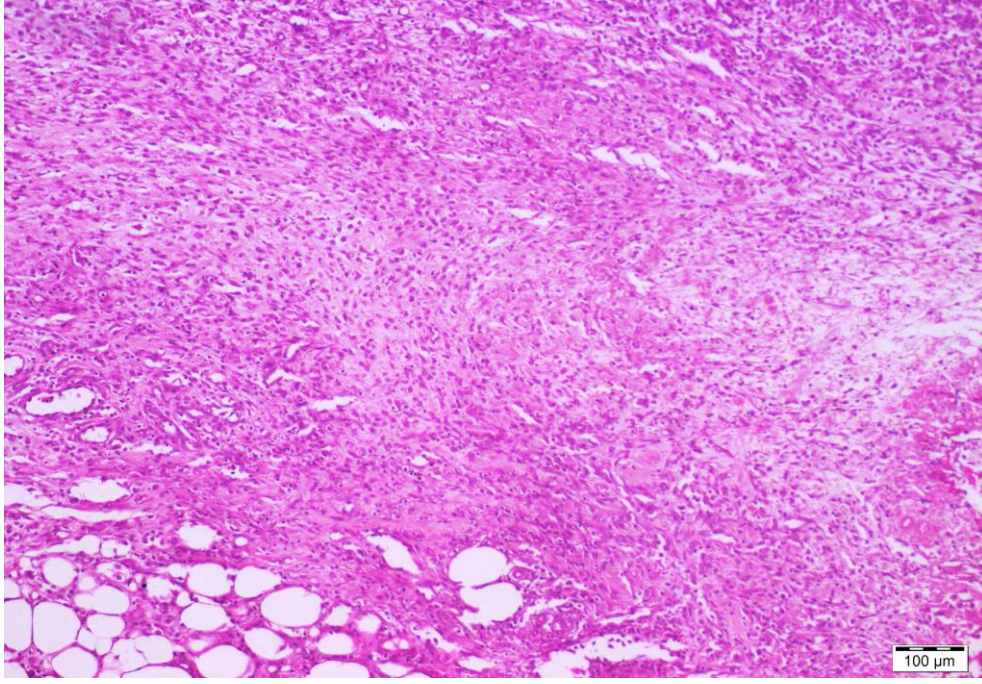
3.2. Histopatolojik bulgular

Çalışmada, gruplara göre fasyadoku örneklerinde hücre infiltrasyonu, neovaskularizasyon, fibroblast aktivasyonu ve kollajen birikimine ilişkin istatistikî veriler Tablo 6'de verilmiştir.

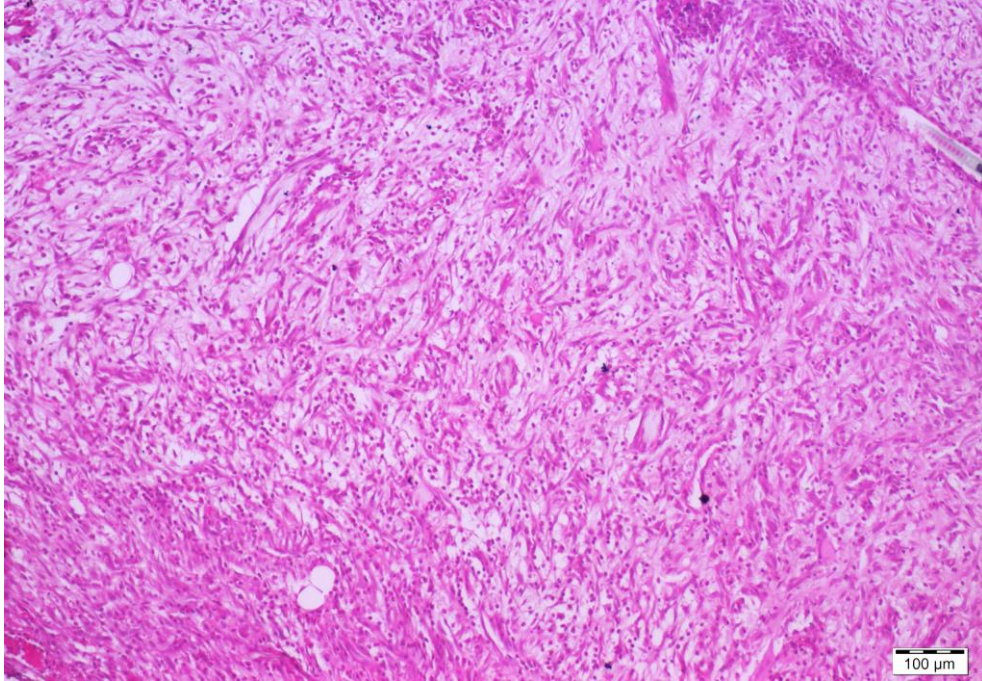
Tablo 6. Histopatolojik bulgular

Histopatolojik bulgular	Gruplar				P
	Grup I (Kontrol Grubu, n=7)	Grup II (PRP grubu, n=7)	Grup III (Fekal peritonit grubu, n=7)	Grup IV (Fekal peritonit + PRP grubu, n=6)	
Yangısal hücre infiltrasyonu	2.29±1.254	2.00±1.00	3.29±0.488	2.86±0.900	-
Neovaskularizasyon	2.57±0.535 ^{ab}	2.71±0.488 ^a	1.86±0.378 ^b	2.57±0.535 ^a	*
Fibroblast aktivasyonu	2.71±0.488 ^{ab}	3.29±0.488 ^a	2.29±0.488 ^b	2.71±0.488 ^{ab}	*
Kollajen birikimi	2.43±0.535	2.86±0.378	2.29±0.488	2.57±0.535	-

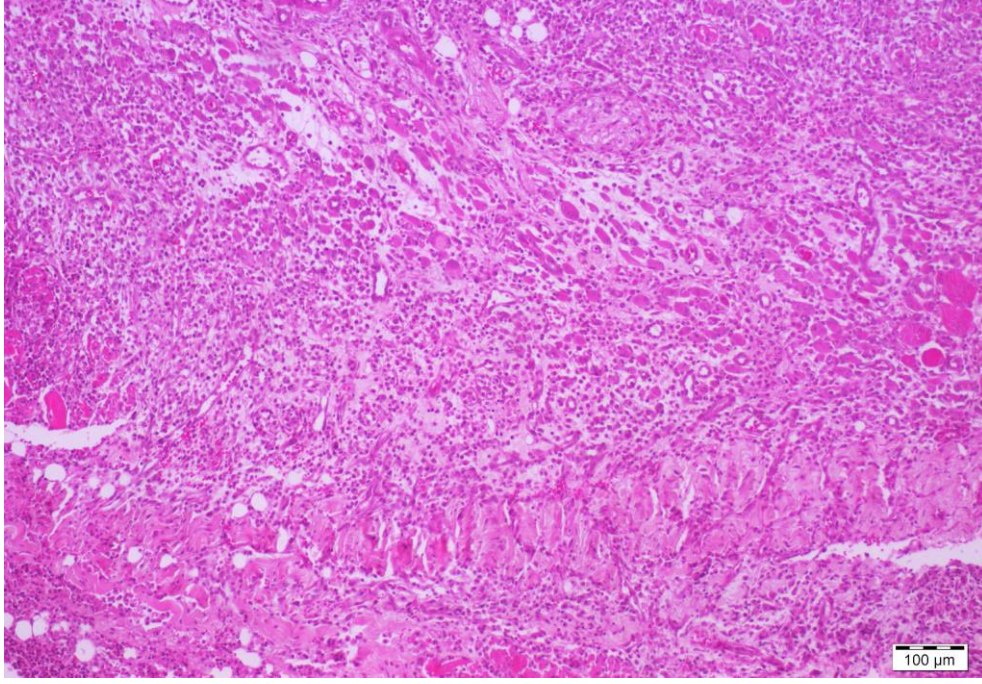
Histopatolojik veriler incelendiğinde yangısal hücre infiltrasyonu ve kollajen birikimi bakımından gruplar arasında farklılıklar önemli bulunmadı ($P>0.05$). Ancak kollajen birikimi sayısal olarak en fazla grup 2 de sonra grup 4 te izlendi. Neovaskularizasyon ve fibroblast aktivasyonunun, PRP uygulanan (grup 2) ve peritonit varlığında PRP uygulanan gruplarda (grup 4) önemli düzeyde arttığı ($P<0.05$), peritonitli grupta (grup 3) ise azaldığı saptandı.



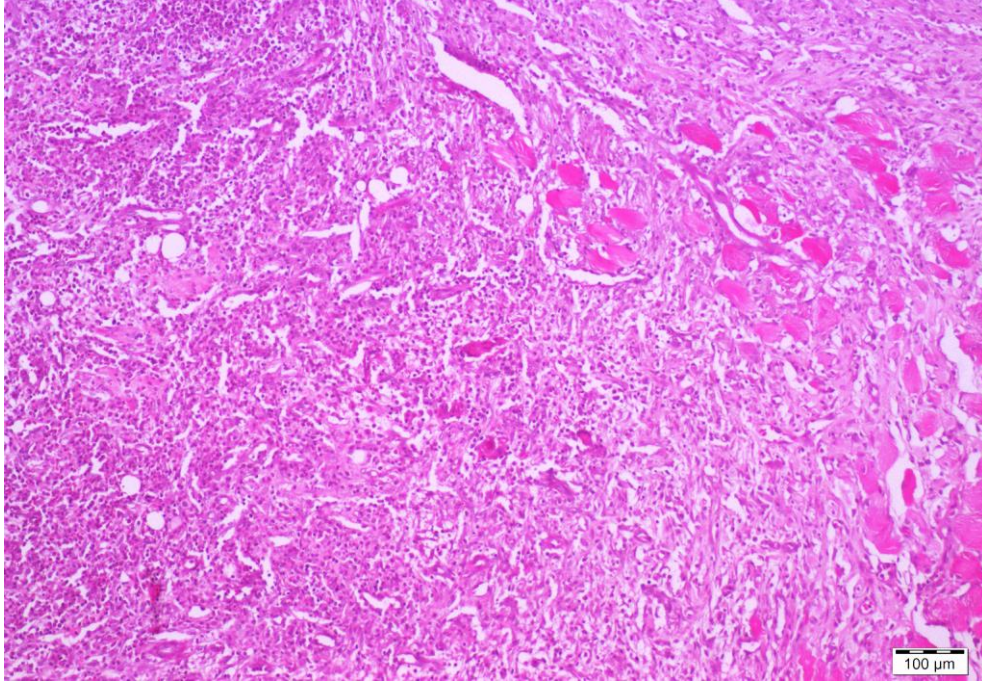
Şekil 19. Kontrol grubunun (grup 1) yara bölgesi mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde yangısal hücre infiltrasyonu, fibroblast aktivasyonu ile neovaskulizasyon görülmektedir. Heamatoxylen &Eosin boyama.



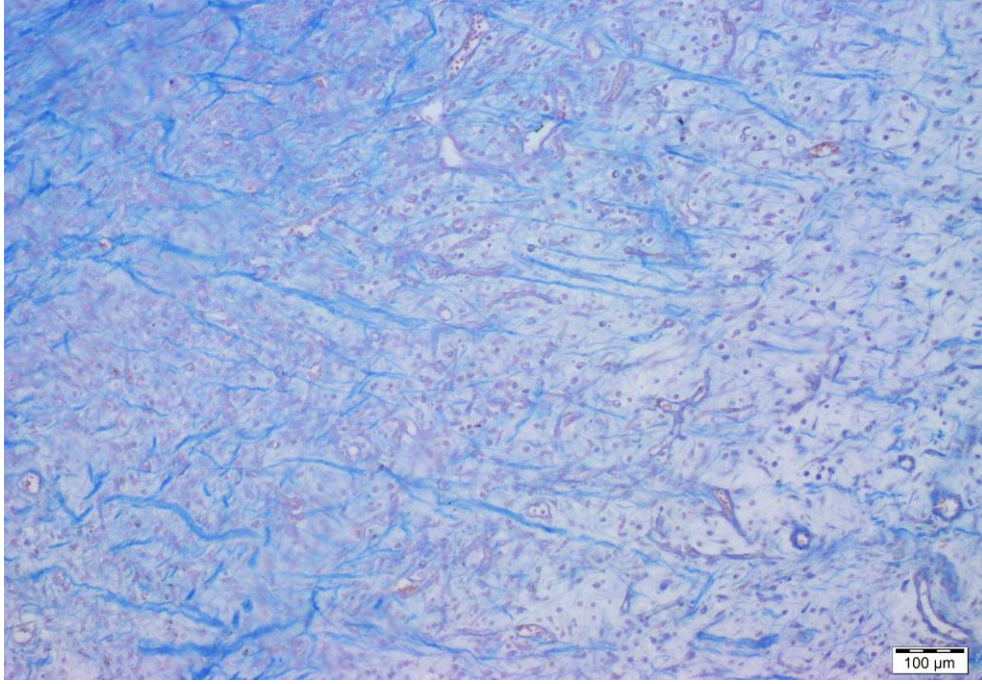
Şekil 20. Peritonit oluşturulmadan PRP uygulanan grubun (grup 2) yara bölgesinin mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde yangısal hücre infiltrasyonu, fibroblast aktivasyonu ile neovaskulizasyon görülmektedir. Hematoksilen &Eozin boyama.



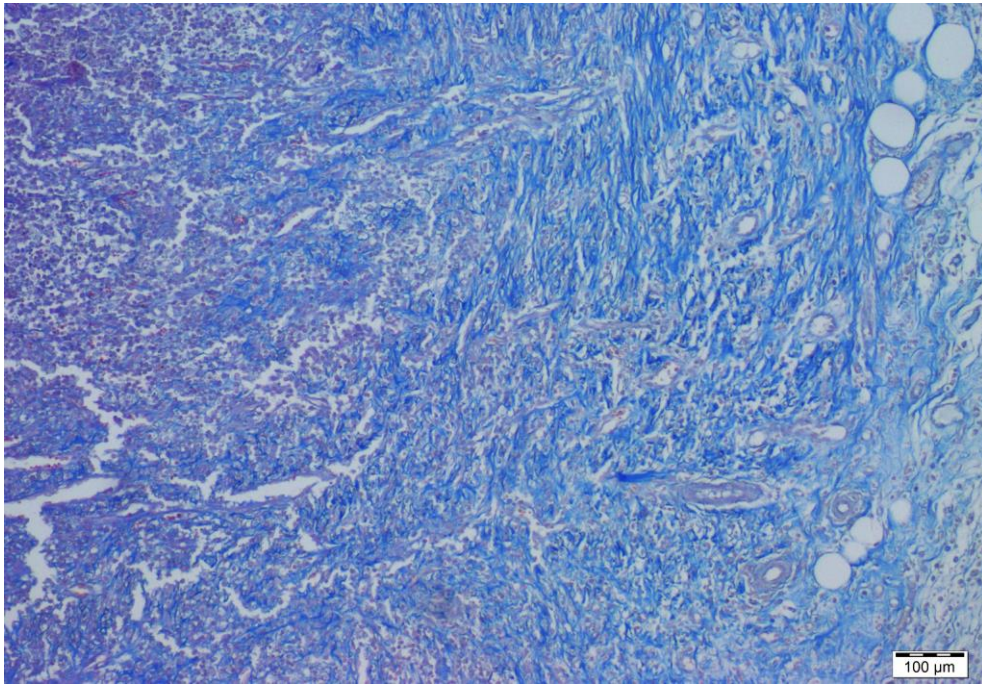
Şekil 21. Peritonit oluşturularak primer faysa tamiri yapılan grupta (grup 3) yara bölgesinin mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde yangısal hücre infiltrasyonu, fibroblast aktivasyonu ile neovaskulizasyon görülmektedir. Hematoksilen &Eozin boyama.



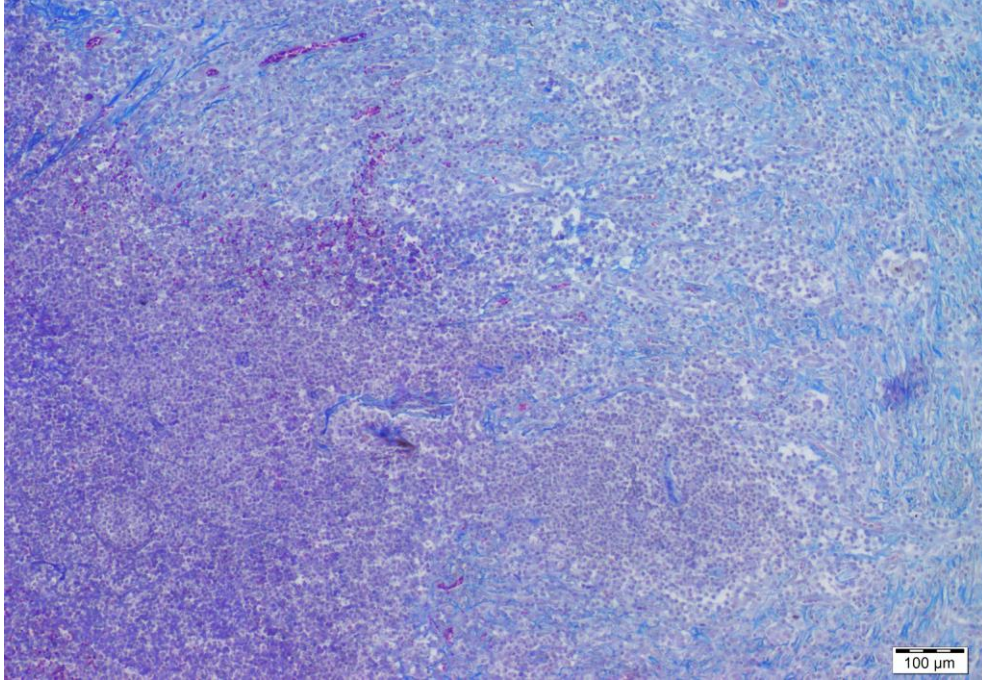
Şekil 22. Peritonit oluşturulduktan sonra faysa tamiri yapılan ve lokal PRP uygulanan grubun (grup 4) yara bölgesinin mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde yangısal hücre infiltrasyonu, fibroblast aktivasyonu ile neovaskulizasyon görülmektedir. Hematoksilen &Eozin boyama.



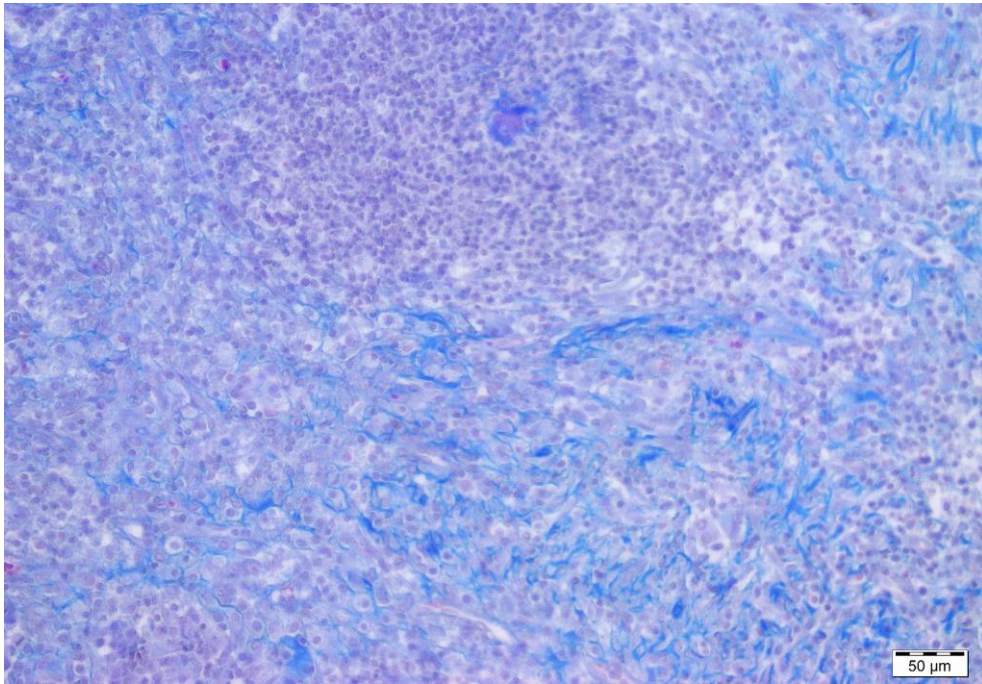
Şekil 23. Kontrol grubunun (grup 1) yara bölgesi mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde kollajen doku (mavi renkli ipliksi yapılar) görülmektedir. Masson's Trichrome boyama.



Şekil 24. Peritonit oluşturulmadan PRP uygulanan grubun (grup 2) yara bölgesinin mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde kollajen doku (mavi renkli ipliksi yapılar) görülmektedir. Masson's Trichrome boyama.



Şekil 25. Peritonit oluşturularak primer faysa tamiri yapılan grupta (grup 3) yara bölgesinin mikroskopik görünümü. Yara bölgesinde kollajen doku (mavi renkli ipliksi yapılar) görülmektedir. Masson's Trichrome boyama.



Şekil 26. Peritonit oluşturulduktan sonra faysa tamiri yapılan ve lokal PRP uygulanan grubun (grup 4) yara bölgesinin mikroskopik görünümü; Yara bölgesinde kollajen doku (mavi renkli ipliksi yapılar) görülmektedir. Masson's Trichrome boyama.

4. TARTIŞMA

Tıp; hastalıkları tedavi etmekte bireyin kendi dokularını kullanmaya çaba sarf etmektedir. Bunun en iyi örnekleri hematolojik hastalıklarda faydası artık tartışılmaz olan otolog kök hücre – kemik iliği nakilleridir. Bu tür çalışmalar devam ederken bir yandan da vücuttaki birçok hücrenin başka özellikleri keşfedilmekte ve insanlığa sunulmaktadır (4). Bu iki durumun son yıllardaki en bariz örneklerinden bir tanesi PRP; yani trombosit (plateletten) zengin plazmadır. Başlangıçta trombositlerin sadece pıhtılaşmada rol aldığı düşünülüyordu. Ama trombositler, derideki çeşitli hücrelerin ve özellikle kök hücrelerin aktive edilmesinden sorumlu birçok biyoaktif proteinleri salgıladığını ve böylece doku yenilenmesini ve iyileşmeyi hızlandırdığı öğrenildi (83-85).

Trombosit (plateletten) zengin plazma (PRP) kullanımını klinisyenler ve araştırmacılar için gelişmekte olan bir alandır ve çeşitli cerrahi uygulamalarda da kullanılmaya başlamıştır. Trombositlerin trombotik bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Aslında trombositler sadece hemostaz için gerekli proteinleri değil aynı zamanda transforme edici büyüme faktörü (TGF), trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi birçok büyüme faktörlerini de içermektedir. PRP'nin önemli bir özelliği de hastanın kendi kanından hazırlanıyor olması nedeniyle immünojenik olmaması ve enfeksiyon bulaş riski olmamasıdır (84, 85). Perianal fistül, hidraadenitis süpürativa, karaciğer yaralanmaları gibi birçok cerrahi alanda PRP kullanılmış olup faydası gösterilmiştir. Ayrıca PRP'nin yara iyileştirmesini pozitif etkilediği ile ilgili pek çok in vitro çalışmalar da mevcuttur (86-88). Biz de bunu rehber edinerek PRP'nin acil cerrahide orta sıklıkta karşılaştığımız çıkan fekal peritonitli ortamda fasyaiyileşmesine pozitif yönde etki edebileceği düşüncesiyle bu çalışmayı yaptık.

Yara, normal anatomik yapı ve fonksiyonel bütünlüğün bozulmasıdır. Yaralanmayı takiben dokuda fonksiyonların korunmasına ve kaybedilen fonksiyonların geri dönüşümünü sağlamaya yönelik mekanizmalar aktive olur (2, 33). Deride yaralanma; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hücre proliferasyonu ile yeni doku oluşumu, matriks ve dokunun yeniden şekillenmesini içeren bir dizi olayı başlatır. Bu süreç, yaralanmış bölgede kısmi yenilenmeye neden olur. Tamir süreci,

yaralanmayı takiben salınımları artan çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve düşük molekül ağırlıklı maddeler tarafından başlatılır (1, 9)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yara iyileşmesi sürecinin hücrel ve moleküler temeli açıklanmaya çalışılmıştır. Normal yara iyileşmesinde, tedavi edici uygun yöntemin planlanmasında ve geliştirilmesinde klinik, hücrel ve diğer faktörlerin etkileşiminin değerlendirilmesi önem taşır. Bu kapsamda farklı tedavi yöntemleri denenmekte, iyileşme sürecinin hızlanması, aşırı enflamasyon ve enfeksiyonun önlenmesi, iyileşme sürecini takiben sekel kalmasını engellemeye yönelik yeni tedavi arayışları devam etmektedir. Enfeksiyon cerrahi yaralarda bazen basit drenaj antibiyoterapi ile tedavi edilmekte iken bazen de eviserasyon ve evantrasyona kadar istenmeyen durumlara yol açabilmektedir (89-91).

Günümüzdeki tüm tıbbi teknoloji gelişmelerine rağmen beraberinde peritonit özellikle de fekal peritonit bulunan durumlarda karın kapatılmasından sonra gelişebilecek enfeksiyon ve takiben artmış insizyonel herni riski acil cerrahi prosedürlerde halen ciddi morbidite nedenidir (92). İnsizyonel herniler önemli oranda iş gücü kayıplarına, morbiditeye yol açar, hayat kalitesini olumsuz yönde etkiler. İnsizyonel hernilerin tek tedavi seçeneği cerrahidir. İnsizyonel herni oluşumundan sonra hastaların tekrar cerrahi işleme alınması morbite oranını arttırmakta, hastanede kalış süresi ve cerrahi işlemler esnasında oluşacak maliyet durumu önemsenecek kadardır (90). Karın ön duvarı fasyalarının iyileşmesi yara iyileşmesi ile aynı prensibe dayanmaktadır. Karın ön duvarı fasyalarının iyileşme hızı ve kalitesi başta enfeksiyon olmak üzere yara iyileşmesini etkileyen tüm faktörlerle ilişkilidir. Kısacası fasyaiyileşmesi yara iyileşmesi ve doku yenilenmesi ile yakından ilişkilidir (93-95). Kollajenin ana maddelerinden biri olan hidroksiprolinin doku seviyesinin ölçülmesi, yaradaki kollajen sentez miktarını objektif olarak yansıtır. Hidroksiprolin doku seviyesi yara iyileşme sürecinin iyi bir göstergesidir (96). Özellikle acil, barsak hazırlığı olmayan ya da perfore olmuş kolorektal tümör cerrahisi sonrası anastomoz yapılması gibi işlemlerin yapılması çoğu kez cerrahlar için korkutucudur. Ameliyat sonrası yara yeri enfeksiyon gelişme riski ve anastomoz kaçakları gibi ciddi morbiditeler açısından bu hastalarda riskler artmaktadır (97).

1929 yılında Howes, Sooy ve Harvey'in çalışmaları sonucunda yara iyileşmesinin üç evresi belirlenmiştir. Bunlar; inflamasyon, proliferasyon ve remodeling safhalarıdır. İnflamatuvar fazda hemostaz sağlanır ve bunu inflamatuvar maddenin bölgeye göçü izler. Proliferasyon fazında, fibroplazi, granülasyon, kontraksiyon ve epitelizasyon gerçekleşir. Remodeling safhası, skar matürasyonu olarak da bilinir. İnflamasyon evresi yaralanma anında başlayıp, 24-48 saat içinde sonlanır. Yara iyileşmesinin başlangıç basamağı olan; akut inflamasyon, hemostazın sağlanması, immun sistem komponentlerinin göçü, mekanik, bakteriyel ve kimyasal etkilere karşı cevabın oluşmasını sağlar. Proliferasyon evresini ise iki alt başlıkta inceleyebiliriz; Fibroblast proliferasyonu ve Angiogenesis (9, 25).

Çalışmamızda bu yara iyileşmesi aşamaları göz önünde bulundurularak, gruplara göre fasyadoku örneklerinde hücre infiltrasyonu, neovaskularizasyon, fibroblast aktivasyonu ve kollajen birikimi histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlarımıza göre; yangısal hücre infiltrasyonu ve kollajen birikimi bakımından gruplar arasında farklılıklar önemli bulunmadı. Ancak kollajen birikimi sayısal olarak en fazla laparotomi sonrası primer fasyatamiri ve fasyaüzerine PRP uygulanan grupta tespit edildi. Daha sonra ise laparotomi sonrası fekal peritonit oluşturulup, primer fasyatamiri yapıldıktan sonra fasyaüzerine PRP uygulanan grupta tespit edildi. Neovaskularizasyon ve fibroblast aktivasyonunun, PRP uygulanan ve peritonit varlığında PRP uygulanan gruplarda önemli düzeyde arttığı, peritonitli grupta ise azaldığı saptandı. Buna göre PRP'nin neovaskularizasyonu artırarak yara iyileşmesine olumlu ve istatistiksel olarak anlamlı olarak katkı sağladığını tespit ettik.

Woo ve ark. (98) tavşanlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada; tavşanların vokal kordlarına lazer yardımıyla yara açılarak bu bölgeye ortalama platelet konsantrasyonu 1315000 platelets/mm³ olan PRP uygulanmıştır. Sonuçta; PRP uygulananlarda büyüme faktörlerinin artmış olduğunu tespit etmişler ve PRP'nin yara iyileşmesini arttırarak skar dokusunu azalttığını savunmuşlardır. Yine Mehrannia ve ark. (99) çalışmalarında PRP'nin diyabetik ayaklarda iyileşme üzerine yararı gösterilmiştir. Gerek bizim çalışmamızın sonuçlarına göre gerekse de insan hem de hayvan çalışmalarının sonuçlarına göre PRP yara iyileşmesini arttırmaktadır.

Bizim çalışmamız ile Woo ve ark. (98) çalışmaları hayvan modelleri üzerinde yapılmış olsa da literatürde Mehrannia ve arkadaşlarının çalışmaları gibi birçok insan çalışmaları mevcuttur. Örneğin; Hamman ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada sternotomi sonrasında uyguladıkları PRP'nin derin sternal yara enfeksiyonunu önlemede etkili olduğu bulunmuştur.

PRP yaklaşık 30 yıldır kullanılmaktadır. İlk olarak 1987'de Ferrari ve arkadaşları tarafından açık kalp ameliyatlarını takiben homolog kan ürünlerinin transfüzyonunu azaltmak amacıyla kullanılmıştır (100). Günümüz tıpta kullanım alanları daha çok cerrahi işlemlerle ilgilidir. Bir kısmı insan çalışması, bir kısmı hayvan çalışması ya da bazıları olgu sunumları olmakla birlikte çalışmaların PRP ile ilgili varmış oldukları kanı genelde aynı yöndedir. Çalışmalardaki değişik sonuçların nedeni ise kullanılan ekipman, platelet jeli aktive etmek için kullanılan protokol, hasta ve lezyonun kendine özgü karakteristikleri, kullanılan platelet oranı, farklı depolama zamanları olabilir. Bu nedenle tartışılması gereken diğer bir konu PRP'nin nasıl elde edildiği, nasıl uygulanması gerektiği ve ortalama platelet konsantrasyonu miktarıdır (79).

Şu ana kadar FDA'in onayladığı sayılı miktarda PRP ekstrakte etme ve toplama sistemi mevcuttur. SmartPreP (SmartPREP, Harvest Technologies Corp., Norwell, MA) and Platelet Concentrating Collection Systems (3i/Implant Innovations, Palm Beach Gardens, FL.), Sorin Angel, Arteriocyte Magellan (Medtronic, Minneapolis, MN), BioMet GPSII, Depuy Symphony. Bu farklı sistemler 2-8 kat arası artmış platelet konsantrasyonu elde etmemizi sağlamaktadır. Çoğu PRP sistemi ortopedik endikasyonlar için geliştirilse de sadece CytomedixAutoloGel™ FDA tarafından yara iyileşmesi uygulamalarında onay almıştır. Tabii bunun haricinde pazarlanan birçok PRP elde etme ve toplama cihazı mevcuttur. Ancak cihazların nerdeyse hepsi maliyet açısından pahalıdır (101- 103).

Standart laboratuvar santrifüj kullanarak da PRP elde edilebilir. Fakat bu süreçte iki spin gerekir, birçok transfer işlemi gerekir ve sonuçta sterilitenin korunması zor olabilir. Dahası, bu gibi teknikler içeriğindeki platelet ve onun da içeriğindeki salgısal anahtar protein miktarları açısından sorun yaratabilir (104). Biz çalışmamızda gerek maliyet açısından gerekse de deneysel hayvan çalışması olmasından ötürü cihazlar için yeteri miktarda kan alamayacağımızdan dolayı

laboratuvar santrifüj kullanarak PRP elde ettik. Bu şekilde elde edilmiş PRP'nin, özel cihazlar ve yaklaşık 50-60cc kan alınarak elde edilen PRP'ye göre etkinliği daha sınırlıdır. Buna rağmen çalışmamızda PRP'nin yara iyileşmesi üzerine pozitif etkilerini saptadık. Buradan yola çıkarak insanlarda doğru şekilde ve iyi kalibre edilmiş cihazlarla hazırlanan PRP'nin daha efektif olabileceğine inanıyoruz.

Normalde iyi bir PRP'de en az 1 milyon platelet olmalıdır. Daha yüksek oranda plateletin elde edilmesinin düşünüldüğü gibi daha iyi sonuç vereceği yapılan çalışmalarla destek bulmamıştır (82). Bilakis daha yüksek konsantrasyonların yara iyileşmesini negatif yönde etkilediğini gösteren apoptoza yol açtığını gösteren yayınlar da vardır (78). Ayrıca yüksek oranda TGF- β , EGF ve PDGF'nin yara iyileşmesini bozduğu ve sikatris dokusunu artırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle en iyi etki gücünü sağlamak istiyorsak doğru konsantrasyon da bir o kadar önemlidir (105, 106).

Maliyet açısından PRP eleştirilebilir. Ancak Tam teşkilatlı olmayan kliniklerde santrifüj cihazı kullanılarak PRP elde etmek mümkündür. Koagülasyonu önlemek için antikoagülan citrate dextrose phosphate (ACD-A) (Carter ve ark 2003) veya Na-sitrat (Robiony ve ark 2002, Şahin ve ark 2004, Yakaryılmaz 2005) ihtiva eden enjektöre hastanın kanı ilave edilerek düşük devirde 10-15 dakika santrifüje edilir. Böylece trombosit içeren plazma alyuvarlardan ayrılır. Elde edilen plazmaya antikoagülan (ACD-A veya Na-sitrat) eklenir ve yüksek devirde 10-15 dakika santrifüje edilerek trombositler ayrılır, üstte kalan plazma uzaklaştırılır, böylece PRP hazır hale gelir (Agbaloo ve ark 2002, Robiony ve ark 2002, Yakaryılmaz 2005) (107-111). Eğer bizim de yapmış olduğumuz gibi bu yöntemle PRP elde edilirse maliyet eleştirileri haksız olur.

Büyüme Faktörleri; ağırlıkları 4000-60000 dalton arasında değişen, çok az miktarları bile hücrel aktiviteyi etkileyebilen proteinlerdir. Farklı faktörlerin görevleri ve etkileri ile ilgili yeni buluşlar sürmektedir. Yara iyileşmesinde etkili olan tanımlanmış büyüme faktörleri mevcuttur. Bunlar; Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), Trombositlerce salınan Büyüme Faktörü (PDGF), Asidik ve bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (FGFs), Transforming Büyüme Faktörü α ve β (TGF α , β), Interlökin 1 (IL-1), Interlökin 2 (IL-2), Tümör nekroz faktör α (TNF- α)'dır. Günümüzdeki

çalışmalar göstermektedir ki büyüme faktörleri ve diğer hücrel proteinler iyileşme sürecinde önemli bir yer tutmaktadır (112).

Büyüme faktörlerinin, birçok hayvan modelinde yara iyileşmesini hızlandırdığı açıkça gösterildiği için, biz de çalışmamızda bu büyüme faktörlerinden TNF- α ve TGF- β 'yi ölçerek PRP'nin bu etki mekanizması ile yara iyileşmesini ne yönde etkilediğini araştırdık. TNF α düzeyleri kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda anlamlı olarak yüksek çıktı (P<0.001). En yüksek fekal peritonit oluşturulmuş PRP uygulanan grupta tespit edildi. TGF- β değerleri ise PRP uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi. Ancak sadece fekal peritonit oluşturulmuş PRP uygulanan grupta anlamlı olarak yüksek tespit edildi (P<0.001). Bu bulgular literatürle uyumlu olarak PRP'nin büyüme faktörlerini artırdığını desteklemektedir.

Atlar üzerinde yapılan bir çalışmada, dizin alt kısmında oluşturulan deri yaralarının tedavisinde PRP, thrombin ve askorbik asit karışımından elde edilen PRP jel uygulanmıştır. Yara oluşturulmasını takiben 7, 36., ve 79. günlerde yapılan klinik ve histopatolojik incelemeler sonucunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yara iyileşmesinin daha hızlı olduğu, organize kollejen fibrillerinin gerilme direncini arttırdığı bildirilmiştir. Kronik yaraların iyileşmesinde lokal olarak uygulanan PRP'nin terapötik potansiyeli önemlidir. Büyüme faktörleri ve reseptörlerinin hem yumuşak hem de sert dokunun tedavisinde başarılı bir şekilde kullanıldığını gösteren pek çok klinik çalışma vardır (107).

Sonuç olarak denilebilir ki; zararlı yan etkilerinin olmaması, yaygın bir skar dokusu şekillendirmemesi, malignant transformasyonlara sebep olmaması, kolay bulunabilir olması ve daha ucuz bir şekilde elde edilmesi alternatif bir tedavi yöntemi olmasını sağlamaktadır. Ancak her ne kadar literatürdeki birçok çalışmada PRP'nin yara üzerine olumlu etkileri savunulmuşsa da PRP'nin koruyucu ya da tedavi edici rolü gelecekteki araştırmalar ile daha çok aydınlatılmalıdır. Bu nedenle prospektif, olgu sayısı yüksek çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

5. KAYNAKLAR

1. Singer AJ, Clark RAF. Mechanisms of disease - Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999; 341: 738-746.
2. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, Margolis DJ, Pecoraro RE, Rodeheaver G, Robson MC. Definitions and Guidelines for Assessment of Wounds and Evaluation of Healing. *Arch Dermatol.* 1994; 130: 489-93.
3. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg.* 1998 Aug;176(2A Suppl):26S-38S.
4. Fan K, Tang J, Escandon J, Kirsner RS. State of the Art in Topical Wound-Healing Products. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127: 44-59.
5. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, Moroni M, Carabelli A: Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci* 2004; 30:145-151.
6. Valbonesi M, Giannini G, Migliori F, Dalla Costa R, Gali A: The role of autologous fibrin-platelet glue in plastic surgery: A preliminary report. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 334-338.
7. Zimmerman LM, Anson BJ (eds). Ventral hernia. *Anatomy and Surgery of Hernia*, 2. ed, Baltimore: Williams and Wilkins Comp, 1967: 272-294.
8. Santora TA, Roslyn JJ. Incisional hernia. *Surg Clin N Amer* 1993; 73: 557-570.
9. Leong M, Phillips LG. Wound healing. *Sabiston Textbook of Surgery*. USA: Elsevier Saunders: 2004; 183-207.
10. Lorenz HP, Longaker MT. Wound healing: repair biology and wound and scar treatment . *Plastic Surgery*. China: Saunders Elsevier, 2006: 209-234.

11. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic Surgery* 2005. 31: 674-678.
12. Drew AF, Liu H, Davidson JM, Daugherty CC, Degen JL. Wound-healing defects in mice lacking fibrinogen. *Blood* 2001; 97: 3691-3698.
13. Campbell PG, Durham SK, Hayes JD, Suwanichkul A, Powell DR. Insulin-like growth factor-binding protein-3 binds fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem* 1999; 274: 30215-30221.
14. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003; 83: 835-870.
15. Szpaderska AM, Egozi EI, Gamelli RL, DiPietro LA. The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 1130-1137.
16. Nwomeh BC, Yager DR, Cohen IK. Physiology of the chronic wound. *Clin Plast Surg* 1998; 25: 341-356.
17. Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair Regen* 2000; 8: 13-25.
18. Pajulo OT, Pulkki KJ, Alanen MS, Reunanen MS, Lertola KK, Mattila-Vuori AI, Viljanto JA. Correlation between interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in early wound healing in children. *Wound Repair Regen* 1999; 7: 453-457.
19. Engelhardt E, Toksoy A, Goebeler M, Debus S, Bröcker EB, Gillitzer R. Chemokines IL-8, GROalpha, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing. *Am J Pathol* 1998; 153: 1849-1860.

20. Smith PD, Kuhn MA, Franz MG, Wachtel TL, Wright TE, Robson MC. Initiating the inflammatory phase of incisional healing prior to tissue injury. *J Surg Res* 2000; 92: 11-17.
21. Karr BP, Bubak PJ, Sprugel KH, Pavlin EG, Engrav LH. Platelet-derived growth factor and wound contraction in the rat. *J Surg Res* 1995; 59: 739-742.
22. Buckmire MA, Parquet G, Greenway S, Rolandelli RH. Temporal expression of TGF- β (1), EGF, and PDGF-BB in a model of colonic wound healing. *J Surg Res* 1998; 80: 52-57.
23. Tredget EE, Wang R, Shen Q, Scott PG, Ghahary A. Transforming growth factor-beta mRNA and protein in hypertrophic scar tissues and fibroblasts: Antagonism by IFN-alpha and IFN-gamma in vitro and in vivo. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20: 143-151.
24. Schaffer M, Barbul A. Lymphocyte function in wound healing and following injury. *Br J Surg* 1998; 85: 444-460.
25. Nwomeh BC, Diegelmann RF. The basic biology of wound healing. *J Surg Pathol* 1997; 2: 143-162.
26. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol* 1998; 152: 1445-1452.
27. Nissen NN, Polverini PJ, Gamelli RL, DiPietro LA. Basic fibroblast growth factor mediates angiogenic activity in early surgical wounds. *Surgery* 1996; 119: 457-65.
28. Constant JS, Feng JJ, Zabel DD, Yuan H, Suh DY, Scheuenstuhl H, et al. Lactate elicits vascular endothelial growth factor from macrophages: a possible alternative to hypoxia. *Wound Repair Regen* 2000; 8: 353-360.

29. Liu S, Yu D, Xu ZP, Riordan JF, Hu GF. Angiogenin Activates Erk1/2 in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287: 305-310.
30. Rumalla VK, Borah GL. Cytokines, growth factors, and plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108: 719-733.
31. Decline F, Rousselle P. Keratinocyte migration requires alpha2beta1 integrin-mediated interaction with the laminin 5 gamma2 chain. *J Cell Sci* 2001; 114: 811-823.
32. Pilcher BK. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Sci* 2001; 114: 811-823.
33. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am* 1997; 77: 509-528.
34. Volk SW, Wang Y, Mauldin EA, Liechty KW, Adams SL. Diminished type III collagen promotes myofibroblast differentiation and increases scar deposition in cutaneous wound healing. *Cells Tissues Organs* 2011; 194: 25-37.
35. Alberts B, Lewis J (eds). Cell junctions, cell adhesions and the extracellular matrix, in *The Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland, 2002: 1091-1114.
36. Debelle L, Tamburro AM. Elastin: molecular description and function. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 261-272.
37. Gallo RL. Proteoglycans and cutaneous vascular defense and repair. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2000; 5: 55-60.
38. Kennedy CI, Diegelmann RF, Haynes JH, Yager DR. Proinflammatory cytokines differentially regulate hyaluronan synthase isoforms in fetal and adult fibroblasts. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 874-979.

39. Iozzo RV. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 609-652.
40. Gurtner G. Woundhealing: Normal and abnormal; Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th edition. Philadelphia: Lippincott-RavenPublishers, 2007:15-22
41. Baum C, Arpey C. Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events; *Dermatol Surg* 2005; 31: 679-686
42. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound Healing: An Overview. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 1-32.
43. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest* 1972; 51: 2009–2023.
44. Buck M, Houglum K, Chojkier M. Tumor necrosis factor-alpha inhibits collagen alpha 1 (I) gene expression and wound healing in a murine model of cachexia. *Am J Pathol* 1996; 149: 195–204.
45. Gordillo GM, Sen CK. Revisiting the essential role of oxygen in wound healing. *Am J Surg* 2003; 186: 259-263.
46. Ninikoski JH. Clinical hyperbaric oxygen therapy, wound perfusion, and transcutaneous oximetry. *World J Surg* 2004; 28: 307-311.
47. Izadi K, Ganchi P. Chronic wounds. *Clin Plast Surg* 2005; 32: 209-222.
48. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17: 91-96.
49. Heggors JP. Assessing and controlling wound infection. *Clin Plast Surg* 2003; 30: 25-35.
50. Yuan-Innes MJ, Temple CL, Lacey MS. Vacuum-assisted wound closure: a new approach to spinal wounds with exposed hardware. *Spine* 2001; 26: 30-33.

51. Evans SM, Partington M. A model of wound healing in chronikal radiationdamaged rat skin. *Cancer Lett* 1998; 128:71–78.
52. Burns JL, Mancoll JS, Phillips LG. Impairments to wound healing. *Clin Plast Surg* 2003; 30: 47-56.
53. Alcain FJ, Buron MI. Ascorbate on cell growth and differantion. *J Bioenerg Biomembr* 1994; 26:393-398
54. Feliciano DV. Heroic prosedures in vascular injury management: the role of extra anatomic bypasses. *Surg Clin North Am* 2002; 82:115 – 124
55. Sterchi EE, Stocker W, Bond JS. Meprins, membrane-bound and secreted astacin metalloproteinases. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 309-328.
56. Woessner JF. The family of matrix metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 732: 11-21.
57. Moali C, Hulmes DJS. Extracellular and cell surface proteases in wound healing: new players are still emerging. *Eur J Dermatol* 2009; 19: 552-564.
58. Parks WC. Matrix metalloproteinases in repair. *Wound Repair Regen* 1999; 7: 423-432.
59. Aiba-Kojima E, Tsuno NH, Inoue K, Matsumoto D, Shigeura T, Sato T, et al. Characterization of wound drainage fluids as a source of soluble factors associated with wound healing: comparison with platelet-rich plasma and potential use in cell culture. *Wound Repair Regen* 2007; 15: 511-520.
60. Mackay AR, Hartzler JL, Pelina MD, Thorgeirsson UP. Studies on the ability of 65-kDa and 92-kDa tumor cell gelatinases to degrade type IV collagen. *J Biol Chem* 1990; 265: 21929-21934.
61. Halpert I, Sires UI, Roby JD, Potter-Perigo S, Wight TN, Shapiro SD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican

deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9748-53.

62. Iwanami H, Ishizaki M, Fukuda Y, Takahashi H. Expression of matrix metalloproteinases (MMP)-12 by myofibroblasts during alkali-burned corneal wound healing. *Curr Eye Res* 2009; 34: 207-214.
63. Saarialho-Kere UK. Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP expression in chronic ulcers. *Arch Dermatol Res* 1998; 290: 47-54
64. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology*, 10th ed., Chapter 8, New York: McGraw-Hill, 2003: 144-146.
65. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules constituents, secretion and functions. *Platelets* 2001; 12: 261-273.
66. Reed GL, Fitzgerald ML, Polgar J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the “secrete” life of thrombocytes. *Blood* 2000; 96: 3334-3342.
67. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone Replacement Grafts (Bone Substitutes), *Advances In Periodontics, Part II. Dent Clin North Am* 1998; 42: 491-503.
68. Martinez-Gonzales JM, Sanchez JC, La Fuente JCG, Trapero JC, Gomez GCE, Leston JMS. Do Ambulatory-Use Platelet-Rich Plasma (Prp) concentrates present risks? *Medicina Oral* 2002; 7: 375-90.
69. Gruber R, Karreth F, Frommlet F, Fischer, MB, Watzek, G. Platelets are mitogenic for periosteum-derived cells. *J Orthop Res* 2003; 21, 941-948.
70. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg* 1998; 85: 638-640.

71. Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor: a current review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18:93-103.
72. Einhorn TA. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma* 2005; 19: 4-6.
73. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution, *Oral Surg* 2006; 101: 37-44.
74. Kaya YM. Kemik İyileşmesinde Plateletten zengin Plazmanın (Platelet Rich Plasma-PRP) Etkisinin Deneysel Olarak Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD, 2006.
75. Su CY, Kuo YP, Tseng YH, Su CH, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108: 56-61
76. Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clinics in Dermatology* 1994; 12: 157-169.
77. Boyapati L, Wang HL. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. *Implant Dent* 2006; 15: 160–170.
78. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP: *Implant Dent* 2001; 10: 225–228.
79. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118: 147–159.
80. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 641–646.

81. Tischler M. Platelet rich plasma. The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts. *NY State Dent J* 2002; 68: 22–24.
82. Whitman D, Berry R, Green DM. Platelet Gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55: 1294–1299.
83. Zhou B, Ren J, Ding C, Wu Y, Hu D, Gu G, Li J. Rapidly in situ forming platelet-rich plasma gel enhances angiogenic responses and augments early wound healing after open abdomen. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 926764.
84. Akhundov K, Pietramaggiore G, Waselle L, Darwiche S, Guerid S, Scaletta C, et al. Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing. *Ann Burns Fire Disasters* 2012; 25: 207-213.
85. Mei-Dan O, Lippi G, Sanchez M, Andia I, Matfulli N. Autologous platelet-rich plasma: a revolution in soft tissue sports injury management. *Phys Sportsme preparation for topical woundhealing. Ann Burns Fire Disasters* 2012; 25: 207-13.
86. Göttgens KW, Vening W, van der Hagen SJ, van Gemert WG, Smeets RR, Stassen LP, et al. Long-term results of mucosal advancement flap combined with platelet-rich plasma for high cryptoglandular perianal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2014; 57: 223-227.
87. Nicoli F, Balzani A, Lazzeri D, Gentile P, Chilgar RM, Di Pasquali C, et al. Severe hidradenitis suppurativa treatment using platelet-rich plasma gel and Hyalomatrix. *Int Wound J* 2013 [Epub ahead of print]
88. Hesami Z, Jamshidzadeh A, Ayatollahi M, Geramizadeh B, Farshad O, Vahdati A. Effect of platelet-rich plasma on ccl4-induced chronic liver injury in male rats. *Int J Hepatol* 2014; 2014: 932930.

89. Cha J, Kwak T, Butmarc J, Kim TA, Yufit T. Fibroblasts from non-healing human chronic wounds show decreased expression of beta ig-h3, a TGF-beta inducible protein. *J Dermatol Sci* 2008; 50: 15-23.
90. Chang HS, Hom DB, Agarwal RP, Pernell K. Effects of basic fibroblast growth factor on irradiated porcine skin flaps. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124: 307-312.
91. Hom DB, Unger GM, Pernell KJ, Manivel JC. Improving surgical wound healing with basic fibroblast growth factor after radiation. *Laryngoscope* 2005; 115: 412-422.
92. Bucnall TE, Cox PJ, Ellis H. Burst abdomen and incisional hernia: a prospective study of 1129 major laparotomies. *BJM* 1982; 284: 931-933.
93. Van't Riet M, de Vos van Steenwijk PJ, Bonthuis F, Marquet RL, Steyerberg EW, Jeckel J, et al. Prevention of adhesion to prostetic mesh: comparison of different barriers using an incisional hernia model. *Ann Surg* 2003; 237: 123-128.
94. Mudge M, Hughes LE. Incisional hernia: a ten year prospective study of incidence and attitudes. *Br J Surg* 1985; 72: 70-71.
95. Andican A Fıtıklar. (Çev. Topuzlu C.) s.247. Maingot Abdominal Operasyonlar. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Kitabevi, 1989: 247.
96. Taşkan I, Ozyazgan I, Tercan M, Kardaş HY, Balkanlı S, Saraymen R, et al. A comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on wound healing in rats. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 966-972.
97. Yol S, Tekin A, Yılmaz H, Küçükkartallar T, Esen H, Caglayan O, Tatkan Y. Effects of platelet rich plasma on colonic anastomosis. *J Surg Res* 2008; 146:190-194.

98. Woo SH, Jeong HS, Kim JP, Koh EH, Lee SU, Jin SM, et al. Favorable vocal fold wound healing induced by platelet-rich plasma injection. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2014; 7: 47-52.
99. Mehrannia M, Vaezi M, Yousefshahi F, Rouhipour N. Platelet rich plasma for treatment of nonhealing diabetic foot ulcers: a case report. *Can J Diabetes* 2014; 38: 5-8.
100. Ferrari M, Zia S, Valbonesi M. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. *Int J Artif Organs* 1987; 10: 47-50.
101. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 489-496.
102. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing *Plast Reconstr Surg* 2004; 114: 1502-1508.
103. Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J Extra Corpor Technol* 2004; 36: 28-35.
104. Martinez-Zapata MJ, Marti-Carvajal A, Sola I. Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. *Transfusion* 2009; 49: 44-56.
105. Weibrich G, Hansen T, Kleis W. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone* 2004; 34: 665-71.
106. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 585-601.
107. Carter CA, Jolly DG, Worden SR, Hendren DG, Kane C.J. Platelet- Rich Plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol* 2003; 74: 244-255.

108. Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and Platelet-Rich Plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 630-635.
109. Şahin F, Arıkan F, Yeşilbek B, Saydam G, Büyükkeçeci F. Periodontik kemik greftlerinin yapışmasında etkin olarak kullanılan Plateletten zengin Plazma eldesinde farklı metotların karşılaştırılması. *Turkish Journal of Haematology* 2004; 21: 3.
110. Yakaryılmaz A. Trombosit-lökosit fonksiyonel etkileşiminin in-vitro koşullarda incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2005; 58: 51-55.
111. Agbaloo TL, Moy PK, Freymilier EG. Investigation of Platelet-Rich Plasma in rabbit cranial defects: A pilot study *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 1176-1181.
112. Shukla A, Dubey MP, Srivastava R, Srivastava BS. Differential expression of proteins during healing of cutaneous wounds in experimental normal and chronic models. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 224: 434-439.

6. ÖZGEÇMİŞ

10.03.1982 yılında Kars' ta doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Kars' ta 2000 yılında tamamladım. 2007 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2007-2009 yılları arasında Zonguldak Alaplı ilçesinde pratisyen hekim olarak çalıştım. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Hastanesi Genel Cerrahi Bölümü'nü kazandım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.